



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



Yüksek Lisans Tezi

**AĞIR METAL NANOPARTİKÜLLERİNİN SINIRLI OT (*Plantago*)
BİTKİLERİYLE FİTOREMEDİASYONU**

Hilal EROĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Programı

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Gülriz BAYÇU**

**II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Thomas SAWIDIS**

Mart 2019

İSTANBUL



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Yüksek Lisans Tezi

AĞIR METAL NANOPARTİKÜLLERİNİN SINIRLI OT (*Plantago*)
BİTKİLERİYLE FİTOREMEDİASYONU

Hilal EROĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Gülriz BAYÇU

II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Thomas SAWIDIS


Mart 2019

Bu çalışma, 15 Mart 2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Botanik Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

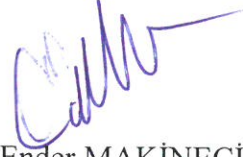
Tez Jürisi



Prof. Dr. Gülriz BAYÇU (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Tamer ÖZCAN
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Ender MAKİNECİ
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Orman Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazetede yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi'nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 3351 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, 3351 numaralı BAP projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitim ve öğrenim hayatım süresince tez çalışmalarımnda her türlü zorluğun üstesinden gelmemi sağlayan ve her daim destek olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Gülriz BAYÇU'ya en içten dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

Engin bilgi birikimlerinden her daim yararlanmamı sağlayan, Aristoteles Üniversitesi, Botanik Ana Bilim Dalı'ndan değerli hocalarım Prof. Dr. Michael MOUSTAKAS ve ikinci danışmanım Prof. Dr. Thomas SAWIDIS, ağır metal analizlerim için tüm imkanlarıyla bana destek olan İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi, Orman Fakültesi, Toprak İlimi ve Ekoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mustafa Ömer KARAÖZ, Prof. Dr. Doğanay TOLUNAY ve Dr. Öğr. Üyesi Serdar AKBURAK hocalarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmam için her türlü olanaklarından yararlanmama imkân sağlayan T.C. İstanbul Üniversitesi Biyoloji Bölümü Başkanı Prof. Dr. Mahmut ÇALIŞKAN ve Botanik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ başta olmak üzere diğer tüm değerli hocalarıma; tür teşhislerinde yardımlarından dolayı Arş. Gör. Almıla GEMİCİOĞLU, fizyolojik çalışmalarımnda desteklerinden dolayı Öğr. Gör. Hande MORGİL GERÇEK ve Öğr. Gör. Yusuf Can GERÇEK ile deneylerimnde bana destek olan değerli arkadaşlarım, İbrahim Alidou ARZİKA, Kayhan DEREÇİK, İrem AKTÜRK, Tuğçe SEVENCAN, Seda KARADAĞ KILINÇ, Serhat SEVEN, Seran KIRKINCI, Freddy Can IGIEBOR, Hacer GÜRSUL, Diğdem YÖYEN ERMIŞ ve diğer tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

TÜBİTAK-2229 BİDEB tarafından desteklenen, Biyolojik Çeşitlilik Ölçüm Süreçleri - Envanter, Veri Transferi ve Hesaplama Teknikleri (Proje No: 1059B291700323), Analitik Doğa - Kümeleme ve Ordinasyon Teknikleri (Proje No: 1059B291700280) projelerinde verilen eğitimler ile, çalışmalarımna derinlik katmamı sağlayan değerli hocalarım, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Orman Fakültesi'nden Prof. Dr. Kürşad ÖZKAN, Doç. Dr. Ahmet MERT, Doç. Dr. Serkan GÜLSOY, Dr. Öğr. Üyesi Halil SÜEL, Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Güvenç NEGİZ, İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi'nden Prof. Dr. Ender MAKİNECİ ve diğer bütün eğitmen hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Lisans eğitim ve öğretim hayatım boyunca bana kattıkları paha biçilemez değerler ile bugünlere kadar gelmemde büyük payları olan Ege Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı'nda öğretim üyesi olan tüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

ERASMUS ile gittiğim Universität Bielefeld Fakultät für Biologie, Experimentelle Ökologie und Ökosystembiologie bölümünde, tez konum ile bağlantılı olarak yürüttüğümüz deneylerde bana öğrettikleri ile çalışmalarımna bir yön kazandıran değerli hocalarım, Prof. Dr. Wolfram BEYSCHLAG, Dr. Tom STEINLEIN, Dr. Stephan UNGER, araştırma görevlileri Alexander MOSENA, Martina FRIEDE, teknik çalışanlar Elke FURLKRÖGER, Barbara TEICHNER ve diğer tüm çalışanlara teşekkür ederim.

Hayatım boyunca manevi ve maddi destekleriyle her türlü yanımda olan ailem, Hamiyet EROĞLU ve kardeşim Nihal EROĞLU'na tüm kalbimle en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ.....	xii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xvii
ÖZET	xix
SUMMARY	xxi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	6
2.1. GÜNÜMÜZDE NANOTEKNOLOJİ.....	6
2.2. NANOPARTİKÜLLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ.....	12
2.2.1. NP'lerin Çevresel Faktörler Doğrultusunda Gösterdiği Özellikler	13
2.2.2. Metalik Nanopartiküller:	16
2.2.2.1. Çinko ve ZnO Nanopartiküllerinin Genel Özellikleri:	16
2.3. METALİK NANOPARTİKÜLLERİN BİTKİLER ÜZERİNDE GENEL FİZYOLOJİK ETKİLERİ	18
2.3.1. Tohum çimlenmesine etkileri :	18
2.3.2. Bitki gelişimine etkileri :	19
2.3.3. Bitkilerde Nanopartiküllerin Alınması, Birikimi ve Translokasyonu :	19
2.3.4. Nanopartiküllerin Genotoksitesi :	23
2.3.5. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Oluşumu ve Toksik Etkileri :	23
2.3.6. Antioksidan Savunma ve Detoksifikasyon Süreci:	24
2.3.7. ZnO Nanopartiküllerinin Fitotoksik Etkileri :	26
2.4. FİTOREMEDİASYON UYGULAMALARI.....	26
2.4.1. Temel Fitoremediasyon yöntemleri.....	30
2.4.1.1. Fitoekstraksiyon	31
2.4.1.2. Fitostabilizasyon	32
2.4.1.3. Fitovolatilizasyon	32
2.4.1.4. Fitodegradasyon.....	32
2.4.1.5. Fitofiltrasyon.....	33

2.5.	NANOPARTİKÜL METAL OKSİTLERİN FİTOREMEDİASYONU	33
2.5.1.	Nanopartiküler Ağır Metallerin Yeşil Teknoloji ile Üretimi.....	35
3.	MALZEME VE YÖNTEM.....	36
3.1.	BİTKİ MATERYALLERİ VE ÖZELLİKLERİ.....	36
3.2.	STERİLİZASYON İŞLEMLERİ VE TOHUM ÇİMLENDİRME	37
3.2.1.	Kültür Ortamının Sterilizasyonu:	38
3.3.	BİTKİLERİN YETİŞTİRİLMESİ	38
3.4.	AĞIR METAL ÇÖZELTİLERİNİN HAZIRLANIŞI	40
3.4.1.	Ağır Metal Uygulamaları.....	41
3.5.	BİTKİ HASATI VE HASAT SONRASI YAPILAN ÖLÇÜMLER	41
3.5.1.	Kök ve Toprak Üstü Kısımların Yaş Ağırlıklarının Hesaplanması (g).....	41
3.5.2.	Kök ve Toprak Üstü Kısımların Kuru Ağırlıklarının Hesaplanması (g).....	42
3.5.3.	Yaprak Sayısı.....	42
3.5.4.	Yaprak Alanı (cm).....	42
3.5.5.	Kök / Sürgün Oranı	42
3.5.6.	Toprak Bağlı Su İçeriği (%)	42
3.5.7.	Kök ve Toprak Üstü Organlardaki Su içeriği (g/ g K.A.)	42
3.6.	KÖK VE YAPRAKLARDA HÜCRE MEMBRAN PERMEABİLİTESİNİN ÖLÇÜMLERİ	43
3.7.	KÜLTÜR ORTAMLARININ ELEKTRİKSEL İLETKENLİK VE PH ÖLÇÜMLERİ.....	44
3.8.	TOLERANS İNDEKSİNİN BELİRLENMESİ.....	44
3.9.	KLOROFİL FLORESANS GÖRÜNTÜLEME ANALİZLERİ.....	44
3.10.	BİTKİ ÖRNEKLERİNDE AĞIR METAL ANALİZİ	47
3.10.1.	Bitki ve Kum Numunelerinin Asit ile Mineralizasyonu.....	47
3.10.2.	Ağır Metal Analizi.....	49
3.11.	AKÜMÜLASYON, TRANSLOKASYON VE BİYOKONSANTRASYON FAKTÖRLERİNİN HESAPLANMASI	50
3.12.	TOTAL KLOROFİL VE KAROTENOİD TAYİNİ	51
3.13.	TOTAL FENOLİK MADDE ANALİZİ	52
3.14.	İSTATİKSEL UYGULAMALAR:	53
4.	BULGULAR.....	54
4.1.	NANOPARTİKÜLER VE HACİMSSEL ÇİNKO OKSİT UYGULAMALARININ BİTKİLERİN GELİŞİMSEL ÖZELLİKLERİNE OLAN ETKİLERİ.....	54
4.1.1.	Yaprak Sayıları	54

4.1.2.	Yaprak En ve Boy uzunlukları	55
4.1.3.	Bitkilerin Toprak Üstü Organların Boy Uzunlukları (cm)	56
4.1.4.	Taze ve Kuru Ağırlıklar	58
4.1.5.	Bitkilerin Su İçerikleri (g/ g K.A.)	60
4.1.6.	Kök ve Sürgün Oranları (K / S) (g K.A. /g. K.A.)	63
4.1.7.	Tolerans İndeksi (%)	64
4.2.	NANOPARTİKÜLER VE HACİMSEL ÇİNKO OKSİT UYGULAMALARININ KÜLTÜR ORTAMLARINA ETKİSİ.....	66
4.2.1.	Kültür Ortamlarının pH Ölçümleri	66
4.2.2.	Kültür Ortamlarının Elektriksel İletkenliği (mS / cm)	67
4.2.3.	Kültür Ortamlarının Bağlı Su İçeriği (%).....	68
4.3.	NANOPARTİKÜLER VE HACİMSEL ÇİNKO UYGULAMALARININ BİTKİ KISIMLARI VE KÜLTÜR ORTAMLARINDA BAZI BESİN ELEMENTLERİNİN BİRİKİMLERİNE OLAN ETKİLERİ	70
4.3.1.	Nanopartiküler ve Hacimsel Çinko Uygulamalarının Bazı Makro Besin Elementlerinin (Ca, K, Mg) Birikimlerine Olan Etkileri.....	70
4.3.1.1.	<i>Kalsiyum (Ca) Ölçümleri (mg/ kg)</i>	70
4.3.1.2.	<i>Potasyum (K) Ölçümleri (mg/ kg)</i>	73
4.3.1.3.	<i>Magnezyum (Mg) Ölçümleri (mg/kg)</i>	76
4.3.2.	Nanopartiküler ve Hacimsel Çinko Uygulamalarının Bazı Mikro Besin Elementlerinin (Mn, Fe) Birikimlerine Olan Etkileri	79
4.3.2.1.	<i>Mangan (Mn) Ölçümleri (mg/kg)</i>	79
4.3.2.2.	<i>Demir (Fe) Ölçümleri (mg/kg)</i>	83
4.4.	BİTKİ KISIMLARI VE KÜLTÜR ORTAMLARINDA ÇİNKO ÖLÇÜMLERİ: AKÜMÜLASYON, TRANSLOKASYON VE BİYOKONSANTRASYON FAKTÖRLERİ.....	86
4.4.1.	Çinko (Zn) Birikimleri (mg/kg).....	86
4.4.2.	Akümülyasyon Faktörleri (AF)	90
4.4.3.	Translokasyon (TF) ve Biyokonsantrasyon Faktörleri (BF)	91
4.5.	NANOPARTİKÜLER VE HACİMSEL ÇİNKO OKSİT UYGULAMALARININ BİTKİLER ÜZERİNDE FİZYOLOJİK ETKİLERİ	96
4.5.1.	Toplam Fenolik Ölçümleri	96
4.5.2.	İyon Sızıntısı Ölçümleri (%)	97
4.5.3.	Hücre Membran Hasarı (%)	99
4.5.4.	Klorofil a, Klorofil b ve Total Klorofil Ölçümleri	101
4.5.5.	Karotenoid Ölçümleri	104

4.6. NANOPARTİKÜLER VE HACİMSEL ÇİNKO OKSİT UYGULAMALARININ KLOROFİL FLORESANS AKTİVİTESİNE ETKİLERİ ...	105
4.6.1. Fv/Fm Ölçümleri	105
4.6.2. qP ve 1-qP Ölçüm Değerleri.....	107
4.6.3. NPQ Ölçümleri	108
4.6.4. ETR Ölçümleri	109
4.6.5. Φ PSII, Φ NPQ ve Φ NO Ölçümleri.....	110
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	112
KAYNAKLAR.....	143
ÖZGEÇMİŞ	165



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1 Fulleren, softbol ve dünya arasındaki boyut farklarının şeması (National Nanotechnology Initiative Strategic Plan, 2016'dan alınmıştır).	6
Şekil 2.2 2007 ile 2014 yılları arası nanoteknoloji kullanımı ile üretilen genel tüketim malzemeleri (Vance ve diğ., 2015'den değiştirilmiştir).	7
Şekil 2.3 Nanomalzemelerin antropojenik sebeplerle çevresel yayılımları (Das Projekt DaNa 2.0 (Steinbach ve diğ., 2016), www.nanopartikel.info sitesinden değiştirilmiştir).	9
Şekil 2.4 Nanomalzemelerin çevreye dağılımları ve besin zinciri üzerinde etkileri (Das Projekt DaNa 2.0 (Steinbach ve diğ., 2016), www.nanopartikel.info sitesinden değiştirilmiştir).	11
Şekil 2.5 ZnO vürtzit (kübik) formu (Uikey ve Vishwakarma, 2016'dan alınmıştır).	17
Şekil 2.6 ZnO nanopartiküllerinin yaprak (A) ve kök (B) üzerinden emilim yolları (Singh ve diğ., 2017; Dietz ve Herth, 2011), (Singh ve diğ., 2017'den alınmıştır).	21
Şekil 2.7 Nanopartiküllerin bitkiler üzerinde genel fitotoksik etkileri (Rastogi ve diğ., 2017'den değiştirilmiştir).	25
Şekil 2.8 Fitoremediasyon stratejilerinin şematik gösterimi (Kumar ve Chandra., 2017'den değiştirilmiştir).	30
Şekil 3.1 <i>Plantago major</i> L. (A) ve <i>Plantago lanceolata</i> L. (B) Türleri (www.biolib.de sitesinden alınmıştır).	37
Şekil 3.2 Çimlendirilen bitkiler.	39
Şekil 3.3 Fitotron ortamında yetiştirilen bitkiler (6 haftalık).	40
Şekil 3.4 (A) <i>P. lanceolata</i> L. ve (B) <i>P. major</i> L. Bitkileri Uygulama (Nanopartiküler ZnO Uygulama Grupları (sarı etiketliler), Hacimsel ZnO Uygulama Grupları (kırmızı etiketliler) ve Kontrol Grupları (beyaz etiketliler).	40
Şekil 3.5 Uygulama süspansiyonlarının Sonikatörde (Bandelin SONOPLUS HD 2200) hazırlanışı. Ana süspansiyonlar 1000 mg/L (A) Nanopartiküler ZnO, (B) Hacimsel ZnO.	41
Şekil 3.6 Klorofil floresans görüntüleme cihazı.	45
Şekil 3.7 Ağır metal analizleri için hazırlanan örnekler.	48

Şekil 3.8 Berghof Speed Wave MW4 Cihazı (İstanbul Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı).....	48
Şekil 3.9 ICP-OES ölçümüne hazır örnekler.....	48
Şekil 3.10 ICP-OES 7000 DV(İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi) cihazı (İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Orman Fakültesi).	50
Şekil 3.11 BioTek Epoch2 Mikroplate Spektrofotometre Cihazı.	51
Şekil 3.12 Klorofil ve Karotenoid ölçümleri için hazırlanmış yaprak ekstraktları.	52
Şekil 3.13 Toplam fenolik ölçümleri için hazırlanmış kök ekstraktları.....	52
Şekil 4.1 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> türlerinin yaprak sayısı (A), en ve boy ölçümleri (B), sürgünlerin boy uzunlukları (C). (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:5).....	57
Şekil 4.2 <i>P. major</i> ve <i>P.lanceolata</i> sürgün (A) ve köklerin (B) taze ve kuru ağırlıkları (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:5).....	60
Şekil 4.3 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> türlerinin kök ve toprak üstü organların su içerik yüzdeleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata, (P<0,05), (*: P<0,01), (**: P<0,001), N:5).....	62
Şekil 4.4 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> türlerinin Kök / Sürgün (K / S) oranı (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:5).	64
Şekil 4.5 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> türlerinin tolerans indeksi (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:5).....	65
Şekil 4.6 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> kültür ortamlarının pH ölçümleri (<i>P. major</i> : (P<0,005), <i>P. lanceolata</i> : (*: P<0,01), (**: P<0,001) (A), elektriksel iletkenlik ölçümleri (B) ve bağıl su içeriği (C), (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:5).....	69
Şekil 4.7 <i>P.major</i> ((*: P<0,002), (**: P<0,001)) ve <i>P. lanceolata</i> (*: P<0,001) türlerinde kalsiyum (Ca) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:3).....	73
Şekil 4.8 <i>P.major</i> (*: P<0,001) ve <i>P. lanceolata</i> (*: P<0,01) türlerinde potasyum (K) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:3).	76
Şekil 4.9 <i>P.major</i> (*: P<0,005) ve <i>P. lanceolata</i> (*: P<0,001) türlerinde magnezyum (Mg) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:3).....	79
Şekil 4.10 <i>P.major</i> (*: P<0,001) ve <i>P. lanceolata</i> ((*: P<0,01), (**: P<0,005), (***: P<0,001)) türlerinde mangan (Mn) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:3).	82

Şekil 4.11 <i>P.major</i> (*: $P<0,001$) ve <i>P. lanceolata</i> (*: $P<0,003$), (**: $P<0,002$) türlerinde demir (Fe) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P<0,05$), N:3).....	86
Şekil 4.12 <i>P. major</i> (*: $P<0,001$) ve <i>P. lanceolata</i> (*: $P<0,001$) türlerinde çinko (Zn) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P\leq 0,05$), N:3).	89
Şekil 4.13 Kök ve Sürgünlerde Zn Ölçümleri ((mg/kg), ($P<0,05$), (*: $P<0,0001$), N:3).	90
Şekil 4.14 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> akümülyasyon (A), biyokonsantrasyon (B) ve translokasyon (C) faktörleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P<0,05$), N:3).	95
Şekil 4.15 <i>P.major</i> ve <i>P. lanceolata</i> köklerinde toplam fenolik ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P<0,05$), N:3).	97
Şekil 4.16 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> iyon sızıntı (A) ve hücre membran hasarı (B) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P<0,05$), N:4)	101
Şekil 4.17 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P<0,05$), N:3).....	103
Şekil 4.18 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> türlerinin karotenoid ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P<0,05$), N:3).....	105
Şekil 4.19 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> Fv/Fm ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P<0,05$), N:4).	106
Şekil 4.20 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> türlerinin qP ve 1-qP ölçümleri (($P<0,05$), N:4).	107
Şekil 4.21 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> NPQ ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P<0,05$), N:4).....	108
Şekil 4.22 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> ETR ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P<0,05$), N:4).....	109
Şekil 4.23 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> Φ PSII, Φ NPQ ve Φ NO ölçümleri (($P < 0,05$), N:4).....	111
Şekil 5.1 15. gün sonunda nanopartiküler ve hacimsel CuO (100 mg/L) uygulamaları yapılmış bitkiler. Sarı etiketliler NP-CuO uygulanan grupları, kırmızı etiketliler H-CuO uygulamaları temsil etmektedir (A: <i>P. lanceolata</i> , B: <i>P.major</i>).....	118
Şekil 5.2 Hacimsel (A) ve nanopartiküler (B) CuO süspansiyonları (1000 mg/L).	119
Şekil 5.3 PSII mekanizmasının (a) Fv/Fm, (b) Φ PSII, (c) Φ NPQ, (d) Φ NO, (e) qP ve (f) NPQ parametrelerinin, 330 $\mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ aktinik aydınlanma düzeyinde fotokimyasal verilerini yansıtan temsili klorofil floresans görüntüleri (Sayısal değerler renk skalasına göre verilmiştir. Her fotosentetik parametrenin ortalama değeri resimlerin alt kısmında gösterilmiştir (Standart Hata: \pm), resimlerde ki daireler belirlenmiş aktinik aydınlatma seviyesinde ölçülen alanlardır (AOI)).	133

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1 Nanopartiküllerin Sınıflandırılması (Nowack ve Bucheli, 2007'den değiştirilmiştir).	13
Tablo 2.2 NP'lerin Çevresel Faktörler Doğrultusunda Gösterdiği Başlıca Özellikler (Stone ve diğ., 2010a; Stone ve diğ., 2010b; Nowack, 2010; Hartmann ve diğ., 2014'den değiştirilmiştir).	14
Tablo 2.3 Çinko Oksit Bileşiminin Temel Kimyasal Özellikleri (Uikey ve Vishwakarma, 2016'dan değiştirilmiştir).	17
Tablo 2.4 NP-ZnO Etki Seviyesine Çevresel Sürecin Önem Derecesi (Hartmann ve diğ., 2014'den değiştirilmiştir).	18
Tablo 2.5 Bitki ve Nanopartikül Etkileşimleri (Dietz ve Herth, 2011'den değiştirilmiştir).	22
Tablo 2.6 Bazı Metal Oksitlerin bitkiler üzerindeki fitotoksik etkileri.	25
Tablo 2.7 Bazı remediasyon yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları (Hamutoğlu ve diğ., 2012'den değiştirilmiştir).	27
Tablo 2.8 Fitoremediasyon Avantaj ve Dezavantajları (Macek ve diğ., 2000'den değiştirilmiştir).	28
Tablo 2.9 Bitki içeriklerinde çinko (Zn) standartları (Massa ve diğ., 2010'den alınmıştır).	29
Tablo 3.1 Kum element ölçümleri (mg / kg).	38
Tablo 3.2 Ingestad besi çözeltisi (Bayçu, 1995'den alınmıştır).	39
Tablo 3.3 ICP ölçümlerinde elementlerin emisyon dalga boyları (nm) ve kalibrasyon aralıkları (mg / L).	49
Tablo 4.1 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> yaprak sayıları (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).	54
Tablo 4.2 <i>P. major</i> yaprak en ve boy ölçümleri (cm), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).	55
Tablo 4.3 <i>P. lanceolata</i> yaprak en ve boy ölçümleri (cm), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).	55
Tablo 4.4 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> Toprak Üstü Organların Boy Uzunlukları (cm), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).	56

Tablo 4.5 <i>P. major</i> toprak üstü organların yaş ve kuru ağırlıkları (g), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).	58
Tablo 4.6 <i>P. major</i> köklerin yaş ve kuru ağırlıkları (g), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).....	58
Tablo 4.7 <i>P. lanceolata</i> toprak üstü organların yaş ve kuru ağırlıkları (g), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).....	59
Tablo 4.8 <i>P. lanceolata</i> köklerin yaş ve kuru ağırlıkları (g), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).....	59
Tablo 4.9 <i>P. major</i> kök ve toprak üstü organların su içerikleri (g/ g K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,01), (**: P<0,001), N:5).	61
Tablo 4.10 <i>P. lanceolata</i> kök ve toprak üstü organların su içerikleri (g/ g K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).	62
Tablo 4.11 <i>P. major</i> Kök / Sürgün Oranları (K/S) (g K.A. /g. K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,001), N:5).	63
Tablo 4.12 <i>P. lanceolata</i> Kök / Sürgün Oranları (K/S) (g K.A. /g. K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).....	63
Tablo 4.13 <i>P. major</i> Tolerans İndeksleri (%) (g K.A. /g. K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).....	64
Tablo 4.14 <i>P. lanceolata</i> Tolerans İndeksleri (%) (g K.A. /g. K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).....	65
Tablo 4.15 <i>P. major</i> pH ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,005), N:5).....	66
Tablo 4.16 <i>P. lanceolata</i> pH ölçümleri (Standart Hata: \pm (*: P<0,01), (**: P<0,001), N:5).....	66
Tablo 4.17 <i>P. major</i> kültür ortamlarının elektriksel iletkenliği (mS / cm), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).....	67
Tablo 4.18 <i>P. lanceolata</i> kültür ortamlarının elektriksel iletkenliği (mS / cm), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).	67
Tablo 4.19 <i>P. major</i> kültür ortamlarının bağıl su içerikleri (%), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).....	68
Tablo 4.20 <i>P. lanceolata</i> kültür ortamlarının bağıl su içerikleri (%), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).....	68
Tablo 4.21 <i>P. major</i> türünün kalsiyum (Ca) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,002), (**:P<0,001), N:3).	71

Tablo 4.22 <i>P. lanceolata</i> türünün kalsiyum (Ca) Ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,001), N:3).	72
Tablo 4.23 <i>P. major</i> türünün potasyum (K) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,001), N:3).	74
Tablo 4.24 <i>P. lanceolata</i> türünün potasyum (K) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,01), N:3).	75
Tablo 4.25 <i>P. major</i> türünün magnezyum (Mg) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,005), N:3).	77
Tablo 4.26 <i>P. lanceolata</i> türünün magnezyum (Mg) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,001), N:3).	78
Tablo 4.27 <i>P. major</i> türünün (Mn) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05),(*: P<0,001), N:3).	80
Tablo 4.28 <i>P. lanceolata</i> türünün (Mn) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,001), N:3).	82
Tablo 4.29 <i>P. major</i> türünün demir (Fe) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,001), N:3).	84
Tablo 4.30 <i>P. lanceolata</i> türünün demir (Fe) ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,003), (**: P<0,002), N:3).	85
Tablo 4.31 <i>P. major</i> türünün çinko (Zn) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,001), N:3).	87
Tablo 4.32 <i>P. lanceolata</i> türünün çinko (Zn) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,001), N:3).	88
Tablo 4.33 Kök ve Sürgünlerde Zn Ölçümleri (mg/kg) (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,0001), N:3).	89
Tablo 4.34 <i>P. major</i> nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) akümülayon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,0001), N:3).	91
Tablo 4.35 <i>P. lanceolata</i> nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) akümülayon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,0001)).	91
Tablo 4.36 <i>P. major</i> nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) translokasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,0001)).	92
Tablo 4.37 <i>P. major</i> toprak üstü organlarının nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) biyokonsantrasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,003)).	92
Tablo 4.38 <i>P. major</i> köklerinin nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) biyokonsantrasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,0001)).	93

Tablo 4.39 <i>P. lanceolata</i> nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) translokasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,0001)).....	93
Tablo 4.40 <i>P. lanceolata</i> toprak üstü organlarının nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) biyokonsantrasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,0001)).....	94
Tablo 4.41 <i>P. lanceolata</i> köklerinin nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) biyokonsantrasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,0001)).....	94
Tablo 4.42 <i>P. major</i> kök ve toprak üstü organlarında toplam fenolik ölçümleri (mg/ g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).	96
Tablo 4.43 <i>P. lanceolata</i> kök ve toprak üstü organlarında toplam fenolik ölçümleri (mg/ g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).....	96
Tablo 4.44 <i>P. major</i> iyon sızıntı ölçümleri (%), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,007), N:4).....	98
Tablo 4.45 <i>P. lanceolata</i> iyon sızıntı ölçümleri (%), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).....	99
Tablo 4.46 <i>P. major</i> hücre membran hasarları (%), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).	99
Tablo 4.47 <i>P. lanceolata</i> hücre membran hasarları (%), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).....	100
Tablo 4.48 <i>P. major</i> klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil Ölçümleri (mg/ g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).....	102
Tablo 4.49 <i>P. lanceolata</i> klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil ölçümleri (mg/ g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).	103
Tablo 4.50 <i>P. major</i> karotenoid ölçümleri (mg/ g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).....	104
Tablo 4.51 <i>P. lanceolata</i> karotenoid ölçümleri (mg/g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).....	104
Tablo 4.52 <i>P. major</i> yaprak örneklerinin Fv/Fm ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).....	106
Tablo 4.53 <i>P. lanceolata</i> yaprak örneklerinin Fv/Fm ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).	106
Tablo 4.54 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> qP ve 1-qP ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).....	107
Tablo 4.55 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> NPQ ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).....	108
Tablo 4.56 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> türlerinin ETR ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).	109

Tablo 4.57 <i>P. major</i> ve <i>P. lanceolata</i> Φ PSII, Φ NPQ ve Φ NO ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).	110
Tablo 5.1 NP-Zn uygulamalarının bitki gelişimleri üzerinde etkileri (P. B. : Partikül Boyutu).	112
Tablo 5.2 Nanopartiküler ve hacimsel CuO uygulamaları yapılan bitkilerde iyon sızıntı yüzdesi ve hücre membran hasar ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:4).	120
Tablo 5.3 Hacimsel ve nanopartiküler CuO uygulamaları yapılan yetiştirme ortamlarında pH dereceleri. (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).	121
Tablo 5.4 ZnO nanopartiküllerinin genel fitotoksik etkileri.	138



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
ZnO	: Çinko Oksit
CuO	: Bakır Oksit
Mn	: Mangan
Na	: Sodyum
Cl	: Klor
Ca	: Kalsiyum
K	: Potasyum
Mg	: Magnezyum
Fe	: Demir
Cu	: Bakır
Zn	: Çinko
Ni	: Nikel
Cr	: Krom
Cd	: Kadmiyum
Hg	: Cıva
Co	: Kobalt
Pb	: Kurşun
Al	: Aliminyum
HNO₃	: Nitrik Asit
NaCl	: Sodyum Klorür
Al₂O₃	: Alüminyum Oksit
Fe₃O₄	: Demir (II, III) Oksit
CeO₂	: Seryum (IV) Oksit
TiO₂	: Titanyum Dioksit
CoO	: Kobalt Oksit
MgO	: Magnezyum Oksit
ZnSO₄	: Çinko Sülfat
CuSO₄	: Bakır (II) Sülfat
ZnCl₂	: Çinko Klorür
Na₂CO₃	: Sodyum Karbonat

Kısaltmalar	Açıklama
µg	: Mikrogram
µM	: Mikromolar
µL	: Mikrolitre
nm	: Nanometre
cm³	: Santimetreküp
n	: Mol
g	: Gram
kg	: Kilogram
mg	: Miligram
L	: Litre
ml	: Mililitre
°C	: Santigrat derece
T.A.	: Taze Ağırlık
K.A.	: Kuru Ağırlık
NP-Zn, NP-ZnO	: Nanopartiküler Çinko Oksit
H-Zn, H-ZnO	: Hacimsel Çinko Oksit
NP-Cu, NP-CuO	: Nanopartiküler Bakır Oksit
H-Cu, H-CuO	: Hacimsel Bakır Oksit
NP, NP-	: Nanopartikül, Nanopartiküler madde
H, H-	: Hacimsel partikül, Hacimsel madde
cm	: Santimetre
mS	: Milisiemens
dk	: Dakika
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
ppm	: Milyonda bir birim
N	: Tekrarlı Ölçülen Numune Sayısı
µmol foton m⁻² s⁻¹	: Saniye başına metrekareye düşen mikromol foton
P. B. / P. S.	: Partikül boyutu / Particle size
AF	: Akümülayon Faktörü
TF	: Translokasyon Faktörü
BF	: Biyokonsantrasyon Faktörü

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AĞIR METAL NANOPARTİKÜLLERİNİN SİNİRLİ OT (*Plantago*) BİTKİLERİYLE FİTOREMEDİASYONU

Hilal EROĞLU

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Gülriz BAYÇU

II. Danışman : Prof. Dr. Thomas SAWIDIS

Hızla artan Dünya nüfusuna paralel olarak ivme kazanan endüstriyel aktiviteler ile doğal kaynakların bilinçsiz kullanımı çevresel kirliliğin artışına doğrudan zemin hazırlamaktadır. Nano-endüstriyel faaliyetler sonucunda ZnO (Çinko Oksit) gibi nano düzeydeki parçacıklar çevreye yayılarak toksik miktarlarda birikim göstermektedir. Bu durum, doğa ve insan sağlığını ciddi bir şekilde tehdit eden küresel bir problem haline gelmiştir. Nanopartiküler ağır metaller, hacimsel (bulk) durumlarına göre fiziksel ve kimyasal özelliklerinde farklılıklar gösterirler. Bu nedenle çevreyle olan etkileşim mekanizmalarının hassas araştırmalarla ortaya konulması gerekmektedir. Çalışmamızda, kozmopolit yayılım göstermeleri ve değişen ekolojik şartlara kolayca uyum sağlamaları nedeniyle *Plantago major* L. ve *Plantago lanceolata* L. türleri model bitkiler olarak seçildi. Kum kültürlerinde yürütülen çalışmamızda, bitkilere 15 gün süreyle 100 mg/L nanopartiküler (P. B. <50 nm) ve hacimsel (bulk) ZnO uygulamaları yapılmıştır. ZnO uygulanan bitkilerin kök ve toprak üstü organlarında Zn birikimi ve toksik etkileri araştırıldı. Zn'nun, Ca, K, Mg, Mn ve Fe elementlerinin alımlarına etkisi ile birlikte meydana gelebilecek gelişimsel ve fitotoksik farklılıklar incelenerek bitkilerdeki fitoremediasyon potansiyelleri değerlendirilmiştir.

Gelişimsel parametreler incelendiğinde; bitkilerin yaprak boyutları, sürgün uzunlukları, kök ve toprak üstü organlarının tolerans indeksleri ile kuru ve yaş ağırlıkların tür içi kontrol ve uygulama grupları arasında istatistiksel bir farklılık göstermediği kaydedilmiştir. Aynı zamanda karotenoid üretimi ve PSII aktiviteleriyle ilgili parametrelerin de hacimsel ve nanopartiküler ZnO uygulamalarından etkilenmediği görülmüştür. Buna karşın, kök/ sürgün oranlarıyla birlikte bitkilerin su içerik yüzdeleri, klorofil değerleri, köklerde fenolik miktarları, iyon sızıntı ve hücre membran hasar düzeyleri gibi fizyolojik parametrelerde bir takım farklılıklar bulunmuştur. Yapraklarda ölçülen PSII aktivitelerinin görsel ifadelerinde bulunan spatiotemporal heterojenlik seviyelerine göre başta NPQ olmak üzere bazı fotosentetik parametrelerin nanopartiküler ve hacimsel ZnO uygulamalarına karşı gösterdikleri tepkisel değerler için iyi birer indikatör olabilecekleri tespit edilmiştir. Element analizleri sonucunda hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulamalarının genellikle toprak üstü organlarda Ca, Mg, Fe ve Mn gibi besin elementlerinin iletilmesini engelleyerek bu elementlerin köklerde birikim düzeylerini arttırdığı veya kültür ortamlarından köklere geçişlerini inhibe ettiği saptanmıştır. Bununla beraber, uygulama gruplarındaki K birikim düzeyleri kontrol gruplarına göre bazı farklılıklar göstermektedir. Zn birikimi her iki türde de benzer bir şekilde artış göstermesine rağmen, biyokonsantrasyon düzeylerinin özellikle köklerde daha yüksek olduğu kaydedilmiştir. Ortalama Zn akümülyasyonları dikkate alındığında; *P. major* L. türünün, *P. lanceolata* L. türüne göre yaklaşık %17,71 oranında daha fazla çinko biriktirdiği bulunmuştur. Akümülyasyon, translokasyon ve biyokonsantrasyon faktörleri ile ilgili veriler değerlendirildiğinde ise, her iki *Plantago* türünün de nanopartiküler veya hacimsel ZnO ile kirlenmiş alanların fitostabilizasyonunda kullanılabilme kapasitesine sahip oldukları sonucuna varılmıştır.

Mart 2019, 187 sayfa.

Anahtar kelimeler: *Plantago*, nanopartikül, ZnO, kirlenme, fitotoksisite, fitoremediasyon

SUMMARY

M.Sc. Thesis

**PHYTOREMEDIATION OF HEAVY METAL NANOPARTICLES BY
PLANTAIN (*Plantago*) PLANTS**

Hilal EROĞLU

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Gülriz BAYÇU

Co-Supervisor : Prof. Dr. Thomas SAWIDIS

Industrial activities that have gained acceleration and the unconscious use of natural resources in parallel with the rapidly growing world population directly facilitate the increase of environmental pollution. As a result of nano-industrial activities, nano-level particles such as ZnO (Zinc Oxide) can be released into the environment and accumulate in toxic quantities. This situation has become a global problem that seriously threatens nature and human health. Nanoparticulate heavy metals show differences in their physical and chemical properties according to their bulk conditions. For this reason, the mechanisms of interactions with the environment need to be revealed through detailed research. Because of their cosmopolitan distribution and adaptation to changing ecological conditions, *Plantago major* L. and *Plantago lanceolata* L. species were chosen as model plants. Our experiments were carried out in sand cultures and plants were treated with 100 mg/L nanoparticulate (P. S. <50 nm) and bulk ZnO for 15 days. ZnO toxicity and Zn accumulation in roots and in the above-ground plant organs were investigated. Effects of Zn on the uptake of Ca, K, Mg, Mn, Fe together with the developmental and phytotoxic differences in plants were evaluated and the phytoremediation potential of plants were discussed. There were no statistically significant

differences between the control and application groups among the leaf size, shoot length, root and above-ground weights of plants and tolerance indices. At the same time, the parameters related to carotenoid production and PSII activities were not affected by the bulk and nanoparticulate ZnO applications. On the other hand, some differences were found in the physiological parameters such as water content percentages, chlorophyll values, phenolic amounts in roots, ion leakage and cell membrane damage levels with root/shoot rates. It is determined that some photosynthetic parameters, especially NPQ, may be good indicators for the reactive values of nanoparticulate and volumetric ZnO applications according to the levels of spatiotemporal heterogeneity found in visual expressions of PSII activities measured on leaves. As a result of the elemental analysis, it was determined that the bulk and nanoparticulate Zn applications generally prevent the transfer of nutrients such as Ca, Mg, Fe and Mn to the above-ground organs, thus increasing the accumulation levels of these elements in the roots or inhibiting their transition from the culture media to the roots. However, the levels of K accumulation in the application groups show some differences compared to the control groups. Although Zn accumulation increased similarly in both species, the levels of bioconcentration were higher, especially in the roots. Considering the average Zn accumulations; *P. major* L. species was found to accumulate about 17.71% more Zn than *P. lanceolata* L. species. According to the results of the accumulation, translocation and bioconcentration factors, it can be concluded that both *Plantago* species were capable of being used in the phytostabilization of the areas contaminated with nanoparticulate or bulk ZnO.

March 2019, 187 pages.

Keywords: *Plantago*, nanoparticles, ZnO, pollution, phytotoxicity, phytoremediation

1. GİRİŞ

Son yıllarda üretim teknolojilerine yeni bir boyut kazandıran nanoteknoloji; hızlı bir şekilde artış gösteren küresel insan nüfusunun beraberinde getirdiği arz ve talep faktörlerinin dengelenmesi adına, kendi içinde barındırdığı sayısız avantajla birlikte ürünlerin verimi ve kalitesinin yükseltilmesinde umut verici bir potansiyele sahiptir. 1-100 nm arası boyutlara sahip parçacıklar haline indirgenerek şekil ve yüzey kimyası değişen nanopartiküllerin, çevresel dağılımları ve etkileşimleri sahip olduğu yeni özellikler ile tekrar şekillenmekle birlikte, meydana gelen farklılaşmalar yeni ürünlerin üretilme kapasitesini yükseltmektedir (Farre ve diğ., 2008; Joh ve diğ., 2010; Tang ve diğ., 2012; Laurent ve diğ., 2010; Vance ve diğ., 2015; Shi ve diğ., 2013).

Nanoteknoloji alanlarında kaydedilen ilerlemeler, tarım ve ziraat sektörüne de yansımış ve bununla birlikte, çeşitli uygulamalarda kullanımları yükseliş göstermiştir (Taran ve diğ., 2014; Zia-ur-Rehman ve diğ., 2018). Geniş yelpazede oldukça yararlı özelliklere sahip metal oksit nanopartiküllerinden biri olan NP-ZnO, ışık geçirgenliği, yüksek düzeyde kimyasal stabilite ve iyi bir katalizör olma gibi birçok önemli fizikokimyasal özelliği bünyesinde barındırmaktadır (Xiong ve diğ., 2003; Uike ve Vishwakarma, 2016; Waalewijn-Kool ve diğ., 2014; Blackman ve Binns, 2008; Cornelis ve diğ., 2014). Sahip olduğu eşsiz özellikleri sayesinde endüstriyel açıdan boya, cam, plastik, seramik, çimento, kauçuk, gıda ve pil üretimlerinde kullanılmakla birlikte, UV emiciler ve kozmetik gibi kişisel bakım ürünlerin üretimlerinde uygulamaları yükseliş gösteren ZnO nanopartiküllerinin, çevreye salınımı yanında insan vücuduna teması da bir o kadar hızla artmıştır (Tripathi ve diğ., 2017; Zhao ve diğ., 2013a; Zhao ve diğ., 2013b; Vance ve diğ., 2015; Toduka ve diğ., 2012; Shaymurat ve diğ., 2011; Wiesner ve Bottero, 2007). Bu metal oksit nanopartiküllerin, canlı çevreyle olan etkileşimlerinde hem zararlı hem yararlı özellikler gösterdiği kaydedilmiştir (Tripathi ve diğ., 2017; Dietz ve Herth, 2011; Zia-ur-Rehman ve diğ., 2018).

Tüm dünyada çoğunlukla antropojenik kökenli olarak yükseliş gösteren çevresel kirlilik, canlılarda toksik düzeyde metal birikimini tetiklemekle birlikte doğa ve insan sağlığını tehdit eden küresel bir problem haline gelmiştir. Özellikle atmosferde kirliliğe neden olan emisyonlar kentsel ortamlardaki en önemli sorunlardan biri olmuştur (Sawidis ve diğ., 2011).

Çağımızda geline son noktada ise nano endüstriyel aktivitelerin bu kirliliği yeni bir boyuta taşıdığı görülmektedir (Chang ve diğ., 2012; Hossain ve diğ., 2015). Çinko oksit nanopartikülleri, hızla gelişen nanoteknoloji alanında en yüksek üretim hacmine sahip olmakla birlikte, aynı zamanda çevresel kirlilikte en geniş düzeyde payı olan nanopartiküllerden biridir (Read ve diğ., 2015). Hayvanlar üzerinde yapılan bir takım deneyler doğrultusunda, nano düzeyde partiküllere solunum yoluyla maruz kalmanın akciğer iltihabına neden olabileceği görülmüştür (Yang ve diğ., 2009). ZnO'nun in vivo toksisitesiyle ilgili olarak yapılan bazı çalışmalarda ZnO'nun Sprague-Dawley farelerine trakea içi aşılmasından 24 saat sonra sitotoksik ve nötrofilik enflamasyon oluşumlarının gözlemlendiği rapor edilmiştir (Sayes diğ., 2007). Ayrıca insanlarda, bronşiyal epitel hücrelerine, beyin ve nöronlarına sitotoksik ve genotoksik hasarlar oluşturabileceği kaydedilmiştir (Toduka ve diğ., 2012).

Mikro besin elementlerinde biri olan Zn bitkilerde, hayati enzimlerin biyosentezi ve indüklenmesi, DNA'nın korunması, membran stabilizasyonu, protein, ribozom ve karbonhidrat üretimi gibi birçok görevde yer almasının yanı sıra toksisite düzeyinin temelde maruz kalınan doza bağımlı olarak değişkenlik gösterdiği kaydedilmiştir (Kabata-Pendias, 2011; Rout ve Das, 2003; Marschner, 2012; Sawidis ve diğ., 2013). Çinko eksikliğinde oluşan bir takım fizyolojik bozuklukların beraberinde ROS üretimini indüklenmesine karşın; uygun dozda kullanımı radikal üretimini inhibe ettiği ve bitki hücrelerinde serbest radikallere karşı savunma sağladığı bilinmektedir (Çakmak, 2000). *Hibiscus rosa-sinensis* L. üzerinde yapılan bir deneyde düşük dozda çinkonun salgı hücrelerinde nektar üretimini artırdığı ancak yüksek dozlarda ise tamamen inhibe ettiği kaydedilmiştir (Sawidis ve diğ., 2013). Nanopartiküllerin bitki gelişimi üzerindeki etkileri, kimyasal bileşimi, partikül büyüklüğü, yüzey aktivitesi, uygulanan konsantrasyon ve çevresel etmenlere bağlı olarak değişim gösterir (Tripathi ve diğ., 2017; Dietz ve Herth, 2011; Zia-ur-Rehman; 2018; Ma ve diğ. 2010; Stampoulis ve diğ., 2009; Shaymurat ve diğ., 2011).

ZnO nanopartiküllerinin optimum düzeyde kullanımlarına örnek olarak; lahana, karnabahar ve domates bitkilerinde protein, karbonhidrat içeriği ve fide gelişimlerini arttırdığı (Singh ve diğ., 2013); salatalık bitkilerinin gelişimi ve nişasta içeriğini yükselttiği (Zhao ve diğ., 2013b); *Lupinus termis* bitkisini tuzluluk stresine karşı koruduğu ve fotosentetik pigmentlerin üretimini indüklediği (Latef ve diğ., 2016); nohutlarda biyokütlenin artışı sağlarken, lipid

peroksidasyon aktivitesini inhibe ettiği (Burman ve diğ., 2013); buğday bitkisinin kuraklık karşısında direnç göstermesini sağladığı (Taran ve diğ., 2017) rapor edilmiştir.

Bitkilerde toksik etkileri toprak bileşenlerinin değişime uğramasıyla bağlantılı olarak; membran porlarından geçebilecek kadar küçük olan bu partiküllerin temelde kök, yaprak ve sürgünlere teması sonucunda, özellikle vakuol gibi belli bölümlerde aşırı düzeyde birikim göstermesiyle birlikte bitkiyi olumsuz yönde etkilediği kaydedilmiştir (Masarovičová ve Kráľová, 2013; Yang ve diğ., 2017; Dietz ve Herth, 2011).

Nanopartiküler maddelerin canlılar üzerinde potansiyel zararlarının daha iyi anlaşılması adına son yıllarda yeni bir disiplin olan nanotoksikoloji alanında çalışmalar büyük bir hızla artış sergilemektedir (Lin ve Xing 2007; Kumar ve diğ. 2015; Zhao ve diğ., 2013a; Zhao ve diğ., 2013b; Zia-ur-Rehman ve diğ., 2018; Masarovičová ve Kráľová, 2013; Yang ve diğ., 2017; Toduka ve diğ., 2012; Stampoulis ve diğ. 2009; Shaymurat 2011). Farklı bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarda bu maddelerin DNA hasarını tetiklediği ve bunun sonucunda oluşan nokta mutasyonlarının, ölüm reseptörlerinden sorumlu genlerinin aktive edilmesine neden olduğu kaydedilmiştir (Toduka ve diğ., 2012; Yang ve diğ., 2009; López-Moreno ve diğ., 2010; Ghosh ve diğ., 2010; Landa ve diğ., 2012).

Yüksek dozda veya uzun sürede ZnO stresine maruz kalan bitkilerin büyüme ve gelişimlerine dair etkileri hakkında son zamanlarda birçok çalışma bulunmakta ve genel olarak; domates, soğan, turp, kolza, marul, salatalık ve mısır bitkilerinde kök gelişimini inhibe ettiği (Lin ve Xing, 2007; Li ve diğ., 2016; Pokhrel ve Dubey 2013; Ghodake ve diğ., 2011); lahana bitkisinde doza bağımlı olarak çimlenme oranında düşüşe neden olduğu (Pokhrel ve Dubey 2013); buğday ve soya fasülyesinde, kök uzunluklarının kısalması ve taze ağırlıkların azalmasıyla birlikte kök büyümesinin baskılandığı (Lopez-Moreno ve diğ., 2010; Dimkpa ve diğ., 2013; Hossain ve diğ. 2016); Çimlerde kök gelişim oranında ve biyokütlede azalmaya neden olduğu (Lin ve Xing, 2007; Lin ve Xing, 2008); *Arabidopsis* türünde ise çimlenme oranı, biyokütle ve yaprak sayısında azalmayı tetiklediği (Wang ve diğ., 2016; Lee ve diğ., 2010) rapor edilmiştir. Çeşitli çalışmalar doğrultusunda NP-ZnO stresinin fizyolojik olarak neden olduğu değişimlere bakılacak olursa; bitkilerde oksidatif stresi indüklenmesi, doza bağımlı olarak antioksidant enzimlerin üretiminin artması veya inhibisyonu, mitotik indeksin düşmesi; ROS, MDA ve H₂O₂ seviyelerinde artış, klorofil seviyelerinde azalma ve fenolik madde üretiminin uyarılmasına neden olduğu kaydedilmiştir (García-López ve diğ., 2018;

Shaymurat ve diğ., 2011; Mohsenzadeh ve Moosavian 2017; Du ve diğ. 2011; Kumari ve diğ., 2011; Li ve diğ., 2016; Yang ve diğ., 2009; Dimkpa ve diğ., 2012; Hossain ve diğ., 2016; Ghosh ve diğ., 2016; Thwala ve diğ., 2013; Wang ve diğ., 2016; Panda ve diğ., 2017; Chen ve diğ., 2018).

Çevresel kirliliğin artmasına karşın ilk remediasyon çalışmaları fiziksel ve kimyasal tabanda yürütülmüştür. Çevre kirleticilerine maruz kalmış alanlarda yaygın olarak kullanılan bu remediasyon yöntemlerinin pahalı olması, yüksek enerji harcaması ve yan atık oluşturması gibi nedenlerden dolayı verimlilikleri sınırlı düzeyde kalmaktadır (Hamutoğlu ve diğ., 2012). Kirlenmiş alanların bitkilerle temizlenmesi veya restorasyonu anlamlarına gelen 'Fitoremediasyon' nano-endüstrinin ağırlıklı olarak neden olduğu çevresel kirliliğe karşı bir umut ışığı taşımaktadır. Çeşitli nedenlerden dolayı kirliliğe maruz kalmış karasal ve sulak bölgelerde, bitkiler ve rizosferik mikroorganizmaların kullanımıyla, toksisiteye neden olan kontaminasyon faktörlerinin en aza indirgenmesi, nötrlenmesi veya tamamen temizlenerek metabolize edilmesini sağlayan yeşil biyoteknolojidir (Singh ve Prasad 2011; Park ve diğ., 2011; Bayçu ve diğ., 2014; Zhai, 2013; Prasad ve Fertias 2003; Prasad, 2003).

Nano-teknolojinin getirmiş olduğu eşsiz avantajlar nedeniyle günlük yaşantımızda kullandığımız ürünlerde uygulanma seviyelerinin hızlı bir şekilde artması sonucu, çevreyle etkileşimlerinde meydana gelebilecek olumsuzluklara karşı nanopartiküllerin fitoremediasyon potansiyelleri önemli araştırma konularından biri haline gelmiştir (Hanks ve diğ., 2015).

Nanopartiküler metaller, hacimsel durumlarına kıyasla farklı özellikler barındırdıkları için normalde akümülatif olan bir bitkinin, nanopartikül toksisitesine karşı farklı tepkiler verebilmesi olasıdır (Shi ve diğ., 2013; Iravani, 2011).

Tuzlu bataklık bitkileri *Halimione portulacoides* ve *Phragmites australis* türleri iyonik Cu ve NP-CuO uygulamalarına maruz bırakılmış ve sonuç olarak 2 bitki türünün de köklerde nanopartiküler Cu biriktirebildiği ancak translokasyon seviyelerinde farklılıklar olduğu rapor edilmiştir (Andreotti ve diğ., 2015). Bazı sucül türler kullanılarak gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, çeşitli nanopartiküler metal uygulamaları yapılmış ve sonuç olarak *P. stratiotes* ve *S. natans* türlerinin bünyelerinde bakır ve çinko nanopartiküllerinin yüksek oranda birikme potansiyellerinin olduğu tespit edilmiştir (Olkhovych ve diğ., 2016a).

Bünyelerinde yüksek düzeyde metal taşıyan bitkilerin ekstratlarından nanopartikül metallerin eldesinde kullanılabileceği ön görülmekte ve bu konuya ilişkin çalışmalar yapılmaktadır (Al-Akeel ve diğ., 2010). Örnek olarak Qu ve diğ. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, *Physalis alkekengi* bitkisinden nanopartiküler boyutta çinko oksitin geri kazanımı gerçekleştirilmiştir.

Plantago lanceolata L. ve *Plantago major* L. türleri genellikle nötr veya bazik topraklarda yayılım göstermekle birlikte; antropojenik kökenli olarak bozunuma uğramış bölgeler gibi verimsiz topraklardan, çayırılık alanlar ve yağmur ormanlarına benzer habitatlara kadar geniş bir şekilde yayılım gösteren kozmopolit türlerdir (Clapham ve diğ 1989; Laiine, 2005; Stoutjesdijk, 1992; Kolb ve Schwarz, 1983; Aart van der ve Vulto, 1992; Bastin ve Thomas, 1999; Çiftçi, 2012). Kirlenmiş bölgelerde yapılan bir çok çalışmada bu türlerin belli bir tolerasyona sahip olduğu gözlenmekle birlikte, Zn, Cd, Cu ve Pb gibi ağır metalleri akümülyasyon potansiyellerinden dolayı fitostabilizasyonda kullanılabilecekleri rapor edilmiştir (Dimitrova, ve Yurukova, 2005; Yoon ve diğ., 2006; Nadgórska-Socha ve diğ., 2013; Tinkov ve diğ. 2016; Djingova ve Kuleff, 1999; Szarek-Lukaszewska ve Niklinska 2002; Gucwa-Przepióra ve diğ., 2015; Kurteva, 2009).

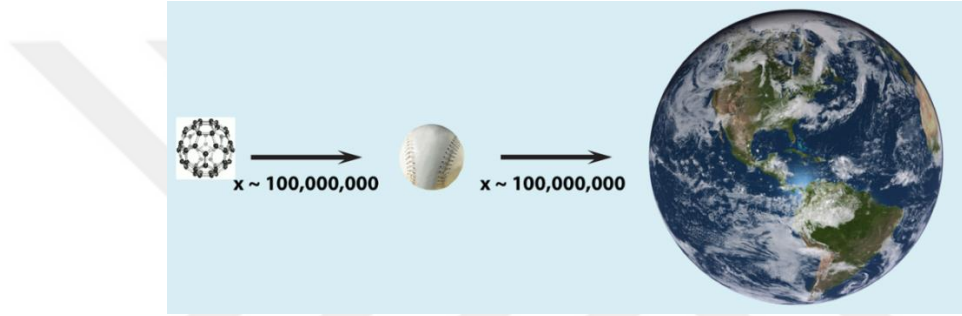
Deneylelerimizde, her iki bitki türünün de alkali ve verimsiz ortamlarda fitostabilizatör olarak ZnO nanopartiküllerinin çevresel toksisitesini minimum düzeye indirme potansiyellerinin olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca köklerde ölçülen Zn seviyesinin daha yüksek olması, ilerde yeşil teknoloji ile köklerinden nanopartiküler çinkonun geri eldesinde kullanılabileceği ihtimalini doğurmuştur. Nanopartiküllerin bitkilerle fitoremediasyon kapasitelerine dair çalışmalar oldukça sınırlı düzeydedir (Gomes ve diğ., 2016). Bu çalışmada baz alınan sınırlı ot türlerinin NP-ZnO toksisitesine karşı verdiği tepkisel değerlere dair elde ettiğimiz verilerin, gelecekte çok yönlü uygulamalarda farklı parametreler doğrultusunda oluşturulacak modellemelerde öncü bir çalışma olarak katkı sağlanması hedeflenmektedir.

Deney aşamasında model olarak seçtiğimiz bitki türlerine nanopartiküler ve hacimsel Bakır Oksit (CuO) uygulamaları da yapılmıştır. Ancak yapısal özelliklerinin komplike olması ve ana ölçümlerde meydana gelen bir takım sorunlar dolayısıyla, bakır uygulanan gruplar tez kapsamından çıkartılmıştır. Bu nedenle sadece Çinko Oksit uygulama gruplarının değerlendirilmesine karar verilmiştir. Tartışma ve sonuç kısmında bu durumdan yer yer bahsedilmiştir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. GÜNÜMÜZDE NANOTEKNOLOJİ

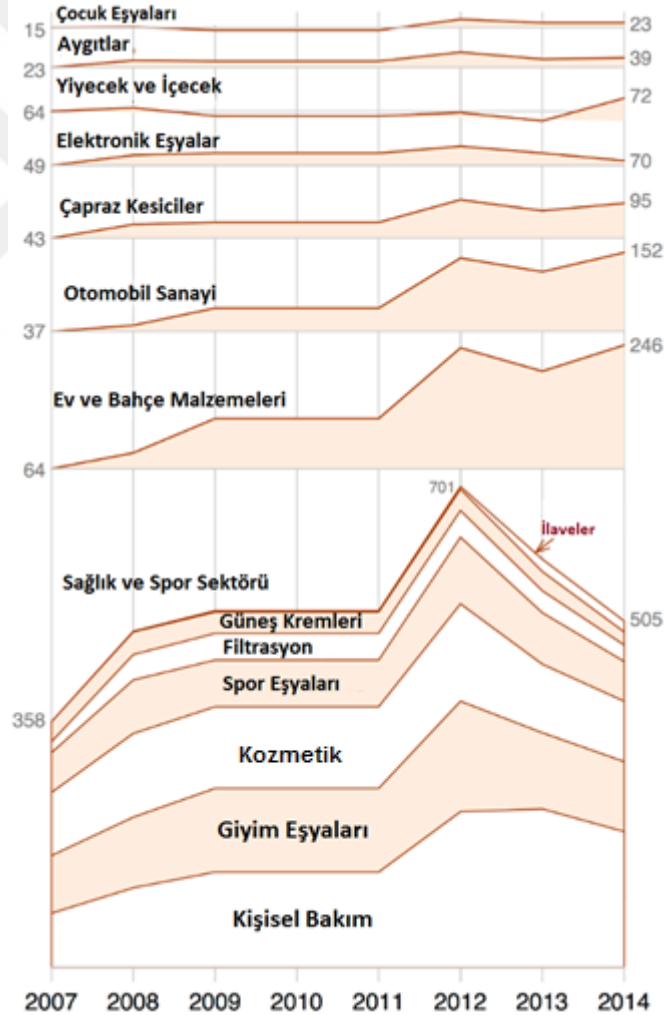
Nanoteknoloji, yaklaşık 1 ila 100 nanometre boyutunda yapılan tüm çalışmaları kapsayan multidisipliner bir alandır. Bir nanometre, bir metrenin milyarda biridir. Yani oranlamak gerekirse, yarı çapı 1.1 nanometre olan bir fulleren ile softbol topu arasındaki boyut farkı, Dünya ile softbol topu arasındaki boyut farkıyla aynıdır.



Şekil 2.1 Fulleren, softbol ve dünya arasındaki boyut farklarının şeması (National Nanotechnology Initiative Strategic Plan, 2016'dan alınmıştır).

Nanoteknolojik uygulamalar, temelde geleneksel olarak üretimde kullanılan hammaddenin nano düzeye indirgenmesiyle fiziksel ve kimyasal açıdan benzersiz özellikler kazanan maddenin; elektriksel, optik ve mekanik temelli yeni malzemelerin üretilmesine imkan sağlamaktadır (Farre ve diğ., 2008). Yani nano ölçekli madde, normal boyutunda sahip olduğu bir takım fiziksel ve kimyasal özellikler bakımından değişkenlik gösterebilir. Nano-nesnelerin atomik dizilimleri hacimsel hallerine kıyasla büyük bir fark taşımaktadır. Özellikle nano nesnelere toplam atom sayısının dörtte birinden fazlası yüzeyde bulunarak yüzey hacim oranını artırmaya yönelir ve bu nedenle manyetik, geometrik ve elektronik özellikler açısından hacimsel durumuna kıyasla bir takım farklılıklar barındırır (Blackman ve Binns, 2009). Örneğin, bir malzemenin erime noktası, rengi, dayanıklılığı, kimyasal reaktivitesi ve daha fazlası nano boyutta değişebilir. Bu sayede en az 100 nm ya da daha küçük bir boyuta sahip olan nanomalzemelerin ticari amaçlar doğrultusunda çeşitli uygulamalarda kullanımları kısa süre içerisinde ivme kazanarak yükseliş göstermektedir (Farre ve diğ., 2008).

Nanoteknoloji fikri ilk kez 1959'da Nobel Ödüllü Amerikalı bir bilim adamı olan ve sonradan Nanoteknolojinin babası olarak görülen Richard Feynman tarafından ortaya konmuştur. "Altta bolca yer var" ("There's Plenty of Room at the Bottom") adlı ünlü konuşmasında, dipten başlayarak nano seviyesine kadar ölçekleme eyleminin büyük bir üretim potansiyeli içerdiği ve gelecek teknolojinin esas anahtarı olduğunu öne sürmüştür. Konuşmasında ayrıca bir inçin (2,54 cm) 64'te birinden daha küçük boyutlara sahip motorlar gibi minyatür ürünlerin üretilebileceğini öne sürmüştür (Feynman., 1960). Nanoteknoloji, o günlerden günümüze doğru, barındırdığı bu potansiyel sayesinde büyük bir hızla gelişerek, çeşitli şekil ve çaplarda nanomalzemelerin üretilmesine vesile olmuştur (Farre ve diğ., 2008; Joh ve diğ., 2010; Tang ve diğ., 2012; Laurent ve diğ., 2010).



Şekil 2.2 2007 ile 2014 yılları arası nanoteknoloji kullanımı ile üretilen genel tüketim malzemeleri (Vance ve diğ., 2015'den değiştirilmiştir).

Günümüzde nanoteknoloji, ilaç ve kozmetik endüstrisi, elektronik sanayi, biyosensörler, dolgu malzemeleri, katalizörler, enerji depolama, kanser tedavisi, hücre görüntüleme uygulamaları gibi geniş bir uygulama yelpazesine sahip üretim pazarını kapsamaktadır (Farre ve diğ., 2008; Nel ve diğ., 2006; Liu ve diğ., 2008a ve 2008b; Sun ve diğ., 2008; Yang ve diğ., 2009; Harhaji ve diğ., 2007; Read ve diğ., 2015; Vance ve diğ., 2015).

BCC Research'in 2016 yılında yayınladığı rapora göre (McWilliams, 2016):

- Küresel nanoteknoloji pazarı, 39,2 milyar dolara erişmiştir. 2016'dan 2021 yılına kadar yaklaşık % 18,2'lik bileşik yıllık büyüme oranı ile 90,5 milyar dolara ulaşması tahmin edilmektedir.
- Nanomalzeme pazarı, 32,5 milyar dolara varmıştır. 2016'dan 2021 yılına kadar % 18,9 bileşik yıllık büyüme oranı ile 77,3 milyar dolara yetişmesi beklenmektedir.
- Nanoaygıt pazarında ise, 20,5 milyon dolara erişilmiştir. 2016'dan 2021 yılına kadar % 28,2 bileşik bir yıllık büyüme oranı ile 195,9 milyon doları bulması öngörülmektedir.

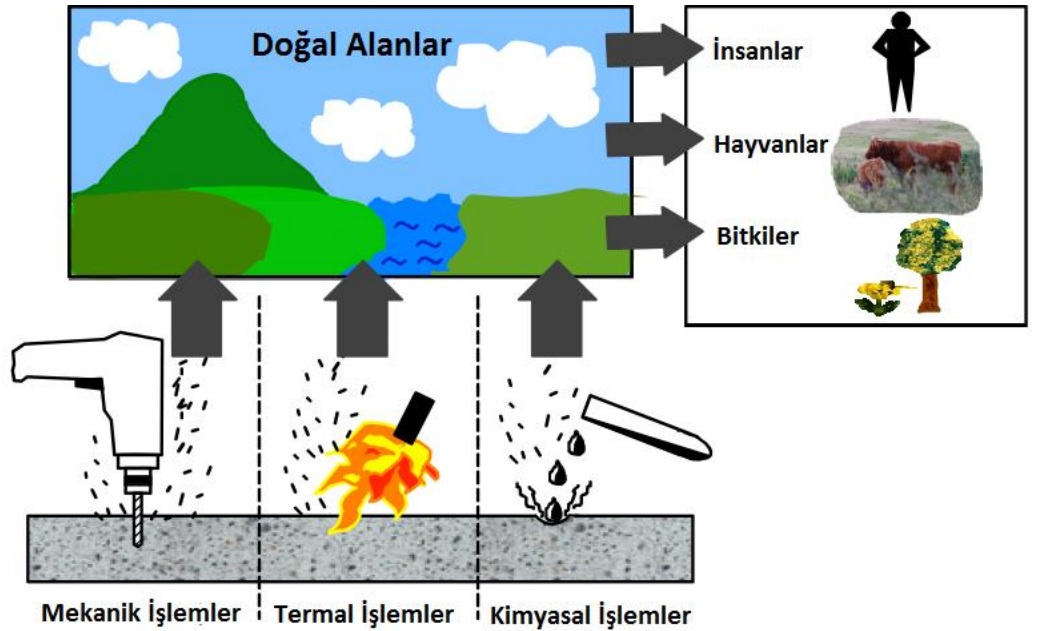
Bu alanlardaki nanoteknolojik ilerlemelerin toplum ve ekonomiye önemli ölçüde faydalı olması, nanoteknoloji için milyar dolarlık küresel yatırımın yansımasıdır (Oberdörster ve diğ., 2007).

Günümüzde, yeni nesil teknolojiye ait geliştirilen nanomalzemeler su kirliliğinin azaltılması, yeraltı su kaynaklarının iyileştirilmesi, içme suyunun arıtımı ve hava kirliliğinin kontrolü gibi birçok çevresel uygulamalarda kullanılmakla birlikte; bu nanomalzemelerin artan pazarlarla paralel bir şekilde üretim seviyelerinin yükseliş göstermesi sonucunda ise kaçınılmaz olarak doğaya salınım düzeylerinin büyümesine zemin hazırlamakta, ve çevresel kirlilik ile biyotik faktörler üzerinde patojenik bir etki tehlikesi yaratmaktadır (Wiesner ve Bottero, 2007; Hossain ve diğ., 2015). Özellikle nanopartikül metal oksitlerin toksisitesi hem halk hem de bilim insanları için endişe kaynağı olmuştur (Chang ve diğ., 2012). Çevreye saçılan partiküllerin neden olduğu hava kirliliği, daha hafif solunum semptomlarından ölümcül kalp hastalıklarına kadar çeşitli sağlık sorunlarıyla ilişkilendirilmiştir. Samoli ve diğ. (2014) tarafından yürütülen bir araştırmada, Yunanistan, İtalya, Fransa ve İspanya ülkelerinde atmosferde 2,5 µm boyutundan küçük serbest partikül miktarının artış göstermesiyle birlikte, kısa süreli sağlık sorunları ile diyabet, kalp ve akciğer hastalıklarından kaynaklı ölüm oranlarının ve yükseldiği bildirilmiştir.

WHO'nun (World Health Organisation) 2018 yılında güncellediği küresel hava kalitesi veri tabanından elde edilen bilgiler doğrultusunda bazı kentsel alanların hava sahalarında ölçülen ortalama partikül madde yoğunlukları:

- Estonya, Finlandiya, İsveç, İzlanda ve Norveç ülkelerinde, 5 - 14 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
- İngiltere, Almanya, İspanya, Hollanda ve Japonya ülkelerinde 15 - 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
- Türkiye, Yunanistan, Bulgaristan, Romanya, İtalya, Kore, Meksika, Fransa, Polonya ve Lübnan ülkelerinde 21 - 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
- Bosna Hersek, İran ve Bahreyn ülkelerinde 40 - 70 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
- Afganistan, Çin, Katar, Kuveyt ve Suudi Arabistan ülkelerinde 70 - 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
- Pakistan ve Hindistan ülkelerinde 100 - 170 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ arasında bulunmaktadır.

Uzmanlar atmosferde zararlı olmayan partikül düzeyine 10 mg/m^3 'lük bir sınır önermektedir (bu değer altında herhangi bir sağlık etkisi bildirilmemiştir), ancak resmi kaynaklar 20-25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ arasında bir değeri desteklemektedir (Annesi-Maesano, 2007). Bu nedenle antropojenik nedenlerle nanopartiküllerin (NP) artan şekilde, çevreye salınımları insan sağlığı ve yaşamı için de potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır (Dietz ve Herth, 2011).



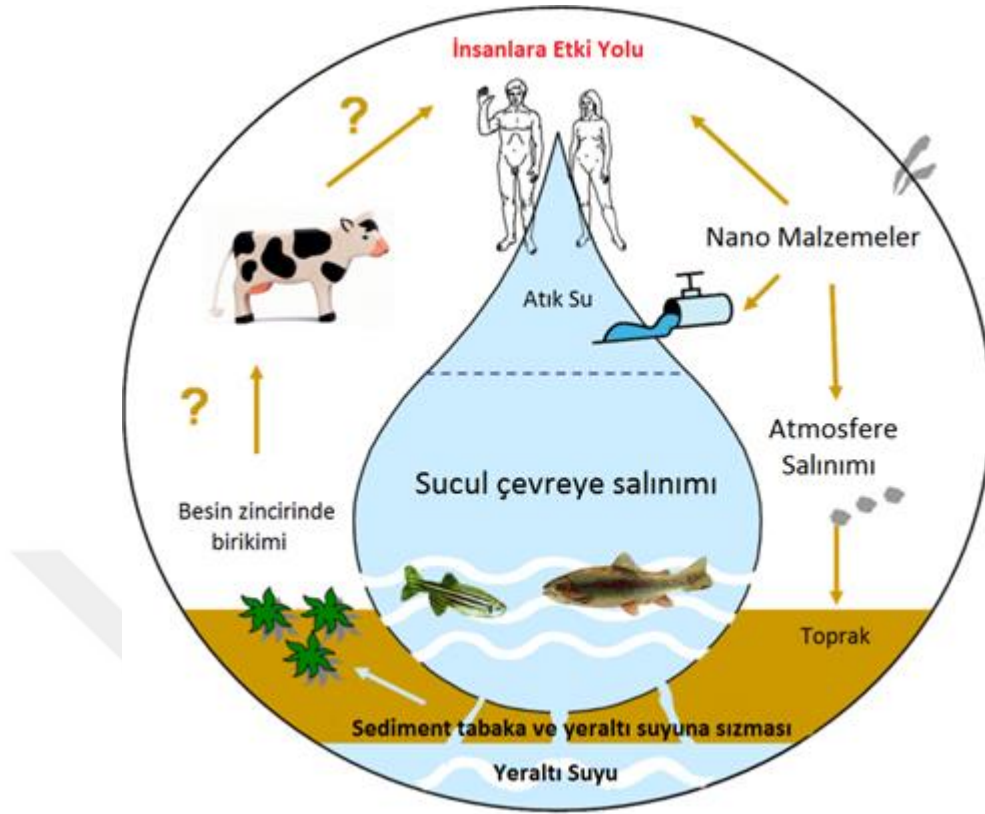
Şekil 2.3 Nanomalzemelerin antropojenik sebeplerle çevresel yayılımları (Das Projekt DaNa 2.0 (Steinbach ve diğ., 2016), www.nanopartikel.info sitesinden değiştirilmiştir).

Doğaya salınan serbest nanopartiküllerin etki oranı, fiziki ve kimyasal şartlara göre çok fazla değişkenlik sergilemekle birlikte, çevresel etmenler de bu durumda büyük rol oynar. Cornelis ve diğ. (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada, nanomateryallerin topraklardaki biyoemilim aktivitelerini incelemiş ve sonuç olarak; toprak organik bileşikleri, tuzluluk oranı, doku yapısı, pH ve bağlı su miktarı gibi faktörlerin çevreye yayılan nanopartiküler ağır metallerin mobilizasyonu ve biyokonsantrasyon oranını belirlediği kaydedilmiştir.

Science for Enviroment Policy'nin 2017 yılında yayınladığı rapora göre, nanomateryallerin insan vücuduna girişi için üç temel yol vardır:

- i. İnhalasyon sırasında hava yoluyla;
- ii. Sindirim sistemi yoluyla veya ağız yoluyla;
- iii. Cilt veya dermal temas yoluyla.

Nanopartiküller akciğerlerde sıkışabilir, ciltte alerjiye neden olabilir veya sindirim sistemimizi, özellikle mikrobiyom veya doğal bakteriler açısından etkileyebilir. Eğer parçacıklar kan akışına ulaşırsa, o zaman vücuttaki farklı hücreler ve organlar tarafından alınma ve birikme potansiyeline sahiptir (Science for Enviroment Policy, 2017). Hedge ve diğ. tarafından 2015'te yayınlanan bir makaleye göre, bazı çözünmeyen nanopartiküllerin farklı koruyucu bariyerler veya organizmalardan geçebilecek potansiyele sahip olduğu ve bu sebeple vücut içi yayılımıyla birlikte, akciğerler, beyin, karaciğer, dalak ve kemikler gibi birçok organda birikebildiği kaydedilmiştir. Canlı bir organizma nanomalzemelere maruz kaldığında biyolojik etkinin boyutu; o maddenin canlının organlarına ve hücrelerine ulaşma kapasitesine bağlı olmakla birlikte nanomateryallerin yayılımı, organizmaların bulunduğu habitatlara göre çeşitlilik gösteren birçok değişkene göre şekillenmektedir (Science for Enviroment Policy, 2017).



Şekil 2.4 Nanomalzemelerin çevreye dağılımları ve besin zinciri üzerinde etkileri (Das Projekt DaNa 2.0 (Steinbach ve diğ., 2016), www.nanopartikel.info sitesinden değiştirilmiştir).

Yakın zamanda sucul ortamda nanotoksikoloji ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada (Chae ve An, 2016), 10-20- μm uzunluğundaki gümüş (Ag) nanotellerin, yosun türü olan *Chlamydomonas reinhardtii*, su bitkisi *Daphnia magna* ve zebra balığına olan boyutsal toksisitesi ve bu üçlü üzerinden bu nanotellerin besin zincirindeki hareketi incelenmiştir. Sonuçlar gümüş nanotellerin alglerin büyümesini doğrudan engellediğini ve su pirelerinin sindirim organlarını tahrip ettiğini göstermiştir. Diğer bir sonuç ise uzun Ag nanotellerin (20 μm), hem alglerde hem de su pirelerinde kısa olan (10 μm) nanotellere nazaran daha çok toksik etki gösterdiği, ancak balıkların gövdelerinde kısa olan gümüş nanotellerin, uzun olanlara kıyasla daha yüksek düzeyde birikim gösterdiği rapor edilmiştir.

Bouguerra ve diğ. (2016) tarafından yürütülen bir araştırmada nanopartiküler Titanyum Silikon Oksit (TiSiO_4 optik, cam ve seramik uygulamalarında kullanılır.) toksisitesinin iki omurgasız tür - solucan kurdu (*Eisenia Andrei*) ve yay kuyruk böceği (*Folsomia candida*)

üzerindeki etkileriyle birlikte; NP-TiSiO₄ ile kirlenmiş alanlarda kaçınma davranışları ve üreme eylemleri incelenmiştir. Solucanların en yüksek konsantrasyonda (kg başına 1000 mg) kirlenmiş bölgede kaçınma gösterdiği, ancak üreme fonksiyonlarında önemli bir değişim olmadığı görülmüştür. Bouguerra ve diğ. (2016)'lerine göre, ilk bakışta kaçınım oranının artmasının sadece solucanlar açısından zararlıymış gibi görünmesine karşın bu durum, ekolojik olarak irdelendiğinde ise solucanların toprağın havalandırılması gibi birçok işlevlerini aksatması sonucu ekosistem dinamiklerinin değişmesi ve diğer canlıların yaşamlarının tehdit altına girmesine zemin hazırlar.

Nanomateriyallerin çevreyle etkileşimleri sonucu oluşabilecek potansiyel zararların dahi iyi tespit edilebilmesi adına en yararlı yaklaşımın ortaya konması ile birlikte meydana gelmesi mümkün olan tüm senaryoların tek tek ele alınıp incelenmesi ve bu konu hakkında farkındalık oluşturulması çevre sağlığının geleceği için zorunluluk haline gelmiştir. Özellikle nanopartiküllerin biyolojik etkilerini değerlendirmek adına, hücreler ve organeller ile polisakkaritler, proteinler ve kolloidler gibi onarım ve metabolizma faaliyetlerinde yer alan yapı molekülleri üzerinde toksik etkilerinin daha iyi anlaşılması gerekir. (Canesi ve Corsi, 2016). Bu nedenle nanomateriyallerin biyotik ve abiyotik faktörler ile etkileşimlerinin daha iyi anlaşılması için yapısal özelliklerinin ayrıntılı bir şekilde irdelenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

2.2. NANOPARTİKÜLLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Nano sözcüğü, latince kökenli bir kelime olup, 'cüce' anlamı taşımaktadır. Genel olarak tanımlamak gerekirse, nanopartiküller, boyutları 1 ile 100nm arasında değişen uzunluklara sahip olan ince yapılı parçacıklardır. Nanopartiküller, hacimsel düzeyde olan daha büyük parçacık boyutlarına sahip yapısal durumlarıyla karşılaştırıldığında yüzey/ hacim oranları daha geniştir (Nowack ve Bucheli, 2007; Haverkamp ve Marshall, 2008; Dietz ve Herth, 2011). Çevrede bulunan nanopartiküller temelde organik ve inorganik yapıda olup; doğal veya antropojenik kaynaklardan yayılım göstermektedir (Nowack ve Bucheli, 2007).

Tablo 2.1 Nanopartiküllerin Sınıflandırılması (Nowack ve Bucheli, 2007'den değiştirilmiştir).

Bulunma Şekilleri	Yapıları	Biçimleri		Örnekler
Doğal	Karbon-İçerikli	Biyojenik	Organik kolloidler Organizmalar	Humik asit Virüsler
		Atmosferik	Aerosoller	Organik asitler
		Jeojenik Pirojenik	Duman kurumu	Fullerenler Karbon nano tüpleri
	İnorganik	Biyojenik	Oksitler Metaller	Mıknatıslı demir cevheri Au, Ag, Fe, Zn
		Atmosferik	Aerosoller Oksitler	Deniz tuzu Demir Oksitler Çinko Oksitler Bakır Oksitler
		Jeojenik	Balçık yapıda	Aliminyum silikat kili
Antropojenik (İnsan yapımı)	Karbon-İçerikli	Yan ürün	Yanıcı yan ürünler	Karbon-Nanotüpler Nanoküreler
		İşlenmiş	Duman kurumu	Fullerenler Aktif Karbon üretimi
	İnorganik	Yan ürün	Polimetrik NP	Polietilen glikol NP
		İşlenmiş	Yanıcı yan ürünler Oksitler Metaller Tuzlar Aluminosilikat	Platinyum metalleri TiO ₂ , SiO ₂ Ag, Au, Fe, Cu, Zn Metal fosfatlar Seramikler

2.2.1. NP'lerin Çevresel Faktörler Doğrultusunda Gösterdiği Özellikler

Hartmann ve diğ. (2014) tarafından yayınlanan bir raporda, NP'lerin çevreyle olan etkileşimlerine göre gösterdikleri fizikokimyasal değişimleri belli gruplar altında açıklamışlardır. Değişim gösterdikleri bu özellikler:

- Foto-kimyasal bozunma
- Oksidasyon ve redüksiyon
- Presipitasyon (çökme ve yağış oranı)
- Çeşitlilik ve komplekslik durumu
- Adsorpsiyon (emilim) ve desorpsiyon (dışa salınım)
- Biyotransformasyon
- Agregasyon ve aglomerasyon (yığın oluşturma)
- Sedimentasyon başlıkları altında değerlendirilmiştir.

Tablo 2.2 NP'lerin Çevresel Faktörler Doğrultusunda Gösterdiği Başlıca Özellikler
(Stone ve diğ., 2010a; Stone ve diğ., 2010b; Nowack, 2010; Hartmann ve diğ., 2014'den
değiştirilmiştir).

Çevresel Süreç	Açıklama
1) Fotokimyasal Transformasyon	
Fotokatalitik Bozunum	Fotokimyasal dönüşümler, ışık kaynaklı kimyasal değişimlerdir. Nanopartiküllerde kimyasal değişimlerin ışıkla indüklenmesi veya ışıkla bozunuma uğramasıdır. Bazı karbon bazlı nanopartiküllerde ışığa aktivasyonunun oksidasyona neden olabileceği bulunmuştur. Işıksal aktivasyonlar metal oksit NP'lerinin organik maddeye bağlanma işlevlerini değiştirebilirler.
Oksidasyon & Redüksiyon	Redoks reaksiyonları kimyasal tepkimelerde elektron transferi sayesinde meydana gelir. Yükseltgenme ve indirgeme reaksiyon işlemleri, sırasıyla elektronların kaybını veya kazanılmasını içerir. Redoks reaksiyonları, çözünme dahil inorganik maddeler için kimyasal transformasyon işlemlerinin temelidir. Nanopartiküllerde redoks potansiyeli, kimyasal bir tepkimede oksidasyon veya redüksiyona maruz kalma eğilimini ifade eder ve çeşitli çevresel koşullarına (pH, indirgeyici veya oksitleyici ajanların varlığı vb.) göre farklılıklar gösterebilir.
Çeşitlenme ve Kompleksleşme	Çevre matrisindeki diğer moleküler veya iyonik olarak doğada çözülmüş halde bulunan kimyasal maddelerin, nanopartiküller ile etkileşimleri sonucunda oluşan yeni maddelerdir. Nanopartiküllerin yüzey kısmında meydana gelen kimyasal değişimler farklılaşmaya zemin hazırlar.
Presipitasyon (çökme ve yağış oranı)	Bir NP'nin parçacık çözünme kinetiği (çözünürlük oranı) ve denge durumu (çözülmüş madde miktarı) çevresel aktivite ve toksisite derecesini etkileyecektir. Her ne kadar çözünürlük, maddeye bağlı olsa da, katı bir maddenin çözünürlüğü, aynı zamanda ortamda hakim olan diğer parametrik değerlere (iyonik kuvvet, ligandlar, pH ve sıcaklık gibi) göre değişkenlik gösterebilir. Ayrıca NP'lerin büyüklüğü, kümelenme potansiyelleri (agregasyon) ve partiküllerin dış tabakasının yapısal özelliklerinin çözünürlük düzeyine etki ettiği inanılmaktadır. Tortu oluşumu matrisde çözünürlüğü düşük olan NP'lerin farklı nedenlerle katı bir faz oluşturması durumudur.

2) Fiziksel Dönüşümler (Tablo 2.2. devamı)	
Toplanma ve yığın oluşturma potansiyeli (Agregasyon ve aglomerasyon)	Nanopartiküller arasında oluşan çekimsel etkileşimler bunların kümelenmesine ve yığın oluşturmaya neden olabilir. Agregat yığınlar, güçlü kimyasal bağlar veya elektrostatik etkileşimler ile bir arada tutulan parçacıkların kümelenmesinden meydana gelmektedir. Agregat oluşumu geri dönüşü olmayan bir işlem olarak kabul edilir. Aglomere yığınları ise zayıf kuvvetler (Örnek: Van der Waals) tarafından bir arada tutulur ve geri dönüşümü mevcuttur. Agregasyon veya aglomerasyon oluşum derecesi, çevresel özelliklerin (Karışım oranları, pH, doğal organik madde v.b.) yanı sıra, partikül özelliklerine de (boyut, kimyasal kompozisyon, yüzey yükü v.b.) bağlı olarak, NP'lerin çevredeki durumlarını önemli ölçüde etkiler. Bu nedenle agregasyon ve aglomerasyon bazlı yığınların oluşum kapasiteleri, NP'lerin biyoemilim düzeylerini önemli ölçüde etkileme potansiyeline sahiptir.
Sedimentasyon oluşumu	Sedimentasyon, agregasyon ve aglomerasyona bağlı olarak yerçekiminin etkisiyle birlikte yığın haline gelen partiküller topluluklarının dibe çökme potansiyelidir.
3) Farklı Yüzeyler ve Maddeler ile Etkileşimleri	
NP'lerin Doğal Organik Maddeler ile Etkileşimleri	NP'ler ortamdaki diğer maddelerle (makromoleküller, hümitik asitler vb.) etkileşime girebilir. Bu etkileşim diğer malzemelerin NP'ye adsorpsiyonunu temsil edebilir (yani NP emici bir madde işlevi görür). Hümitik asit gibi doğal organik maddelerin NP'lere bağlanması bu duruma örnek olarak verilebilir. Bu durum NP'lerin yüzey özelliklerini tamamen değiştirmekle birlikte, diğer parçacıklar (aglomerasyon) ve genel çevreyle (örneğin çözünme) olan etkileşimlerini üzerinde farklılıklar yaratır. Sonuç olarak NP'lerin çevresel (örneğin sedimentasyon) özellikleri yeniden şekillenir.
NP'lerin Katı yüzeyler ile Etkileşimleri	Katı yüzeyler arası etkileşimler NP'lerin çevresel yayılma özellikleri üzerinde önemi büyüktür. Burada, toprak parçacıklarına adsorpsiyonunda bağlandığı maddelerin özellikleri ve ortam içi birikme mekanizması kilit rol oynar.
NP'lerin Sıvı İçi Etkileşimleri	Sulak ortamların içinde barındırdığı fiziksel ve kimyasal özelliklerin dışında; agregasyon, aglomerasyon ve sedimentasyon oranları NP'lerin su daki yayılımları üzerinde kritik rol oynar.

4) Biyolojik Transformasyonları (Tablo 2.2. devamı)	
Biyodegradasyon	Bir organik maddenin saprofitler tarafından ayrışmasını içeren biyolojik işlemlerin bütünü kapsayan biyodegradasyon; inorganik yapıdaki NP'lerden ziyade organik yapıya sahip olma eğilimi gösteren karbon bazlı NP'lerde görülebilecek bir durumdur.
Biyomodifikasyon	Biyo-modifikasyon, biyolojik olarak aracılık edilen bir dönüşüm süreci olarak tanımlanmaktadır. Bitkilerin nanopartiküler metal oksit ve metal hidroksit ile modifikasyon süreçleri sırayla, köklerde NP'lerin adsorpsiyon, çözünme ve kompleksleşme aşamalarını barındırır. Biyolojik modifikasyonlar, aglomerasyon veya çözünme durumu, bitkilerde veya diğer organizmalarda NP'lerin emilim oranlarını değiştirebilir.

2.2.2. Metalik Nanopartiküller:

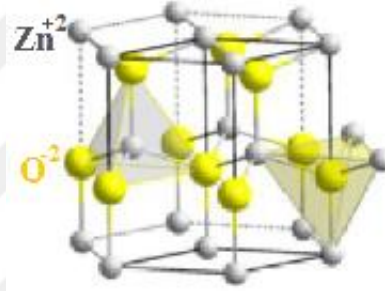
Nano ölçekli parçacıkların, periyodik tabloda yer alan birçok elementten oluşan bileşenlerine göre nanopartiküller; metalik, yarı metalik, iyonik veya nadir olarak gaz fazında moleküller yapıda bulunabilir (Blackman ve Binns, 2009). Metalik nanopartiküller, metal içeriğinin genelini temsil etmekle birlikte, TiO_2 , Al_2O_3 , Fe_3O_4 , ZnO ve MgO gibi metal oksitlerin bulunduğu gruptur. Farklı nanomateryaller arasında en büyük üretim ve uygulama payı metal oksit nanomalzemelerine aittir (Aitken ve diğ., 2006). Ancak nanoboyutta bulunan oksitlenmiş metallerin etkisinin normalden daha yüksek bir toksisiteye neden olabileceği ön görülmüştür (Chang ve diğ., 2012). Bu tez çalışmasında kullanılan ZnO nanopartiküllerinin fitoremediasyon potansiyelleri ve fitotoksik özellikleri irdelenmiştir.

2.2.2.1. Çinko ve ZnO Nanopartiküllerinin Genel Özellikleri:

Canlı organizmaların bünyesinde demirden sonra en fazla bulunan geçiş elementi olan çinkonun yeryüzünde kilogram başına ortalama 70 mg civarında bulunduğu tahmin edilmektedir (Kabata-Pendias, 2011). Çinko, bitkilerin gelişimi için gerekli iz elementlerden biridir. Fotosentez, solunum ve hücre membran stabilizasyonunda aktif bir rol oynamakla beraber, karbonhidrat ve protein sentezine katıldığı için, üretilen biyokütleyi doğrudan etkilemektedir (Rout ve Das, 2003; Marschner, 2012). Çinko Oksit bir amfoterik oksittir. Suda neredeyse çözünmez, ancak yüksek derecede asit ve alkali ortamlarında çözünme yoluna gider.

Tablo 2.3 Çinko Oksit Bileşiğinin Temel Kimyasal Özellikleri (Uikey ve Vishwakarma, 2016'dan değiştirilmiştir).

Moleküler Ağırlık	81,38 g/mol
Yoğunluk	5,606 g/cm ³
Görünüm	Katı durumda beyaz renkli.
Koku	Kokusuz
Genel Kristal yapısı	Vürtzit (Kübik)
Suda Çözünürlük	% 0,0004 (17,8 ° C)
Erime Noktası	1975 ° C
Yanma Noktası	1436 ° C



Şekil 2.5 ZnO vürtzit (kübik) formu (Uikey ve Vishwakarma, 2016'dan alınmıştır).

Çinko Oksit nanopartikülleri, fiziksel ve kimyasal özellikleri sayesinde katalizör, UV emici, nanocihazlar ve nanosensörlerde; dermatolojik ve antibakteriyel uygulamaları başta olmak üzere çeşitli alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Xiong ve diğ., 2003; Becheri ve diğ., 2008; Li ve diğ., 2006; Chang ve diğ., 2012). Çok geniş bir kullanıma sahip olan bu nanopartiküller yüksek seviyelerde bazı değişken parametreler doğrultusunda toksik etkiler gösterebilirler.

Tablo 2.4 NP-ZnO Etki Seviyesine Çevresel Sürecin Önem Derecesi (Hartmann ve diğ., 2014'den değiştirilmiştir).

	Süreç	NP-ZnO Etki Seviyesine Çevresel Sürecin Önem Derecesi
Fotokimyasal	Fotokimyasal etkileşimler	Çok Yüksek Seviyede
	Redox	Yüksek Seviyede
	Çözünüm	Yüksek Seviyede
Fiziksel	Agregasyon / Aglomerasyon	Yüksek Seviyede
	Sedimentasyon	Yüksek Seviyede
Yüzeyler ve maddeler ile etkileşimleri	Organik maddeye adsorpsiyonu	Yüksek Seviyede
	Diğer yüzeylere adsorpsiyonu / Toprak parçacıklarına tutunma seviyesi	Orta Seviyede
Biyolojik	Biyodegradasyon	Düşük Seviyede
	Biyomodifikasyon	Orta Seviyede

2.3. METALİK NANOPARTİKÜLLERİN BİTKİLER ÜZERİNDE GENEL FİZYOLOJİK ETKİLERİ

2.3.1. Tohum çimlenmesine etkileri :

Çeşitli çalışmalar sonunda yüksek konsantrasyonlarda NP'lerin tohum çimlenmesini negatif bir şekilde etkilediği ortaya konulmuştur (Kumar ve diğ., 2015; Lin ve Xing, 2007; Stampoulis ve diğ., 2009; Burman ve Kumar, 2018). Nanopartiküler ZnO ile ilgili bir çalışmada, yüksek konsantrasyonlarda yapılan uygulamalar sonunda, kabak tohumlarının çimlenme düzeyi ve kök gelişimlerinin olumsuz bir şekilde etkilendiği görülmüştür (Stampoulis ve diğ., 2009). Farklı bir çalışmada ise 2000 mg/L Zn ve ZnO-NP uygulanan mısır ve çavdar bitkilerinde çimlenmenin yüksek oranda inhibisyona uğradığı rapor edilmiştir (Lin ve Xing, 2007).

Araştırmacılara göre, farklı metal oksit nanopartikülleri farklı bitki türleri üzerinde değişken etki gösterebilirler. Kumar ve diğ. (2015), farklı bitki türlerinin tohumlarına nanopartiküler ZnO ve Fe₂O₃ uygulamaları yapmış ve sonuç olarak ZnO nanopartiküllerinin bütün bitki

türlerinde çimlenmeyi azalttığını, ancak buna karşın, Fe₂O₃ nanopartiküllerinin her hangi bir etkide bulunmadığını kaydetmişlerdir. Wu ve diğ. (2012) tarafından yürütülen bir araştırmada ise metal oksit nanopartiküllerinin tohum yüzeyindeki adsorbsiyon düzeylerine göre tohumlarda iyon sızıntısına yol açabildiği rapor edilmiştir.

2.3.2. Bitki gelişimine etkileri :

Çeşitli çalışmalardan elde edilen verilere bakıldığında, farklı konsantrasyonlarda nanopartiküler metallerin, bitkilerde kök ve sürgün gelişimleri üzerinde inhibe edici etkileri olduğu görülmüştür (Stampoulis ve diğ., 2009; Burman ve Kumar, 2018; Lin ve Xing, 2008; Hossain ve diğ., 2016; Lee ve diğ., 2010; Li ve diğ., 2016; Lopez-Moreno ve diğ., 2010). Nanopartiküller metaller farklı ortamlarda değişken davranışlar sergileyebilirler. Örneğin buğday bitkisinin çinko Emilimi 500 ppm ZnO içeren asidik topraklarda daha çok arttığı ancak kök gelişiminin alkali ortamlara nazaran inhibisyona uğradığı görülmüştür (Burman ve Kumar, 2018).

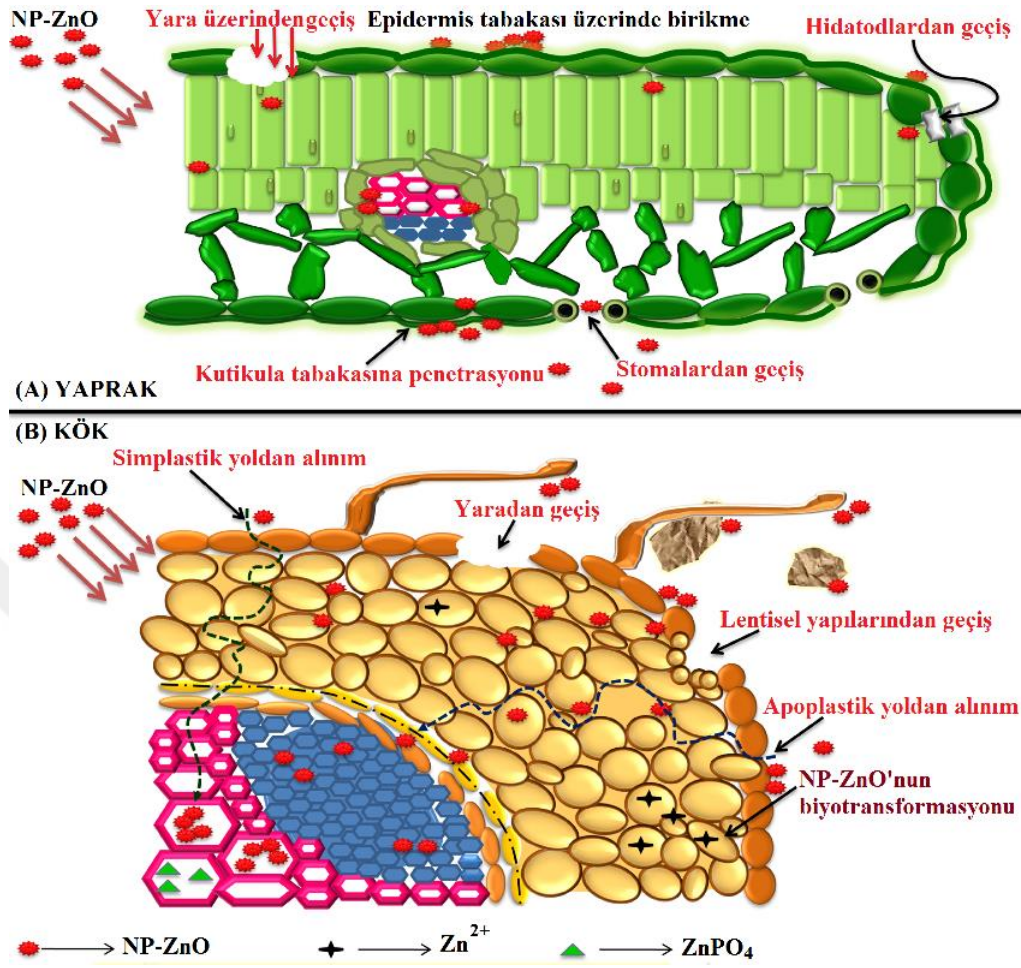
Pokhrel ve Dubey (2013), yürüttükleri bir deneyde, *Zea mays* ve *Brassica oleracea* türlerine nanopartiküler Ag ve ZnO uygulamaları yapmış ve sonuç olarak, bitkilerde hücresel boyut ve ağırlıklarının azalma gösterdiğini bununla birlikte, hücreler arası boşlukların daraldığını rapor etmişlerdir. Farklı bir çalışmada belli konsantrasyonlarda nanopartiküler ve hacimsel ZnO uygulamalarına maruz bırakılan karabuğday bitkilerinin gelişimsel parametreleri karşılaştırılmalı olarak incelenmiş ve sonuç olarak nanopartiküler formun daha fazla zarar verdiği kaydedilmiştir (Lee ve diğ., 2012). Yine NP-ZnO uygulamalarıyla ilgili benzer bir çalışmada, bitkilerde biyokütlenin azaldığı, kök ve sürgün büyümesinin inhibe olduğu gözlemlenmiştir (Zhao ve diğ., 2013a). CuO nanopartiküllerine maruz kalmış buğdayların indol asetik asit seviyelerinde görülen azalmaya bağlı olarak bitki büyümesinde baskılanma yaşandığı rapor edilmiştir (Adams ve diğ., 2017). Yüksek konsantrasyonlarda altın nanopartikülü uygulanan hardal tohumlarında şeker düzeyinin önemli oranda azaldığı gözlemlenmiştir (Arora ve diğ., 2012).

2.3.3. Bitkilerde Nanopartiküllerin Alınması, Birikimi ve Translokasyonu :

Farklı boyut, kompozisyon, ve konsantrasyon düzeyleri ile birlikte, fiziksel ve kimyasal özellikleri doğrultusunda NP'lerin, çeşitli bitki türlerinin büyüme ve gelişimlerinde hem olumlu hem de olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Ma ve diğ., 2010). Nanopartiküler

ağır metaller; parçacık boyutu, karakteristik yüzey özellikleri (yüzey yükü ve eğilimi), birikim gösterme eğilimi ve bağlandığı yüzey yapısının özelliklerine göre toksik etki düzeyi değişkenlik gösterebilir (Dietz ve Herth, 2011; Hartmann ve diğ., 2014). Nanopartiküllerin bitkilerde emilim düzeyi; bitki türüne, bulunduğu büyüme aşamasına ve çevresel faktörlere göre değişkenlik göstermektedir (Schwabe ve diğ., 2015; Dietz ve Herth, 2011). Temelde nanopartiküler metaller bitkinin kök ve toprak üstü organlarıyla etkileşime geçmekle birlikte, bitkinin yüzeyinde bulunan açıklıklardan dokulara doğru taşınır (Koo ve diğ., 2014; Dan ve diğ., 2015; Dietz ve Herth, 2011). Nanopartiküller köklerde hücre zarından ve yapısal boşluklardan kök epidermal hücrelerini aşarak stelelerden vasküler demetlere ve buradan bir dizi yolla yapraklara doğru translokasyonları gerçekleşir; yapraklarda ise stoma gibi epidermisten özelleşmiş yapılar veya kütikül tabaka içerisinde çözünerek dokulara ulaşır ve sonra floem yoluyla kök hücrelerine iletilerek yeniden bitki içi dağıtımları gerçekleşir (Zia-ur-Rehman ve diğ., 2018; Bashri ve diğ., 2018; Singh ve diğ., 2017). NP'lerin emilimi ve dokulardaki iletimlerinde; hücre duvarı gözeneklerinin büyüklüğü, hidrolik iletkenlik ve çeşitli fizikokimyasal farklılıklar etkileyici unsurlardır (Judy ve diğ., 2016). Yapraklardan emilimle ilgili olarak yapılan bir çalışmada farklı NP'lerin epidermis tabakası tarafından absorblandığı ve ardından iç dokulara iletildiği görülmüştür (Taran ve diğ., 2014). NP alımı, birikimi ve translokasyonu; partikül boyutuna, türüne, maruz kalınan konsantrasyon seviyesine, bitki tipi ve çevresel etmenlerle birlikte dokusal ve hücresel matrisin fizikokimyasal yapısına bağlı olduğu görülmektedir (Zia-ur-Rehman ve diğ., 2018; Dietz ve Herth, 2011). Köklerde yapılan başka bir çalışmada ise farklı konsantrasyonlarda NP-TiO₂ uygulamalarının, *Arabidopsis thaliana* türünde nanopartikülerin kökten emildiği ve vakuollerde depolandığı kaydedilmiştir (Kurepa ve diğ., 2010). Buğday üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise, TiO₂ ve ZnO NP'lerinin kök hücre duvarında adsorbsiyonu ile kök dokularına taşındığı gözlemlenmiştir (Du ve diğ., 2011).

ZnO NP'lerinin bitkilerde translokasyon ve birikim süreçleri ile ilgili çalışmalar sınırlı düzeydedir ancak, bu nanopartiküllerin dışardan bitkiye alınırken, boyutları 2-20 nm arası değişen porlara sahip hücre duvarlarından geçebilmeleriyle birlikte plazma membranları boyunca taşınabilecek bir boyuta sahip olmaları toksisite için kritik rol oynar (Sing ve diğ., 2017; Dietz ve Herth, 2011).



Şekil 2.6 ZnO nanopartiküllerinin yaprak (A) ve kök (B) üzerinden emilim yolları (Singh ve diğ., 2017; Dietz ve Herth, 2011), (Singh ve diğ., 2017'den alınmıştır).

Dietz ve Herth'e göre (2011) bitki nanotoksikolojisi;

- i. Boyuta bağlı mekanik etkileşimler,
- ii. Geniş yüzeylerde katalitik etki,
- iii. Affinite temelli etkileşimler

olarak üç ana etmende toplanabilir.

Tablo 2.5 Bitki ve Nanopartikül Etkileşimleri (Dietz ve Herth, 2011'den değiştirilmiştir).

Nanotoksikolojik Etmeler	Hasar Oluşumu	Proses
Boyuta bağlı mekanik etkileşimler.	Yapılarda hasar oluşumu	Mekanik etkiler, partikül kimyasından çok partikül büyüklüğüne bağlı olmakla birlikte, diğer taşıma işlemlerinde kullanılmayan gözeneklerin doldurulmasına ve mekanik tıkanma ile fiziksel toksisite oluşumuna neden olur.
	Tıkama	
Geniş yüzeylerde katalitik etki,	ROS üretimi	Cu ve Fe gibi bazı metaller son derece reaktif olan -OH radikalini oluşturmak için O ₂ ye elektron göndererek, H ₂ O ₂ oluşumuna neden olur ve bu durum hücrelerde ROS üretimini tetikleyerek bitkilerde oksidatif stresi artırır (Oberdörster ve diğ., 2007).
	Redox Dengesizlikleri	NP'lerin bitki metabolizması ve gelişimi üzerindeki toksisitesi; dokularda birikimi, kalıcılığı, etkisi, partiküler boyutlarının büyüklüğüne, konsantrasyonuna ve kimyasal özelliklerine bağlı olmakla birlikte, depolandığı hücre altı alanların kimyasal ortamına bağlıdır. Nanopartiküler metaller, bitkilerde hücre düzeyinde redoks dengesizliklerine ve oksidatif strese neden olur (Dietz ve Herth, 2011; Schutzenhubel ve Polle, 2002; Sharma, ve Dietz, 2009).
Affinite (Çekim Kuveti) temelli etkileşimler	Çözünme (İyonik forma geçiş)	NP'ler katalizörler veya başka durumlar vasıtasıyla çözüldüğünde, normal formdaki metal iyonları olarak işlev görür.
	Lipofilik etkileşimler	Yaprakların, meyvelerin ve epidermal hücrelerin dış yüzeyleri kütikula tabakası ile kaplıdır. Çok küçük ve lipofilik NP'ler, kütikulanın apolar bölgelerinde çözünerek bitki içerisine geçiş yapar.
	Fonksiyonel gruplara bağlanma	Cu, Cd, Hg, Ni ve Zn gibi toksik metaller, hücresel proteinlerin bileşenlerine, örneğin sülfhidril, karboksil veya imidazol gruplarına bağlanarak bu yapıların işlevselliklerine etki ederler. Proteinlerin yan grupları, sisteinler gibi parçacıklar kovalent olarak Au yüzeylerine bağlanırsa daha uç bir etki meydana gelir, çünkü bu bağlanma türü kalıcıdır.
	Kovalent Bağlanma	

2.3.4. Nanopartiküllerin Genotoksitesisi :

Nanopartiküler metallere maruz kalmış bitkilerin gen ekspresyon mekanizmalarında bir takım bozunmalar sonucunda genotoksitesite oluşumunun tetiklendiği görülmüştür (Toduka ve diğ., 2012). NP toksitesisi, indüklediği nokta mutasyonlar ile DNA hasarına neden olur ve ölüm reseptörü genlerinin ekspresyonunu tetikler (Yang ve diğ., 2009). CeO₂ ve ZnO uygulamalarına maruz kalan Soya fasülyesinde yüksek oranda DNA hasarı tespit edilmiştir (López-Moreno ve diğ., 2010). Ghosh ve diğ. (2010) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, 100 nm boyutta TiO₂ nanopartiküllerinin *Nicotiana tabacum* ve *Allium cepa* türleri üzerinde benzer bir şekilde hasar oluşturduğunu kaydetmişlerdir.

2.3.5. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Oluşumu ve Toksik Etkileri :

ROS, oksijenli ortam koşullarında ortaya çıkan ve Hidrojen Peroksit (H₂O₂), Hidroksil iyonları (OH⁻) ve Süperoksit anyonlarını (O₂⁻) içeren oksijen türevlerinin genel adıdır (Yang ve diğ., 2009; Yang ve diğ., 2017). Nanopartiküler maruziyetin boyutu ne olursa olsun bitkilerde sebep olduğu toksitesite, yüksek miktarlarda ROS oluşumunu tetikleyecek bir kapasiteye sahiptir ve ROS oranının yükselmesi başta oksidatif stresin indüklenmesine neden olur (Toduka ve diğ., 2012). Oksidatif stresin meydana gelmesinde, nanopartiküler metallerin yüzeylerindeki yüksek elektronik aktivite nedeniyle ROS üretimini tetikleyen biyomoleküller ile reaksiyonlara girmesinden kaynaklanmaktadır (Pisanic ve diğ., 2009). Bu nedenle ROS oluşumu NP stresinin belirgin özelliklerinden biridir. Örnek olarak NiO NP'lerine maruz kalan domates bitkilerinde ROS düzeyi artmış ve bununla birlikte hücrel toksitesinin indüklendiği kaydedilmiştir. (Faisal ve diğ., 2013). Lei ve diğ. (2007a; 2007b), belli konsantrasyonlarda TiO₂ uyguladıkları ıspanak bitkilerinde benzer bir sonuca ulaşmışlardır. Farklı bir çalışmada ise CuO uygulanan *Hordeum vulgare* bitkilerinde fotosentez aktivitesinin düştüğü gözlemlenmiştir (Shaw ve diğ., 2014).

Biyolojik moleküller ile etkileşime giren reaktif oksijen türleri lipid peroksidasyonunu artırır ve buna bağlı olarak, plazma membran yapısında oluşan hasar sebebiyle iyon sızıntısına neden olur (Halliwell ve Gutteridge, 2015). NP-ZnO uygulanan çavdar bitkilerinde ROS üretiminin yükseldiği ve bununla bağlantılı olarak artan lipid peroksidasyonunun kök yüzeylerinde nekrotik yapılara neden olduğu rapor edilmiştir (Lin ve Xing, 2008). Buğday bitkisine uygulanan CuO ve ZnO NP'lerinin lipid peroksidasyon düzeyini yükselttikleri ve bununla bağlantılı bir şekilde klorofil düzeyinde azalmaya neden oldukları öne sürülmüştür

(Dimkpa ve diğ., 2012). *Pistia stratiotes* L. ile ilgili yapılan bir başka çalışmada, yüksek konsantrasyonlarda ROS oluşumunu tetikleyen NP-CuO uygulamalarının prolin, serin, tirozin ve arginin gibi bazı amino asitleri inhibe edici bir etkide buldukları kaydedilmiştir (Olkhovych ve diğ., 2016b). Yine başka bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda NP-ZnO uygulamalarına maruz kalmış *Arabidopsis* bitkisinin gelişimi, artan ROS ile orantılı olarak büyük ölçüde inhibisyona uğradığı; klorofil a, b, ve karotenoid miktarlarında azalma olduğu gözlenmiştir (Lee ve diğ., 2010). Yüksek seviyelerde NP'lere maruz kalan bitkilerin bünyelerinde görülen ROS düzeylerindeki artış fitotoksik oluşumlar ile doğrudan bağlantılıdır. NP'lerin türü, parçacık boyutu, ortam koşulları ve uygulanma süresi; bitkilerde antioksidan enzimlerin üretimini tetiklenmesi veya inhibisyonu gibi çeşitli stres faktörlerinde bir takım değişkenliklere sebep olabilmektedir (Yang ve diğ., 2017; Dietz ve Herth, 2011; Zia-ur-Rehman ve diğ., 2018; Kumar ve diğ., 2018).

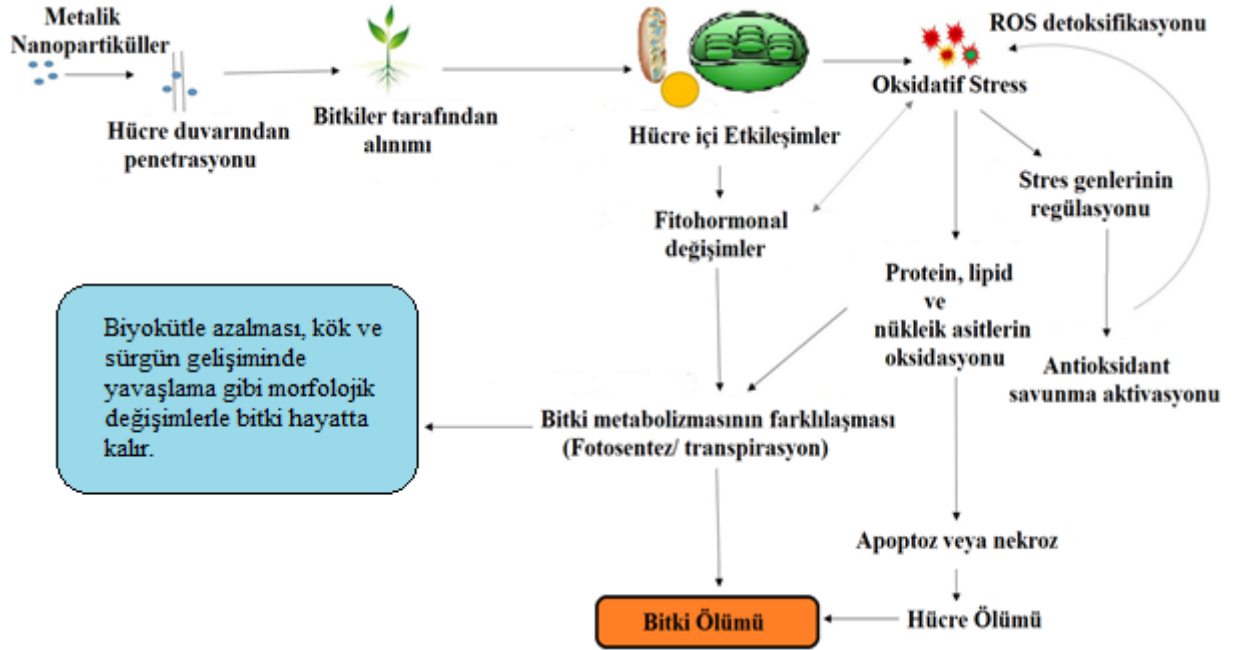
2.3.6. Antioksidan Savunma ve Detoksifikasyon Süreci:

Oksidatif stres, nükleik asit, lipitler ve yapısal proteinlerin yapısını bozarak hücrel ölümü veya antioksidan savunma mekanizmalarını uyarır (Yang ve diğ., 2017; Zia-ur-Rehman ve diğ., 2018). ROS radikalleri, bitkilerde sinyal molekülleri olarak hareket eder ve oksidatif stresi azaltmak adına antioksidan savunma mekanizmalarının indüklenmesi sonucunda üretilen antioksidantlar (SOD ve CAT gibi enzimler veya fenolikler, tiyoller, ve glutatyon gibi moleküller) vasıtasıyla H₂O₂ gibi ROS moleküllerinin inhibe edilmesini sağlarlar (Zia-ur-Rehman ve diğ., 2018). Özellikle üretilen fenolik bileşikler, oksidatif strese karşı bitkiyi korumada önemli bir işlevi olan sekonder metabolitlerdir (Shalaby ve Horwitz, 2014; Bashri ve diğ., 2018). Fenoliklerin yanı sıra antioksidan enzimler, karotenoidler, vitaminler, flavonoidler gibi bileşikler stres koşulları altında toksisiteye neden olan maddeleri şelatlayarak etkilerini minimuma indirgeyebilirler (Arif ve diğ., 2018).

Stres altında hücre duvarını güçlendirme ve turgor basıncını düzenleme gibi bitki için birçok hayati işleve sahip prolin amino asidinin miktarı toksisite seviyesi üzerinde önemli bir rol oynamaktadır (Hayat ve diğ., 2012). Örnek olarak, NP-CuO stresine maruz kalan soya fasülyelerinde, artan ROS seviyesine karşılık prolin ve glutatyon biyosentezlerinin indüklendiği rapor edilmiştir (Nair ve diğ., 2014). Arpa bitkilerinde NP-CeO₂ uygulamalarının neden olduğu strese karşılık benzer sonuçlar elde edilmiştir (Pošćić ve diğ., 2016).

Tablo 2.6 Bazı Metal Oksitlerin bitkiler üzerindeki fitotoksik etkileri.

NP	Stres Faktörleri	Referanslar
Fe ₃ O ₄	Oksidatif stres oluşumu ve MDA artışı	Wang ve diğ., (2010)
TiO ₂	Serbest radikal oluşumu	Lei ve diğ., (2007a ve b). Fenoglio ve diğ., (2009)
NiO	-OH radikal üretimi	Faisal ve diğ., (2013)
ZnO	-OH radikal üretimi, DNA Hasarı	Mclaren ve diğ., (2009) Landa ve diğ., (2012)
CuO	-OH radikal üretimi DNA hasarı, Fotosentez aktivitesinin inhibisyonu.	Fubini ve diğ., (2007) Atha ve diğ., (2012) Shaw ve diğ., (2014)
CeO ₂	Oksidatif Stres	Heckert ve diğ., (2008)
CoO	Kök gelişiminin inhibisyonu, kromozomal hasar	Ghodake ve diğ., (2011)

**Şekil 2.7** Nanopartiküllerin bitkiler üzerinde genel fitotoksik etkileri (Rastogi ve diğ., 2017'den değiştirilmiştir).

2.3.7. ZnO Nanopartiküllerinin Fitotoksik Etkileri :

ZnO nanopartiküllerinin farklı çalışmalarda genellikle kök büyümesi, tohum çimlenmesi gibi çeşitli gelişim aşamalarında inhibe edici bir etkisi olduğu rapor edilmiştir (Lin ve Xing, 2007; Lee ve diğ., 2010; Ruffini-Castiglione ve Cremonini 2009). Örnek olarak, hidroponik ortamda yetiştirilen *Lolium perenne* (İngiliz çimi) türünde NP-ZnO ile karşılaştırma amacıyla besi çözeltisinde çözünebilir iyonik Zn^{+2} uygulanmış ve sonuç olarak; nanopartiküller formun biyokütlenin önemli ölçüde azalmasına, kök epidermal ve kortikal hücrelerde yüksek seviyede nekrotik yapıların oluşmasına neden olduğu kaydedilmiştir (Lin ve Xing, 2008). Bu durumdan farklı olarak *Pseudokirchneriella subcapitata* adlı tatlı su algi üzerinde yapılan araştırmada ise, NP-ZnO, H-ZnO ve suda çözünebilir $ZnCl_2$ uygulamaları yapılmış ve sonuç olarak toksisitenin çözülmüş çinko iyonu ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (Franklin ve diğ., 2007). Lee ve diğ. (2010) tarafından yürütülen bir deneyde, *Arabidopsis thaliana* bitkisinin gelişimi sırasında bazı metal oksit nanopartiküllerin fitotoksik etkisi incelenmiş ve deney sonunda en yüksek düzeyde fitotoksositeye ZnO nanopartiküllerinin neden olduğu görülmüştür. Özellikle çimlenme aşamasında partikül boyutunun küçüldükçe toksisite düzeyinin önemli ölçüde artış gösterdiği saptanmıştır. ZnO nanopartiküllerinin çim (*L. perenne*) üzerindeki etkilerine dair yapılan bir araştırmada, nanopartiküllerinin köklerden sürgünlere doğru yer değiştirmede kaydetmişlerdir (Lin ve Xing, 2008). Benzer olarak çavdar üzerinde yapılan bir deneyde, ZnO nanopartiküllerinin köklerde endodermis ve stelelerde hücre içi ve hücreler arası boşluklarda birikim gösterdiği ve yukarı gövdeye doğru translokasyonlarının gerçekleşmediği ortaya konmuştur (Lin ve Xing, 2008). Bu bulgular haricinde ZnO nanopartiküllerinin kökten emilimi ve translokasyonu ile doğal konsantrasyon senaryolarıyla bağlantılı olarak daha ne çeşit etkileşimlere sahip olduğu henüz belirsizliğini korumaktadır (Dietz ve Herth, 2011).

2.4. FİTOREMEDİASYON UYGULAMALARI

Metal kirliliği, birçok ülkede ciddi bir sorun teşkil etmekte birlikte çoğunlukla endüstriyel, tarımsal ve kentsel bölgelerde antropojenik faaliyetler dolayısıyla kirletilmiş toprakların rehabilitasyonu gün geçtikçe büyük bir önem kazanmaktadır (Mahar ve diğ., 2016). Ağır metaller (örnek: Cd, Pb, Cu, Zn ve Hg.) , hafif metaller (örnek: Mg, Al ve Ti) ve yarı metallerin (örnek: As ve Se) doğada birikim boyutlarına göre ciddi bir toksisite potansiyeline sahip olmalarından dolayı bu durum, çevresel sağlık açısından büyük bir önem arz etmektedir

(Masarovičová ve diğ., 2012; Verbruggen ve diğ., 2009). Kirletilmiş ekolojik sistemlerin rehabilitasyonunda, fiziksel, kimyasal, termal ve biyolojik tabanlı çeşitli remediasyon yöntemleri mevcuttur ancak çoğu yöntem; yüksek maliyet, düşük verimlilik ve sekonder kirlilik oluşumu gibi bir çok dezavantaja sahiptir.

Tablo 2.7 Bazı remediasyon yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları (Hamutoğlu ve diğ., 2012'den değiştirilmiştir).

Metod	Avantaj	Dezavantaj
Kimyasal Çöktürme ve Filtrasyon	Basit ve Ucuz	Atık çamur oluşumu
Elektrokimyasal Yöntemler	Metal eldesi	Yüksek konsantrasyonlarda etkili
Ters Osmos	Geri dönüşüm için saf atık eldesi	Membranların pahalı olması
Buharlaştırma	Saf atık eldesi	Fazla enerji harcanması

Etimolojik olarak Yunanca bitki anlamına gelen “phyto” ile temizlemek, restore etmek veya onarmak anlamları taşıyan “remediation” kelimelerinin kombinasyonundan oluşan fitoremediasyon temelde, toksisiteye neden olan maddelerin uzaklaştırılması veya etkisizleştirilmesine yönelik olarak bitkilerden yararlanım esasına dayanmaktadır. (Singh ve Prasad 2011; Park ve diğ., 2011; Bayçu ve diğ., 2014; Zhai, 2013; Prasad ve Fertias 2003). Bu nedenle in situ ortamlarda yüksek bir iyileştirme potansiyeli barındırmakla birlikte, düşük maliyetli bir remediasyon uygulamasıdır (Chaney ve diğ., 1997).

Fitoremediasyon yöntemlerinin ekonomik yönden amacı, Mahar ve diğ. (2016) tarafından üç temel maddede özetlenmiştir:

- 1) Maddi değere sahip metallerin bitki bazlı ekstraksiyonu (örn: Ag, Au, Ni)
- 2) Risk minimizasyonu (fitostabilizasyon)
- 3) Ekonomik açıdan istikrarlı bir şekilde verimliliği artırıcı ve sürdürülebilir toprak yönetimi

Tablo 2.8 Fitoremediasyon Avantaj ve Dezavantajları (Macek ve diğ., 2000'den değiştirilmiştir).

Avantajları	Dezavantajları
Atık alanlarına ihtiyaç yoktur	Diğer teknolojilere nazaran uzun süreli bir uygulamadır
Diğer remediasyon yöntemlerine kıyasla maliyeti oldukça düşük	Toplanan kirleticiler, özellikle sonbahar sırasında dökülen yapraklar halinde tekrar çevreye bırakılabilir
Çevre dostu	Bitki örtüsünün oluşumunu negatif yönde etkileyebilir
Çeşitli tehlikeli maddelerin temizlenmesi ve uzaklaştırılmasında çok yönlü bir potansiyele sahiptir	Doğada bulunan bazı kirleticilerin çözünürlüğünü artırabilir

Metal ile kirletilmiş alanlarda bitki örtüsü ilk olarak 1950'li yıllarda kapsamlı bir şekilde çalışılmaya başlanmış, metal-hipertolerant bitkilerin benzersizliği ekologların dikkatini çekmiştir (Antonovics ve diğ., 1971).

Düşük dirence sahip genel bitki türlerinin dışında ağır metal kirliliğine karşı tolerans mekanizmaları geliştiren bitki türleri; metal dışlayıcılar, biyoindikatörler ve hiperakümülatörler olmak üzere üç ana grupta incelenmiştir (Baker ve Walker, 1990).

- I. Metal dışlayıcılar (Excluders):** Tolerasyon mekanizmaları oldukça yüksek olan bu bitki türleri, toksik metalleri köklerden toprak üstü organlara iletimlerini engellemekle birlikte toksik metallerin neden olduğu uzun süreli oksidatif strese karşı dayanabilme potansiyelleri düşüktür.
- II. Biyoindikatörler:** Dışlayıcılara nazaran metal toksisitesine karşı toleransları daha yüksektir. Köklerde ve toprak üstü organlarında strese girmeksizin ağır metalleri biriktirebilme yetenekleri vardır. Bulunduğu habitatlarda ağır metal kirliliklerine oldukça duyarlı oldukları için, biyomonitor çalışmalarında kullanılmaktadır.
- III. Hiperakümülatör Bitkiler:** Strese girmeksizin, köklerde ve toprak üstü organlarında yüksek oranlarda ağır metal toplayabilme kapasitelerine sahiptirler.

Hiperakümülyasyon kavramı ilk olarak Brooks ve diğ. (1977) tarafından ortaya konulmuştur. Diğler bitkilere kıyasla sürgünlerinde daha yüksek seviyede metal biriktirebilen bitki türleri hiperakümülyatör olarak adlandırılmıştır (Brooks ve diğ., 1977). Bünyelerinde normal bitkilere kıyasla 10 ila 1000 kat daha fazla toksik metal biriktirebilen (Van der Ent A. ve diğ., 2013), hiperakümülyatör bitkilerin keşfi fitoremediasyon teknolojisinin büyük bir hızla ilerlemesini sağlamıştır (Baker ve Brooks, 1989).

Tablo 2.9 Bitki içeriklerinde çinko (Zn) standartları (Massa ve diğ., 2010'den alınmıştır).

Toksik Olmayan Düzey	Toksik Düzey	Hiperakümülyasyon Düzeyi
27-150 (mg/kg)	100-400 (mg/kg)	10000 (mg/kg)

Hiperakümülyasyon, yüksek düzeyde toksisiteye neden olabilecek metal konsantrasyonları içeren verimsiz habitatlarda yetişen bitki topluluklarının varoluş sürecine evrimsel bir uyum gibi gözükse dahi, güçlü birikim faktörünün bitkilere ne gibi avantajlar sağladığı belirsizliğini korumaktadır (Mahar ve diğ., 2016).

Hayatta kalma stratejisi olarak, hiperakümülyasyon temelde (Serrano ve diğ., 2017):

- i. Gelişmiş metal alım aktivasyonu,
- ii. Toksik metallerin içsel olarak iyonik mobilizasyonunu kısıtlama,
- iii. Toksik metallerin zararsız formlara dönüşümü ve
- iv. Toksik metallerin depolanması veya atılımına dayanır.

Metallerin hiperakümülyasyonu tüm angiospermelerin yaklaşık %0,2'sinde meydana gelmekle birlikte, hiperakümülyatör bitkiler en fazla Brassicaceae ailesinde yer almaktadır (Krämer, 2010).

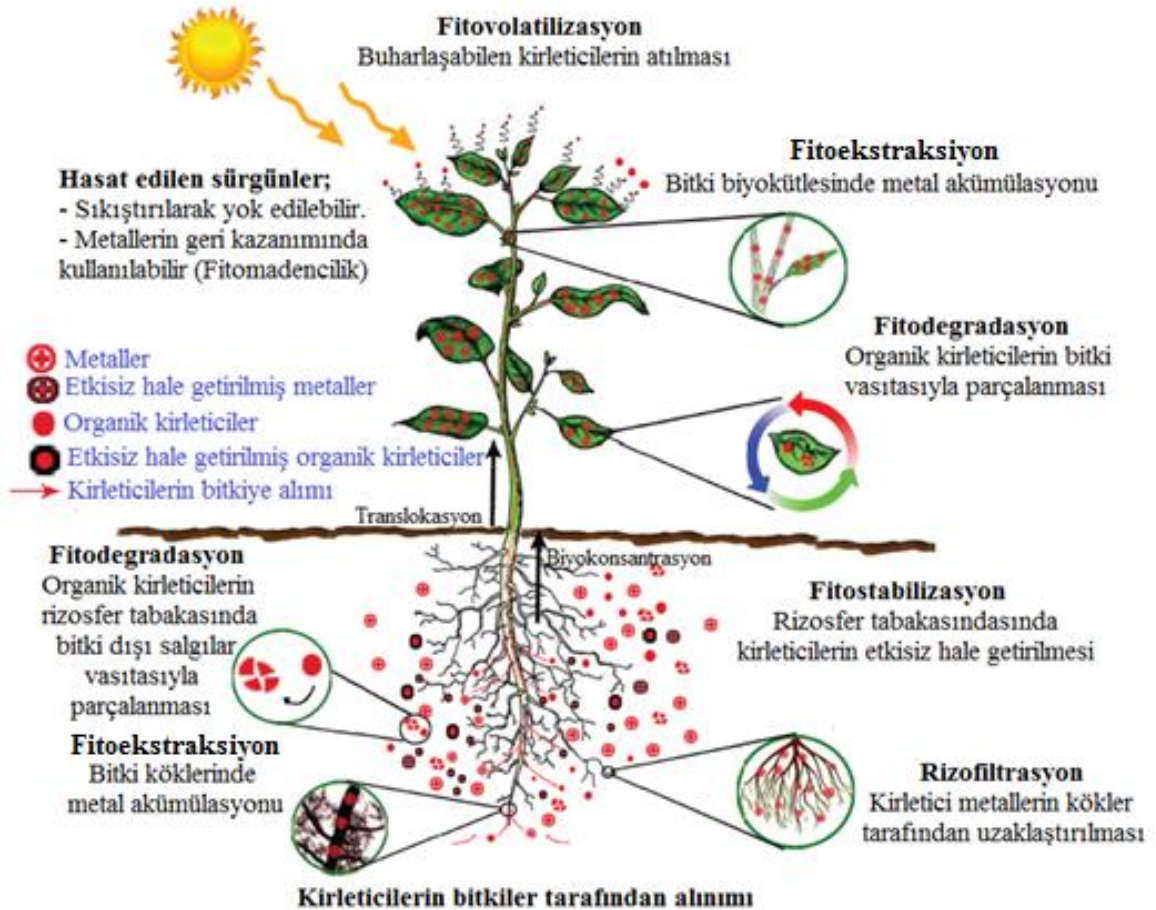
Alternatif olarak akümülyasyon aktivitesinin muhtemel avantajları; kuraklığa dayanıklılık, ağır metallere karşı tolerans, daha hassas bitkilerle rekabet yeteneği, patojenlere ve otçul hayvanlara karşı korunmak gibi durumlar olabilir (Mahar ve diğ., 2016).

Hiperakümülyatör bitkiler aracılığı ile birçok toksik metalin biyo-yararlanımı bir dereceye kadar mümkün olmakla birlikte; kullanılan bitki, çevresel etmenler ve iklim faktörleri gibi elverişli parametreler doğrultusunda fitoremediasyon uygulamaları yapılabilir.

2.4.1. Temel Fitoremediasyon yöntemleri

Modern fitoremediasyon teknolojileri bitkilerin kirleticileri tolere etme stratejilerine göre sahip oldukları farklı mekanizmalara dayanmaktadır. Bunlar sırasıyla (Kumar ve Chandra, 2017; Maiti ve Kumar, 2016; Gomes ve diğ., 2016; Prasad 2003):

- i. Fitoekstraksiyon
- ii. Fitostabilizasyon
- iii. Fitovolatilizasyon
- iv. Fitodegradasyon
- v. Fitofiltrasyon
 - Rizofiltrasyon (bitki köklerinin kullanımı),
 - Blastofiltrasyon (fidelerin kullanımı)



Şekil 2.8 Fitoremediasyon stratejilerinin şematik gösterimi (Kumar ve Chandra., 2017'den değiştirilmiştir).

2.4.1.1. Fitoekstraksiyon

En yaygın kullanılan fitoremediasyon yöntemi olmakla birlikte, köklerinde ve toprak üstü organlarında yüksek düzeyde metal biriktirebilme kapasitesine sahip hiperakümülatör bitkilerin kullanımı bu yöntem için idealdir (Prasad, 2003). Temelinde bitkinin hasat edilebilir bölgelerinden ağır metallerin temizlenmesi esasına dayanmaktadır (Nwoko, 2010).

Di Lonardo ve diğ. (2011) tarafından yapılan bir araştırmada fitoekstraksiyon yönteminin verimlilik derecesinin 5 ana etmene bağlı olduğu görülmüştür. Bunlar sırasıyla:

- i. Toprağın tipi
- ii. Çevresel koşullar
- iii. Kullanılacak bitki veya bitkilerin karakteristik özellikleri (metal biriktirme ve vakuol ya da hücreler arası boşluklu bölgelere translokasyon kabiliyeti gibi)
- iv. Büyüme hızı
- v. Yoğun ve geniş kök sistemi

Bu teknik, kirlenmiş toprak ve su ekosistemlerinde toksisite gösteren metal ve metaloidlerin uzaklaştırılması için kullanılan en verimli fitoremediasyon uygulamasıdır (Gomes ve diğ, 2016). Sulak alanların temizlenmesiyle ilgili *Pistia stratiotes* ve *Alternanthera philoxeroides* türleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, arsenik, kadmiyum ile kobalt metallerinin yüksek oranda temizlendiği görülmüş ve bu sulak alan makrofitlerinin adeta “Doğanın böbreği” olarak işlev gördüğü ifade edilmiştir (Halder ve Ghosh, 2014). Ancak fitoekstraksiyon uygulaması genellikle uzun yıllar sürmekte ve arazilerde kullanımı hala sınırlı düzeydedir (Kubátová ve diğ., 2018). Kubátová ve diğ. (2018) tarafından yürütülen bir araştırmada, hızlı büyüme özelliklerine sahip *Populus* ve *Salix* hibrit türlerinin fitoekstraksiyon potansiyelleri incelenmiş ve sonuç olarak, çinko ve kadmiyum gibi bir takım toksik metallerin temizlenmesi ile ilgili olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

2.4.1.1.1. Fitomadencilik

fitoekstraksiyon bir altdalı olan fitomadencilik değerli metallerin bitkilerle toplanması ve ekstrasyon işlemleri ile elde edilmesine dayanan düşük karlı madencilik olarak tanımlanmaktadır. Temel olarak, ekonomik açıdan değerli metallerin elde edilmesi hedeflenmekle birlikte, agroteknik yöntemler ile genetik olarak modifiye edilmiş akümülatör bitkilerin kullanılması ve yabancı bitkilerin ıslahı ile maden elde edilme optimizasyonuna dayanmaktadır (Anderson ve diğ., 1999).

2.4.1.2. Fitostabilizasyon

Fitostabilizasyon toprakta kirliliğe neden olan metallerin, mobilizasyon ve biyoyararlanım seviyelerini azaltarak toksisite düzeyini minimuma indirme esasına dayanır. Bu yöntem için kullanılacak bitkilerin geniş kök sistemine, metal kirleticilere karşı yüksek tolerans düzeyine ve kontaminantları rizosferde etkisiz hale getirme kabiliyetine sahip olmaları gerekir (Gomes ve diğ., 2016). Fitostabilizasyon yöntemi için besin zincirinde yer alan canlıların zararlı metallere maruz kalmasını engellemek adına toksik metallerin toprak üstü organlara aktarımını durduran ve rizosfer tabakasında hareketsiz forma dönüştürme kabiliyetine sahip bitki türlerinin kullanımı idealdir (Kubátová ve diğ., 2018). Toksikite düzeyinin indirgenmesine dayanan bu yöntem kirliliğe neden olan metallerin ortamda ya da köklerde bulunması bakımından kalıcı bir çözüm olarak değerlendirilmez ancak sürgünlere doğru düşük translokasyon seviyesiyle kirleticilerin köklerde sabitlenerek sürgünlere iletilmesinin büyük bir oranda engellenmesi çevre sağlığının korunmasında etkili stratejilerden biri olarak görülür (Gomes ve diğ., 2016).

2.4.1.3. Fitovolatilizasyon

Fitovolatilizasyon yöntemi bazı toksik metallerin veya organik kirleticilerin, bitki köklerinden sürgünlere doğru translokasyonu ve uçucu bir yapıya çevrilip atmosfere salınması temeline dayanmaktadır. Yalnızca yüksek düzeyde uçuculuğa sahip kirleticiler için kullanılabilen özel bir fitoremediasyon yöntemidir (Prasad, 2003). Toksikiteye neden olan kirleticilerin topraktan alıp atmosfere iletilmesi nedeniyle çevrede sınırlı bir rehabilitasyon imkanı sağlamaktadır (Gomes ve diğ., 2016). Örnek olarak, civa ve selenyum elementlerinin bazı kimyasal özellikleri dolayısıyla arındırma işlemlerinde fitovolatilizasyon yöntemi ideal olarak görülür (Prasad, 2003).

2.4.1.4. Fitodegradasyon

Bu yöntem herbisitler gibi organik bazlı zararlı kirleticilerin, bitki ya da toprak mikroorganizmaları tarafından parçalanarak nötralize edilmesine dayanır (Razzaq, 2017; Kumar ve Chandra, 2017).

2.4.1.5. Fitofiltrasyon

Fitofiltrasyon yöntemi, kök (rizofiltrasyon) veya fide (blastofiltrasyon) gibi bitkilerin belli kısımlarında kirleticilerin absorbe edilip uzaklaştırılması esasına dayanmaktadır. Genelde bu tür uygulamalar, yeraltı suları, yüzey veya artık sularında mobilizasyonu kısıtlanmış kirleticilerin, uzaklaştırılması için kullanılmaktadır (Gomes ve diğ., 2016).

2.4.1.5.1. Rizofiltrasyon

Temelde kirletilmiş su kaynaklarının arıtımı olarak rizofiltrasyon, toksik metallerin bitki kökleri tarafından alınımı ve biriktirilmesiyle ortamdaki uzaklaştırılmasına dayanan bir uygulamadır. Bazı bitkiler, ağır metalleri olağandışı boyutlarda biriktirebilme kabiliyetlerine sahiptirler (Salt ve diğ. 1995). Özellikle, Cr ve U elementlerinin fitoremediasyonu için uygun bir yöntemdir (Prasad, 2003).

2.4.1.5.2. Blastofiltrasyon

Blastofiltrasyon uygulamasında, çimlenme sonrasında yüzey-hacim oranında meydana gelen ani artışlar vasıtasıyla fide halindeki bitkilerin yüksek ölçüde metal absorbe edebilme kapasitesinden yararlanılır (Krishna ve diğ., 2012; Gomes ve diğ., 2016).

İçme suyunun kalitesi üzerinde yapılan bir araştırmada doğal bir absorben işlevi olan *Moringa oleifera* tohumlarında toksik metallerin akümülyasyon düzeyleri incelenmiş ve sonuç olarak; kontaminantların %95'e varan seviyelerde ortamdaki uzaklaştırıldığı görülmüştür (Ravikumar ve Sheeja, 2013). Başka bir deneyde ise Papaya (*Carica papaya*) tohumlarının farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çinko çözeltilerine maruz bırakılarak akümülyasyon dereceleri incelenmiş ve sonuç olarak; Zn içeriğinin %97'ye varan bir oran ile temizlenebildiği rapor edilmiştir (Ong ve diğ., 2012).

2.5. NANOPARTİKÜL METAL OKSİTLERİN FİTOREMEDİASYONU

Nanoparçacık sentezi ve uygulamalarının daha iyi anlaşılması açısından nanopartiküllerin karakteristik özellikleri ile çevre ve canlılarla ilişkilerinin anlaşılabilir olması günümüz dünyasında büyük bir ihtiyaçtır (Mahmood ve diğ., 2012). Nanopartiküller çeşitli dökme malzemelerden üretilebilmekle birlikte; kimyasal ve fiziksel özellikleri, partiküllerin boyutları ve morfolojik yapılarına bağlı olarak kendi içlerinde bir takım farklılıklar gösterebilmektedir.

Ruffini-Castiglione ve Cremonini (2009), nanopartiküllerin yayılım kaynaklarını 3 grupta toplamıştır:

- i. Doğal Kaynaklar (volkanik aktiviteler, Ay tozu, doğal afetler ve mineral kompozitler)
- ii. Tesadüfi Durumlar (antropojenik kökenli olaylar, kömür kullanımı, egzoz gazı)
- iii. Endüstriyel Aktivite (elektrik, elektronik, ilaç ve kozmetik sanayisinde kullanımı)

Ağır metallerin hacimsel haline kıyasla nano boyuttaki yapısı değişkenlik gösterdiği için biyoabsorpsiyon ve fitoremediasyon istekleri de paralel olarak değişebilir. Bu nedenle normalde ağır metal toleransına sahip olan bitkiler, nanopartiküler metal oksitlere karşı farklı tepki mekanizmaları geliştirebilirler (Shi ve diğ., 2013).

Metalik nanopartiküllerin yüzey/ hacim oranlarının, hacimsel (Bulk) formlarına kıyasla daha yüksek düzeyde olması reaktivitelerini önemli bir derecede arttırmaktadır (Iravani, 2011). Örnek olarak, tütün fideleri (*Nicotiana xanthi*) farklı boyutlarda altın nanopartiküllerine (3,5 ve 18 nm) maruz bırakılmış ve sonuç olarak; kök hücrelerinin sitoplazmalarında 3,5 nm'lik Au nanopartiküllerinin görüldüğü ve 18 nm'lik Au nanopartiküllerinin ise kök yüzeyleri üzerinde birikim gösterdiği rapor edilmiştir (Sabo-Attwood ve diğ., 2011). Nanopartiküllerin akümülyasyonu, temelde bitki türleri ile aralarındaki ilişkiyle bağlantılıdır (Andreotti ve diğ., 2015). Olkhovych ve diğ. (2016a) tarafından yürütülen bir deneyde, akümülyasyon potansiyelleri araştırılan 7 farklı sucul bitki türü üzerinde (*Elodea canadensis*, *Najas guadelupensis*, *Vallisneria spiralis*, *Riccia fluitans*, *Limnobium laevigatum*, *Pistia stratiotes*, ve *Salvinia natans*) mangan, bakır, çinko ve gümüş nanopartikülleriyle hazırlanmış kolloidal çözeltilerin uygulamaları yapılmış ve sonuç olarak *P. stratiotes* ve *S. natans* türlerinin fitoremediasyon potansiyellerinin oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. Özellikle Cu nanopartiküllerinin %69, Zn nanopartiküllerinin ise %77'ye varan oranlarda bitkiler tarafından emilime uğradıkları kaydedilmiştir. Cu nanopartiküllerinin fitoremediasyon potansiyelleri üzerine yapılan bir çalışmada, tuzlu bataklık habitatlarında yetişen, *Halimione portulacoides* ve *Phragmites australis* bitkilerine, 8 gün boyunca ayrı ayrı iyonik Cu^{+2} ve NP-Cu katkılı çözeltiler uygulanmış ve bunun sonucunda, iyonik formda uygulamalara kıyasla nanopartiküler formun akümülyasyon oranınının 4 ila 10 kat daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (Andreotti ve diğ., 2015). Buna karşın *Elsholtzia splendens* türü üzerinde yapılan başka bir çalışmada, bitkilerde ölçülen NP-CuO düzeyinin, H-CuO seviyelerine kıyasla daha yüksek bulunduğu tespit edilmiştir (Shi ve diğ., 2013). Başka bir çalışmada,

doku kültürü ortamında yetiştirilen *Prosopis farcta* kalluslarının farklı konsantrasyonlarda (1, 10, 50, 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$) ZnO nanopartiküllerine maruz bırakılması sonucunda yüksek bir akümülyasyon kapasitesine sahip olduğu ve kirletilmiş bölgelerde fitoremediasyon uygulamalarında kullanılabileceği öne sürülmüştür (Rana ve Al-Salih, 2014). Makrofit bir tür olan *Pistia stratiotes* bitkisine farklı konsantrasyonlarda gümüş nanopartikülleri uygulanmış ve sonuç olarak, bitkinin 0,02 mg/L^{-1} altı konsantrasyonlarda yaşayabildiği ve kirletici maddenin bitki bünyesinde toplanabildiği ortaya konmuştur (Hanks ve diğ., 2015).

Nanopartiküler metallerin fitoremediasyon ya da nanoremediasyon potansiyelleri hakkında yapılan araştırmalar henüz emekleme aşamasında olmakla birlikte bu konu ile ilgili literatür çalışmaları oldukça kısıtlı düzeydedir (Gomes ve diğ., 2016).

2.5.1. Nanopartiküler Ağır Metallerin Yeşil Teknoloji ile Üretimi

Su ve toprak ekosistemlerinden kontaminant maddelerin arıtımı ve geri elde edilmesinde tahribatsız bir yöntem olan fitoremediasyon için kullanılan bitkilerin ekstraktlarından, yeşil teknoloji yoluyla ağır metallerin nano partikül düzeyde geri kazanımları sağlanabilir (Al-Akeel ve diğ., 2010). Bu önermeyi destekleyici bir çalışmada, sucul bir tür olan *Eichhronia crassipes* bitkilerinde uygun miktarda birikim gösteren Pb, Fe, Ni ve Co gibi ağır metallerin nanoboyutlarda geri kazanılabildiği rapor edilmiştir (Mahmood ve diğ., 2012). Yine *Eichhronia crassipes* ile yapılmış başka bir çalışmada ise bitki ekstraktlarından elde edilen fenoliklerin içeriğinde bulunan gümüş nitratın indirgenmesiyle oluşmuş gümüş nanopartiküllerinin stabilizasyonu sağlanmıştır (Kiruba Daniel ve diğ., 2012).

Brassica juncea ve *Medicago sativa* türlerinde biriken gümüşün formu ve organlarda bulunma şeklinin araştırıldığı bir deneyde gümüşün hücre içinde 50 nm'lik nanopartiküler formda dağılım gösterdiği ve bu nedenle nanopartiküler üretimde kullanılabileceği rapor edilmiştir (Harris ve Bali, 2008). Bir başka araştırmada çinko ile kirletilmiş topraklarda fitoremediasyon için kullanılmış *Physalis alkekengi* bitkilerinin özütünden, ortalama büyüklüğü yaklaşık 72,5 nm boyutlarında ZnO üretimi gerçekleştirilebilmiştir (Qu ve diğ., 2011).

Ekstraksiyon işlemlerinden sonra geriye kalan bitki kalıntıları, azot ve fosfat zenginliği bakımından tarımsal faaliyetlerde bio-gübre olarak kullanılabilir (Mahmood ve diğ., 2012).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1.BİTKİ MATERYALLERİ VE ÖZELLİKLERİ

Ağır metalle kirlenmiş bölgeler dahil olmak üzere nötr ve bazik topraklarda geniş yayılım göstermeleri nedeniyle (Çiftçi, 2012; Clapham ve diğ 1989; Laiine, 2005; Stoutjesdijk, 1992; Aart van der ve Vulto, 1992; Dimitrova, ve Yurukova, 2005; Tinkov ve diğ. 2016; Djingova ve Kuleff, 1999; Szarek-Lukaszewska ve Niklinska 2002; Gucwa-Przepióra ve diğ., 2015; Kurteva, 2009) hacimsel ve nanopartiküler ZnO uygulamaları için *Plantago lanceolata* L. ve *Plantago major* L. türleri model bitki materyali olarak seçilmiştir.

Alem: Plantae (Bitkiler)

Bölüm: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)

Sınıf: Magnoliopsida (İki çenekliler)

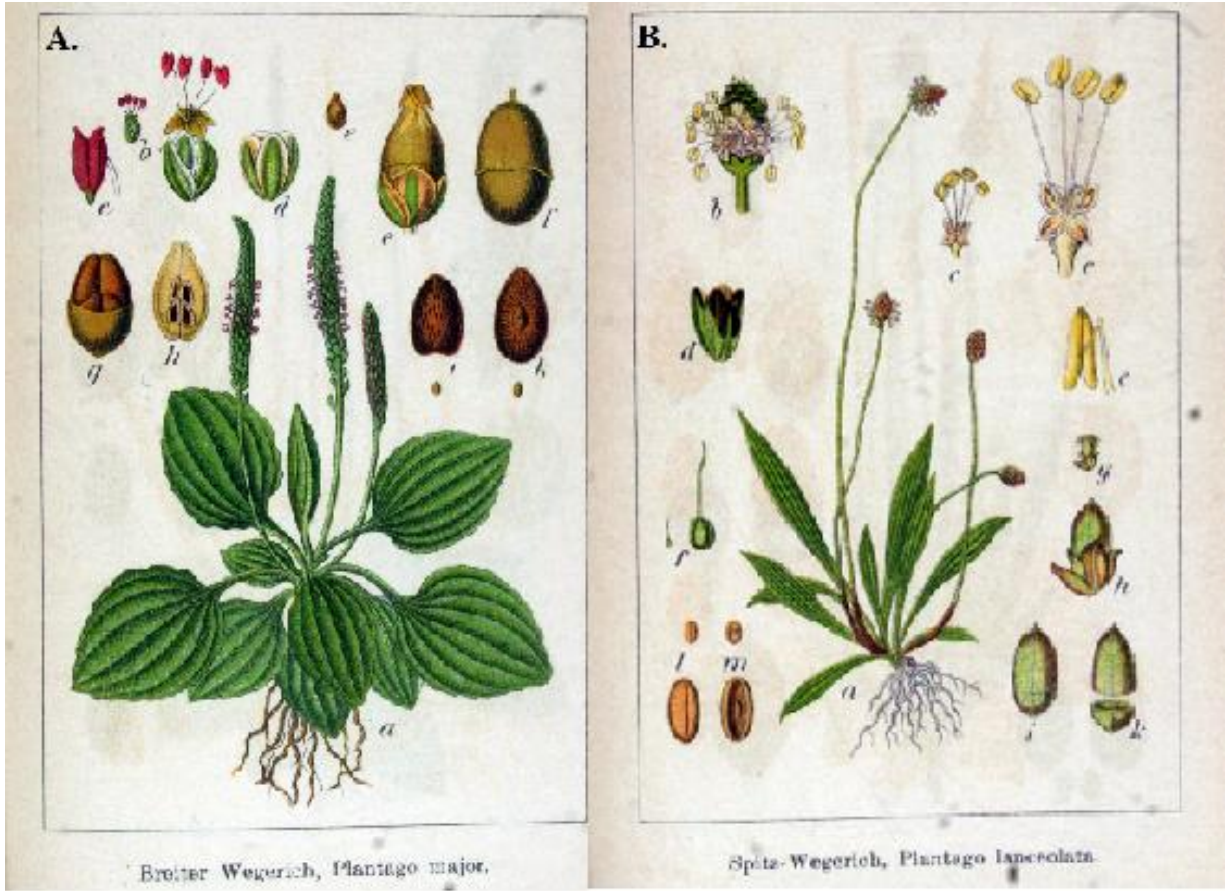
Takım: Lamiales

Familya: Plantaginaceae (Sinirli otgiller)

Cins: *Plantago*

Tür: *P. major* L.

Tür: *P. lanceolata* L.



Şekil 3.1 *Plantago major* L. (A) ve *Plantago lanceolata* L. (B) Türleri (www.biolib.de sitesinden alınmıştır).

3.2. STERİLİZASYON İŞLEMLERİ VE TOHUM ÇİMLENDİRME

Bitki tohumları İstanbul Üniversitesi Alfred Heilbronn Botanik Bahçesi'nden tedarik edilmiştir. Çimlenme sırasında oluşabilecek herhangi bir kontaminasyonu engellemek amacıyla, kullanılacak olan cam malzemeler ile metalik araç gereçler 170°C'lik etüvde bir saat süreyle sterilize edilmişlerdir.

Plantago lanceolata ve *Plantago major* tohumları %5 sodyumhipoklorit (NaClO) çözeltisinde 1 dk bekletildikten sonra yedi tekrarlı olarak, distile su ile temizlendi ve daha sonra tohum dormansisini kırmak amacıyla 5 gün boyunca +4°C'de bekletildi. Beşinci günde tohumlar petri kaplarına alınıp, filtre kağıdı zemini üzerine eşit aralıkla ekildikten sonra, nemi daha uzun süre muhafaza etmek amacıyla tohumların üzerine belirli bir düzeyde steril perlit eklenmiştir. Bir miktar distile su ile sulanan petri kapları alüminyum folyo ile ışık almayacak

şekilde kaplanıp, 5 gün boyunca etüvde 25°C'de bekletilmiştir. Tohumlar çimlendikten sonra petri kapları fitotrona alınmıştır. Fitotron şartları; 22°C gece ve 24°C gündüz sıcaklığı, %60-65 nem ve 16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık foto periyoduna ayarlanmıştır.

3.2.1. Kültür Ortamının Sterilizasyonu:

Kültür ortamı için elekten geçirilen kum hacimsel olarak 1:1 (v/v) oranında perlitle karıştırılmıştır. Kum-perlit karışımı, 120°C, 90dk da otoklavda sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ortamın pH'ı 9,2 olarak ölçülmüş, bulunan elementlerin miktarı belirlenmiştir (ICP-OES). Ölçüm sonuçları aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.1 Kum element ölçümleri (mg / kg).

Elementler	Konsantrasyon (mg/kg)	Standart Sapma
Demir (Fe)	5466,00	± 45,10
Kalsiyum (Ca)	2905,00	± 24,60
Potasyum (K)	526,10	± 4,47
Çinko (Zn)	8,35	± 0,10
Bakır (Cu)	3,34	± 0,05
Magnezyum (Mg)	900,30	± 14,16
Mangan (Mn)	125,50	± 1,26

3.3. BİTKİLERİN YETİŞTİRİLMESİ

Çimlenen tohumlar çoklu viyol saksılara alınmış, nem düzeyinin korunması amacıyla düzenli olarak distile su ile sulanmıştır. Besin solüsyonuna alıştırma amacıyla da gün aşırı %10 oranında seyreltilmiş Ingestad besi çözeltisi (Tablo 3.2) ile sulanmıştır. 2 hafta sonra belli bir olgunluğa gelen fideler çapı: 1,5 cm, genişliği: 9 cm boyutlarında olan saksılara alınıp, gün aşırı %25 oranında seyreltilmiş besi çözeltisi ile sulanmıştır. Belirli bir erişkinliğe ulaşan bitkilere 6 hafta sonra verilen besi çözeltisi %50 oranına çıkarılmış ve bununla birlikte ağır metal uygulamalarına başlanmıştır.

Tablo 3.2 Ingestad besi çözeltisi (Bayçu, 1995'den alınmıştır).

Makro ve Mikro Element Tuzları (pH: 6,5)	Stok Çözeltideki Miktar (g/L)	Besi Çözeltisindeki Çözelti Miktarı (mL/L)	Stok
KH_2PO_4	32,930	2,00	
K_2SO_4	29,070	2,00	
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	30,420	4,00	
$\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	11,000	4,00	
NH_4NO_3	56,000	5,00	
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,443	1,00	
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,018	1,00	
H_3BO_3	0,018	1,00	
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,08	1,00	
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,440	1,00	
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ + Titriplex III EDTA	7,000 + 9,300	1,00	

**Şekil 3.2** Çimlendirilen bitkiler.



Şekil 3.3 Fitotron ortamında yetiştirilen bitkiler (6 haftalık).

3.4. AĞIR METAL ÇÖZELTİLERİNİN HAZIRLANIŞI

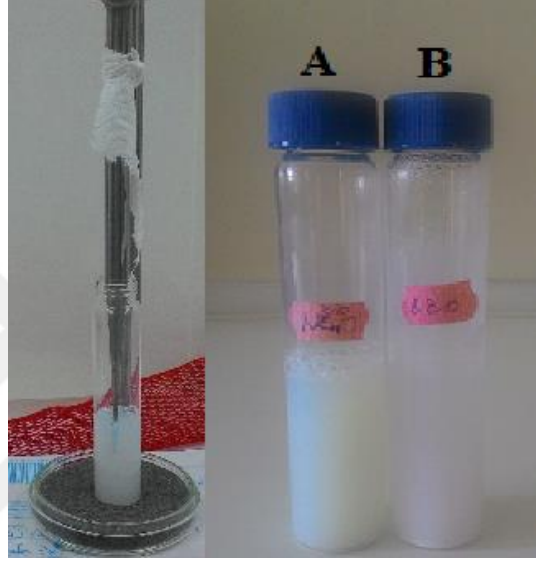
Ağır metal uygulamaları için hacimsel ve nanopartiküler ZnO (çinko oksit, molar ağırlık: 81,39 g/mol) süspansiyonları hazırlanmıştır (Sigma- Aldrich). Nanopartiküler uygulamalar için kullanılan ZnO'in partikül boyutu (P.B.) <50 nm olup, üretim kodu 1002069247'dur. Hacimsel ve nanopartiküler süspansiyon konsantrasyonları 100 mg/L olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.4 (A) *P. lanceolata* L. ve (B) *P. major* L. Bitkileri Uygulama (Nanopartiküler ZnO Uygulama Grupları (sarı etiketliler), Hacimsel ZnO Uygulama Grupları (kırmızı etiketliler) ve Kontrol Grupları (beyaz etiketliler).

3.4.1. Ağır Metal Uygulamaları

Fitotron ortamında yetiştirilen bitkilere nanopartiküler (NP) ve hacimsel (H) Çinko Oksit (Zn) süspansiyonları (100 mg/L) uygulanmıştır. Uygulama süresi 15 gün olarak belirlenmiştir. Bu süre zarfında her gün 30 dk boyunca ultrasonikatör ile homojenize edilen (Bandelin SONOPLUS HD 2200) süspansiyonlar ilk 5 dakika içerisinde besi çözeltisi ile birlikte bitkilere uygulanmıştır.



Şekil 3.5 Uygulama süspansiyonlarının Sonikatörde (Bandelin SONOPLUS HD 2200) hazırlanışı. Ana süspansiyonlar 1000 mg/L (A) Nanopartiküler ZnO, (B) Hacimsel ZnO.

3.5. BİTKİ HASATI VE HASAT SONRASI YAPILAN ÖLÇÜMLER

15 günlük hacimsel ve nanopartiküler ağır metal uygulamasından sonra hasat edilen bitkiler, kök ve toprak üstü organları olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Toprak üstü kısımları direkt saf su ile temizlenmiştir. Kökler ise zarar görmeyecek bir şekilde önce kumdan arındırılmış, sonra çeşme suyu ile iyice temizlenip ve ardından saf su ile 3 tekrarlı olarak çalkalanmıştır.

3.5.1. Kök ve Toprak Üstü Kısımların Yaş Ağırlıklarının Hesaplanması (g)

Hasatları yapıp temizlenen bitkiler iyice süzöldükten sonra yaş ağırlıkları darası önceden alınmış 0,01 g hassasiyete sahip elektronik terazilerde, alüminyum folyo ile tartılmıştır.

3.5.2. Kök ve Toprak Üstü Kısımların Kuru Ağırlıklarının Hesaplanması (g)

Yaş ağırlığı alınan bitkiler ayrı ayrı kese kağıtlarına yerleştirilerek, 3 gün süresince 70°C’de sabit ağırlığa ulaşıncaya kadar kurutulduktan sonra hassas terazilerde ağırlıkları ölçülmüştür.

3.5.3. Yaprak Sayısı

Hasat sırasında her bir saksıda yetişen bitkilerin yaprakları adet bazında sayılmıştır.

3.5.4. Yaprak Alanı (cm)

Her saksıda ayrı ayrı olarak en geniş ve en uzun yaprak belirlenmiş, yaprakların ana damar üzerinden boyu ve ana damarın orta bölgesinden genişliği cetvel aracılığı ile ölçülmüştür.

3.5.5. Kök / Sürgün Oranı

Bitkilerin toplam kurutulmuş kök ağırlıklarının, toplam toprak üstü organların kuru ağırlıklarına oranları hesaplanmıştır.

3.5.6. Toprak Bağlı Su İçeriği (%)

Hasat sonrası kum kültürlerinde kullanılan kum ve perlit karışımları kese kağıtlarına alınarak darası alınmış, 0,1g hassasiyette elektronik terazilerde yaş ağırlıkları ölçülmüştür. Daha sonra 70°C’de 3 gün boyunca bekletilen saksı kumları tekrar tartılarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Elde edilen veriler ile aşağıdaki formül kullanılarak kum bağlı su içeriği hesaplanmıştır (Bresson ve diğ., 2015).

$$\text{SU İÇERİĞİ (\%)} = (\text{Yaş Ağırlık} - \text{Kuru Ağırlık}) \times 100 \times (\text{Kuru Ağırlık})^{-1}$$

3.5.7. Kök ve Toprak Üstü Organlardaki Su içeriği (g/ g K.A.)

Yaş ve kuru ağırlıkları ölçülen bitkilerin kök ve toprak üstü organlarının su içerikleri, ‘((Yaş Ağırlık - Kuru Ağırlık) / Kuru Ağırlık)’ formülüne göre (g/ g K.A.) cinsinden hesaplanmıştır (Wang ve diğ., 2016).

3.6. KÖK VE YAPRAKLARDA HÜCRE MEMBRAN PERMEABİLİTESİNİN ÖLÇÜMLERİ

Yaprak membran permeabilitesinde gelişen değişimleri ölçmek için (Premchandra ve diğ., 1990; Sairam, 1994), hasat sırasında bitkilerden aynı düzeyde ve aynı bölgelerden alınan 0,1 gram yaprak parçaları saf suyla temizlenmiştir. 10ml saf su içerisinde 40°C'de 30 dakika bekletilen yaprak numunelerinin iletkenlik ölçüm cihazı ile canlı durumda ilk elektriksel iletkenlik düzeyi (EC1) ölçülmüştür. Ölü durumda ikinci elektriksel iletkenlik düzeylerini (EC2) ölçmek için 100°C lik su banyosunda 10 dakika kadar bekletilmiştir.

Kökler için Wilner (1955) yöntemi kullanılmıştır. Hasattan sonra saf suyla iyice durulanan köklerin ucundan 5 cm olacak şekilde alınan (0,1 g) numuneler 16 ml saf su içerisinde iyice karıştırılıp, 24 saat boyunca bekletilmiştir. 24 saat sonra, kökler canlıyken ilk sızan iyon miktarı ölçülmüştür (EC1). Daha sonra kökler 100 °C su banyosunda 10 dk bekletilerek tamamen ölmesi sağlanmış ve ikinci elektriksel iletkenlik (EC2) ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen veriler aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Sonuçlar (%) cinsinden ifade edilmiştir.

$$\text{İyon Sızıntısı (\%)} = (EC1/EC2) \times 100$$

Hücre membran hasarının hesaplanması için, Shibli ve diğ. (2007) tarafından geliştirilen formüle göre yüzde (%) olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Hücre Membran Hasarı (\%)} = 1 - (1 - EC1/EC2) / (1 - EC1^*/EC2^*)$$

E*: Kontrol grubunun elektriksel iletkenlik değeridir.

3.7. KÜLTÜR ORTAMLARININ ELEKTRİKSEL İLETKENLİK VE PH ÖLÇÜMLERİ

Hasat sonrası kültür ortamının pH ve elektrik iletkenliği (EC), Lebrun ve diğ. (2017) tarafından yürütülen protokole göre hazırlanmıştır. 21 ml distile su içerisine 3 g kum ve perlit karışımı eklenmiştir. Elde edilen süspansiyonlar 4 saat boyunca oda sıcaklığında 150 rpm'de çalkalandıktan sonra 15 dakika bekletilmiştir. Sonra pH ve elektriksel iletkenlik düzeyleri ölçülmüştür. Kültür ortamlarının elektriksel iletkenlik verileri mS/cm cinsinden ifade edilmiştir.

3.8. TOLERANS İNDEKSİNİN BELİRLENMESİ

Ağır metal uygulamalarının bitki toksisite düzeyine karşı gelişimsel etkileri, Antosiewicz (2005)'in uyguladığı Tolerans Endeksi (TI) ile hesaplanmıştır.

TI (%) = (Uygulama gruplarında yetişen bitkilerin kök (veya sürgün) büyüme artışı / Kontrol grubunda yetişen bitkilerin kök (veya sürgün) büyüme artışı) x 100

3.9. KLOROFİL FLORESANS GÖRÜNTÜLEME ANALİZLERİ

Klorofil floresans görüntüleme analizleri, Spardouli ve Moustakas (2011) tarafından geliştirilen metod doğrultusunda Imaging-PAM florometre cihazı (Heinz Walz, Effeltrich, Germany) kullanılarak ölçülmüştür (Şekil 3.6). Oda sıcaklığında, taze yaprakların belli bir bölgesi ölçüm alanına yerleştirilerek, karanlık ortama 15 dakika boyunca adapte edilmiştir. *P.major* ve *P. lanceolata* yapraklarında belirlenmiş kısımlarda ölçüm alanları seçilmiştir.

İlk olarak, karanlık ortamda minimum klorofil a floresansı (F_0) ve maksimum klorofil a floresansı (F_m) ölçülmüş, elde edilen veriler doğrultusunda, en yüksek potansiyel verimde kuantum değerleri (F_v / F_m) hesaplanmıştır. Ardından sabit durum koşullarındaki floresans verimini (F_s) değerlendirmek için aktinik lambalar (AL) çalıştırılmıştır. Bitkilerin yetiştirilme ortamlarındaki beyaz ışık yoğunluğu baz alınarak aktinik lambalar $330 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ düzeyine ayarlanmıştır. Aydınlatma süresi, toplamda 5 dakika olup her 20 saniyede bir, aydınlık ortamda minimum klorofil a floresansı (F_0') ve maksimum klorofil a floresansı (F_m') değerleri tekrarlı olarak ölçülmüştür (Moustaka ve diğ., 2015).



Şekil 3.6 Klorofil floresans görüntüleme cihazı.

PSII aktivitesini ölçmede kullanılan parametrelerin formülasyonları birçok kaynaktan (Moustaka ve diğ., 2015; Bayçu ve diğ., 2018; Moustaka ve Moustakas, 2014; Moustakas ve diğ., 2016; Spirdouli ve Moustakas, 2011) elde edilmiş veriler doğrultusunda aşağıda açıklanmıştır:

Yapraklarda absorbe edilen ışığın fotokimyasal aktiviteler için kullanılma verimini tahmin eden Φ_{PSII} , PSII'de fotokimyasal enerji dönüşümünün etkili kuantum verimi olarak tanımlanmakta ve aşağıdaki formüllere göre hesaplanmaktadır.

$$\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s) / F_m'$$

Fotosistem II'de redoks durumunda birincil alıcı olan kuinon A'nın (QA), fotokimyasal sönümü ya da kullanım potansiyeli olarak adlandırılan qP , birincil alıcıda açık PSII tepkime merkezlerinin bulunduğu fraksiyonun ölçüsü olarak belirtilmekte ve aşağıdaki formül ile hesaplanmaktadır.

$$qP = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_o')$$

1-qP olarak adlandırılan klorofil floresans parametresi, kapalı PSII reaksiyon merkezlerinin oranını yansıtır (Bayçu ve diğ., 2018). Bu parametre PSII uyarma basıncı olarak adlandırılır ve sistem içi elektron taşıma zincirinin redoks dengesini yansıtır.

PSII'de göreceli elektron taşıma oranı olarak adlandırılan ETR aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır;

$$\mathbf{ETR} = \Phi\text{PSII} \times \text{PPFD} \times c \times \text{abs}$$

PPFD: Fotosentetik foton akı yoğunluğudur (photosynthetic photon flux density).

c: Emilen ışık enerjisidir 0.5 olarak kabul edilir.

abs: Yapraktaki toplam ışık absorpsiyonudur. PSII ve PSI arasında eşit olarak dağıldığı varsayıldığından yaprak 0.84 olarak kabul edilmiştir.

Fotokimyasal olmayan sönüm olarak adlandırılan NPQ parametresi, PSII' de oluşan yüksek ve dengesiz enerjinin anten sistemde (PSII Antenna System) uyarım (eksitasyon) ile ısı şeklinde dışarı doğru yayılma potansiyelini gösterir ve aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$\mathbf{NPQ} = (F_m - F_m') / F_m'$$

PSII'de regülasyona tabi tutulmuş fotokimyasal olmayan enerji kaybının gösteren ΦNPQ , yani PSII'de azalarak düzenlenme yoluyla yayılan kuantum etkisi, [$\Phi\text{NPQ} = 1 - \Phi\text{PSII} - \Phi\text{NO}$] olarak hesaplanırken, PSII'de düzenlenmemiş enerji kaybının kuantum etkisini temsil eden ΦNO 'nun hesaplanma formülü, [$\Phi\text{NO} = 1 / [\text{NPQ} + 1 + q_L (F_m / F_o - 1)]$] şeklindedir (Kramer ve diğ., 2004).

F_v / F_m , ΦPSII , ΦNPQ , ΦNO , qP ve $\text{NPQ} / 4$ parametrelerinin sonuçları ayrıca, 330 μmol foton $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ düzeyinde her 20 saniyede bir tekrarlı olarak 5 dakikalık aydınlatma sonrasında elde edilen verilerin ortalamasını gösteren özel renk kodlu resimler olarak kaydedilmiştir.

3.10. BİTKİ ÖRNEKLERİNDE AĞIR METAL ANALİZİ

3.10.1. Bitki ve Kum Numunelerinin Asit ile Mineralizasyonu

Kurutulmuş bitki numuneleri (kök ve sürgünler) homojenizatör (VELP Scientifica D-500) ile öğütülerek asit ile yakılmaya elverişli hale getirilmiştir.

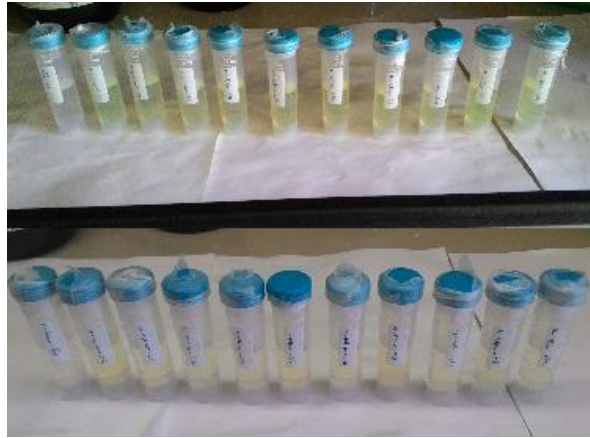
Numunelerin asitle yakılma işlemleri için Berghof Speed Wave MW4 cihazı kullanılmıştır. Örneklerden yaklaşık 100-200 mg alınarak, yüksek ısıya dayanıklı özel teflon tüplere (DAP-100) aktarıldı ve daha sonra üzerlerine 10 ml %65'lik HNO₃ (Merck) eklendi. Yakma esnasında aşırı basınç oluşumunu önlemek adına tüpler, çeker ocakta 30 dakika boyunca bekletilerek asitlerin buharları vakumlandı. Buhar tamamen temizlendikten sonra tüplerin önce dengeleyici metal diskleri ile birlikte iç kapakları kapatılmış ve ardından sıcaklık ve basınca dayanıklı, dış başlıkları kapatılarak belirli bir sırada mikrodalga cihazına yerleştirildi. Kum ve bitki numuneleri için ayrı ayrı protokollere göre basınç, sıcaklık, zaman değerleri ayarlanmış ve yakma işlemleri tamamlanmıştır (Ağba, 2013; Bayçu ve diğ., 2014). Elde edilen süspansiyonlar öncelikle 9 mm'lik külsüz filtre kağıdı (Whatman-42) ile süzülme işlemleri gerçekleştirilerek huniler aracılığıyla 25 ml'lik balon jojelere aktarıldı ve süzülen sıvı örnekler, deiyonize su ile 25 ml ye tamamlandı. Daha sonra tekrardan özel 45 µ'lik membran filtrelerden şırınga aracılığı ile süzülerek 15 ml'lik tüplere aktarılmış ve ağır metal analizine hazır hale getirilmiştir. Kontrol amaçlı hazırlanan numunesiz boş tüplere ve analizde kullanılan özel kurutulmuş referans bitki materyali içinde (1575a Pine Needles, NIST) aynı işlemler uygulanmıştır.



Şekil 3.7 Ağır metal analizleri için hazırlanan örnekler.



Şekil 3.8 Berghof Speed Wave MW4 Cihazı (İstanbul Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı).



Şekil 3.9 ICP-OES ölçümüne hazır örnekler.

3.10.2. Ağır Metal Analizi

Element ölçümleri Perkin Elmer, ICP-OES 7000 DV (İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi) cihazında yapılmıştır. Cihazın çalışma prensibi, yaklaşık 5000°C sabit sıcaklıkta argon gazının elektromanyetik bir ortamda iyonik forma geçmesiyle birlikte meydana gelen plazma fazında indüklenmiş element atomlarının belli bir dalga boyunda sergilediği ışımaların spektroskopik olarak yorumlanma esasına dayanmaktadır.

Başta Zn olmak üzere Mg, K, Ca, Mn, Fe elementlerinin analizleri yapılmıştır. Kalibrasyon çözeltileri, özel sertifikalı standart stoklardan hazırlanmıştır. Seyreltme için deiyonize su ile hazırlanmış %1'lik HNO₃ (v:v) kullanılmıştır. Ölçüm için numune tüpleri üç tekrarlı olacak şekilde belli bir sırada dizilmiştir. Blank olarak kullanılan tüplere yalnızca %1'lik HNO₃ (v:v) eklenmiştir. Elementlerin emisyon dalga boyları ve kalibrasyon aralıkları aşağıda (Tablo 3.3) verilmiştir.

Tablo 3.3 ICP ölçümlerinde elementlerin emisyon dalga boyları (nm) ve kalibrasyon aralıkları (mg / L).

Elementler	Emisyon Dalga Boyları (nm)	Kalibrasyon Aralığı (mg/L)
Çinko (Zn)	206,200	(0,05 – 5)
Demir (Fe)	238,204	(0,1 – 10)
Mangan (Mn)	257,610	(0,1 – 10)
Magnezyum (Mg)	285,213	(0,5 – 20)
Kalsiyum (Ca)	317,933	(1 – 20)
Potasyum (K)	766,490	(1 – 20)

Ölçümler için belli bir seviyede sıcaklığa ulaşmak adına yüksek saflıkta argon ve azot gazları kullanılmıştır.



Şekil 3.10 ICP-OES 7000 DV(İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi) cihazı (İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Orman Fakültesi).

3.11. AKÜMÜLASYON, TRANSLOKASYON VE BİYOKONSANTRASYON FAKTÖRLERİNİN HESAPLANMASI

Bitkilerin çinko akümülyasyon faktörleri, yetiştirildiği ortam ve bitki içeriğinde ölçülen ağır metal verileri doğrultusunda aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Subhashini ve diğ., 2013).

$$\text{Akümülyasyon Faktörleri (AF)} = \frac{\text{Sürgün+ Kök dokularında elementlerin konsantrasyonu (mg/kg)}}{\text{Aynı elementin topraktaki konsantrasyonu (mg/kg)}}$$

Biyolojik konsantrasyon faktörü (BF) topraktan, bitkiye ağır metal alım aktivitesinin bir göstergesidir (Ladislav ve diğ., 2012). Köklerde ($Kök_{BF}$) ve Toprak üstü organlarında ($TÜ_{BF}$) birikim dereceleri ayrı ayrı ele alınarak, aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır (Doucette ve diğ., 2017).

Toprak Üstü Organların

Biyokonsantrasyon Faktörü

$$(TÜ_{BF}) =$$

$$\frac{\text{T.Ü. dokularında elementlerin konsantrasyonu (mg/kg)}}{\text{Aynı elementin topraktaki konsantrasyonu (mg/kg)}}$$

$$\text{Aynı elementin topraktaki konsantrasyonu (mg/kg)}$$

$$\text{Kök Biyokonsantrasyon Faktörü (Kök}_{BF}) = \frac{\text{Kök dokularında elementlerin konsantrasyonu (mg/kg)}}{\text{Aynı elementin topraktaki konsantrasyonu (mg/kg)}}$$

Translokasyon faktörü (TF), elementlerin kök dokularından sürgünlere doğru aktarım düzeyinin bir göstergesidir. Sürgünlerde birikim gösteren metal düzeyinin (mg/kg), köklerde ölçülen konsantrasyonlara (mg/kg) oranını ifade eden translokasyon seviyeleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Padmavathiamma ve Li, 2007):

Translokasyon Faktörü

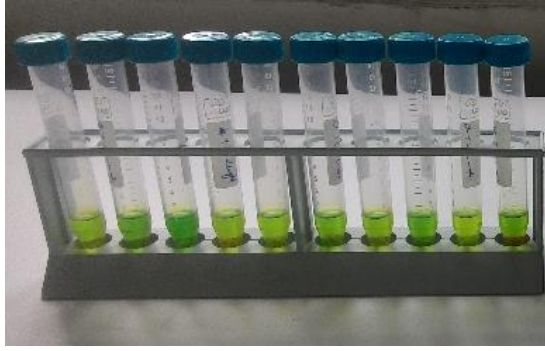
(TF) = Bitki sürgünlerindeki metal konsantrasyonu / Bitki köklerindeki metal konsantrasyonu

3.12. TOTAL KLOROFİL VE KAROTENOİD TAYİNİ

Klorofil tayini Arnon (1949) metoduna göre yapılmıştır. 100 mg taze yapraklar sıvı azot eşliğinde %90 aseton ile tamamen homojen bir görüntü alana kadar havanda parçalanmıştır. Bu örnekler daha sonra +4°C'de 1 gün boyunca inkübe edilmiştir. Aseton içinde bekletilen örnekler, eşit süre boyunca hafifçe vortekslendikten sonra 3000 rpm'de 10 dakika süresince santrifüjlenmiştir. Tüplerde üst fazdan alınan süpernatantlar daha sonra 480, 630, 645, 665 ve 750 nm dalga boylarındaki (Lichtenthaler, 1987) absorbant değerleri spektrofotometrede (BioTek Epoch2 mikropate spektrofotometre) ölçülmüştür. Elde edilen değerler, doğrultusunda klorofil a, b ve karotenoid düzeyleri mg/g cinsinden hesaplanmıştır (Parsons ve Strickland, 1963).



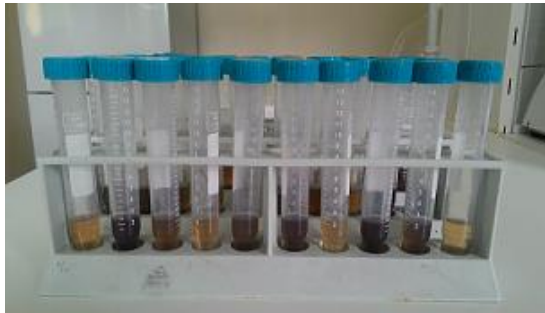
Şekil 3.11 BioTek Epoch2 Mikropate Spektrofotometre Cihazı.



Şekil 3.12 Klorofil ve Karotenoid ölçümleri için hazırlanmış yaprak ekstraktları.

3.13. TOTAL FENOLİK MADDE ANALİZİ

Total fenolik madde içeriği, McCue ve diğ. (2000) tarafından geliştirilen metod üzerinden Eryılmaz (2007)'in tekrardan düzenlediği protokol doğrultusunda ölçülmüştür. Taze kök numunelerinden 100 mg alınarak 2,5 ml %95 etanol içeren tüplerde, -20°C 'de 7 gün süresince bekletilmiştir. Homojenizasyon için numuneler ilk olarak, 10000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatantlardan 1 ml alınmış ve üzerlerine sırasıyla 1 ml %95 etanol, 5 ml distile su ile 0,5 ml %50 Folin-Ciocalteu fenol reaktifi eklenmiştir. Karışımlar 5 dakika boyunca inkübasyona bırakıldıktan sonra üzerlerine 1 ml %5 (w/v) Na_2CO_3 (sodyum karbonat) ilave edilerek, tek tek vortekslenmiştir. Ardından 1 saat süresince karanlık ortamda inkübe edilen örnekler tekrardan yavaşça çalkalandı ve son olarak 4500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjlenen tüplerden alınan süpernatantların BioTek Epoch2 mikroplate spektrofotometre cihazında 725 nm'deki absorbans değerleri ölçülmüştür. Numunelerde total fenolik düzeyi, gallik asit kullanılarak çizilen standart eğriye göre (mg/L) cinsinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.13 Toplam fenolik ölçümleri için hazırlanmış kök ekstraktları.

3.14. İSTATİKSEL UYGULAMALAR:

Analizlerden elde edilen tüm veriler için Kolmogorov-Smirnov ve Levene'nin testleri, sırasıyla normallik varsayımını ve varyansların homojenliğini sağlamak için kullanılmıştır. Varyans analizi (ANOVA) ve varyans testlerinin homojenliği $P \leq 0,05$ düzeyinde test edilmiştir. Homojen bulunan veriler için gruplar arası Tukey posthoc testi, homojenlik bulunmayan verilerde ise Dunnett T3 testi kullanılmıştır. Parametrik olmayan veriler için Kruskal-Wallis testi ve ardından Mann-Whitney U testi ($P \leq 0,05$) uygulanmıştır. Tüm veriler Novo ve González (2014)'in istatistiksel hesaplamalarına göre IBM SPSS istatistik yazılımı versiyon 20 (IBM Corporation, 2011) kullanılarak yapılmıştır.



4. BULGULAR

4.1.NANOPARTİKÜLER VE HACİMSEL ÇİNKO OKSİT UYGULAMALARININ BİTKİLERİN GELİŞİMSEL ÖZELLİKLERİNE OLAN ETKİLERİ

4.1.1. Yaprak Sayıları

P. major ve *P. lanceolata* bitki gruplarının yaprakları hasat öncesi sayılmıştır (Tablo 4.1). *P. major* grubunun ortalama yaprak sayısı 5-6 adet arasında değişkenlik gösterirken, *P. lanceolata* gruplarında ortalama 4-5 arasındadır. İki türün yaprak adeti kontrol ve çinko uygulama grupları arasında herhangi bir istatistiki farklılık göstermemektedir (Şekil 4.1).

Tablo 4.1 *P. major* ve *P. lanceolata* yaprak sayıları (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

Yaprak Sayıları (adet)		
<i>P.major</i>	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	6,0	\pm 0,316a
NP-Zn	5,2	\pm 0,374a
H-Zn	5,0	\pm 0,447a
Toplam	5,4	\pm 0,235
<i>P. lanceolata</i>	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	5,2	\pm 0,583a
NP-Zn	4,0	\pm 0,447a
H-Zn	4,4	\pm 0,510a
Toplam	4,5	\pm 0,307

4.1.2. Yaprak En ve Boy uzunlukları

P. major ve *P. lanceolata* bitki türlerinin hasat öncesi her saksıdan alınan en geniş ve en uzun yaprakların ölçüleri alınmıştır. *P. major* türünün gruplar arası yaprak boy ölçümleri ortalama 3,7 cm, yaprak eni ise ortalama 2,47 cm olarak bulunmuştur (Tablo 4.2). *P. lanceolata* türünün gruplar arası yaprak boy ve en ölçümleri sırasıyla 6,95 ve 0,75 cm'dir (Tablo 4.3). Elde edilen değerler doğrultusunda her iki türün kontrol ve uygulama grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.1).

Tablo 4.2 *P. major* yaprak en ve boy ölçümleri (cm), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P.major</i> Yaprak Ölçümleri (cm)		
Yaprak Boyu	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	3,78	\pm 0,116a
NP-Zn	3,44	\pm 0,081a
H-Zn	3,88	\pm 0,037a
Toplam	3,70	\pm 0,068
Yaprak Eni	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	2,52	\pm 0,037a
NP-Zn	2,42	\pm 0,037a
H-Zn	2,46	\pm 0,040a
Toplam	2,47	\pm 0,023

Tablo 4.3 *P. lanceolata* yaprak en ve boy ölçümleri (cm), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

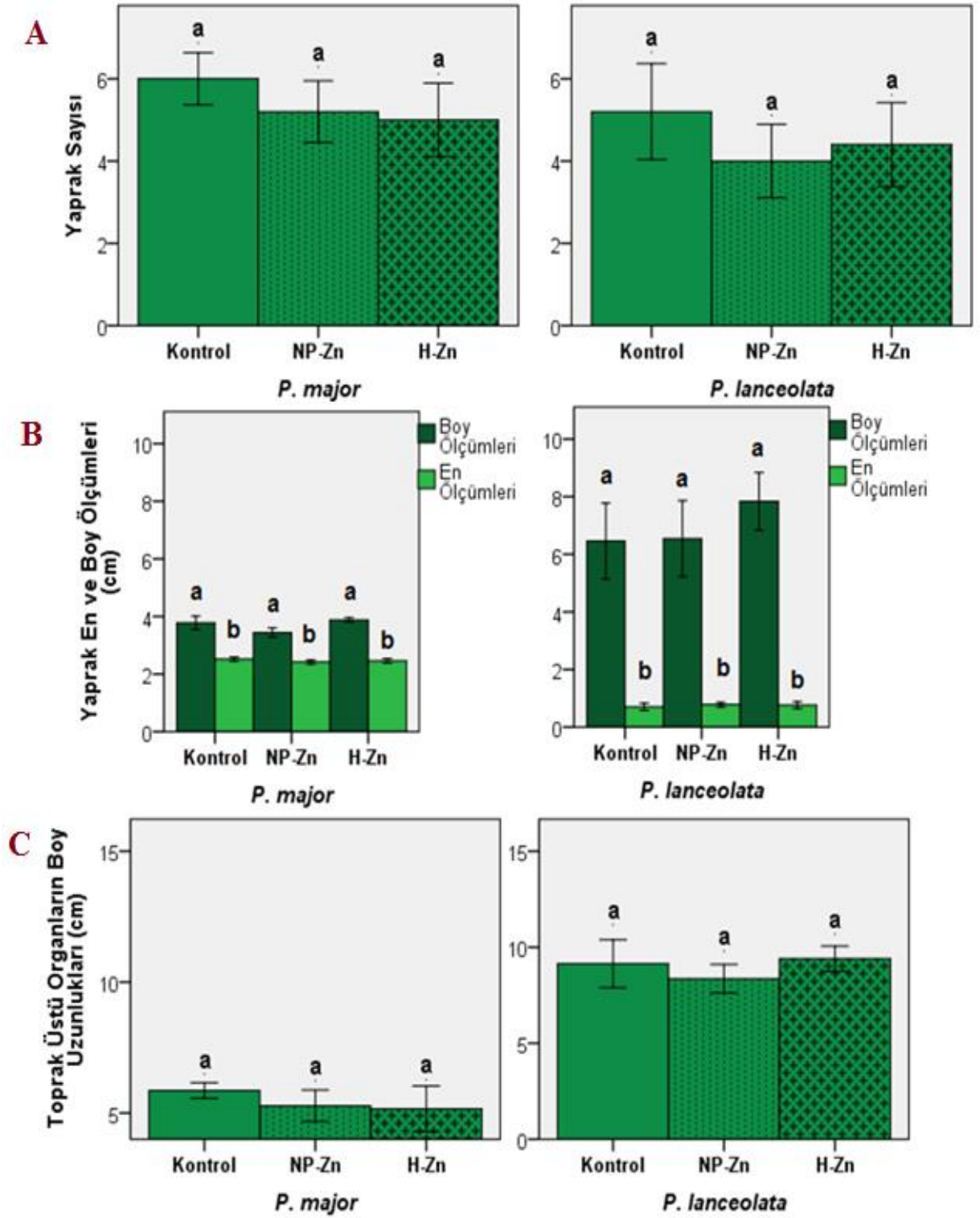
<i>P.lanceolata</i> Yaprak Ölçümleri (cm)		
Yaprak Boyu	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	6,46	\pm 0,660a
NP-Zn	6,54	\pm 0,661a
H-Zn	7,84	\pm 0,501a
Toplam	6,95	\pm 0,368
Yaprak Eni	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,70	\pm 0,063a
NP-Zn	0,78	\pm 0,041a
H-Zn	0,76	\pm 0,060a
Toplam	0,75	\pm 0,031

4.1.3. Bitkilerin Toprak Üstü Organların Boy Uzunlukları (cm)

Bitkilerin toprak üstü organlarının ortalama uzunlukları sırasıyla *P. major* türü için 5,4 cm ve *P. lanceolata* türü için 9 cm bulunmuştur (Tablo 4.4). Her iki türünde toprak üstü boy uzunluklarının gruplar arası istatistiksel bir farklılık taşımadığı görülmüştür (Şekil 4.1).

Tablo 4.4 *P. major* ve *P. lanceolata* Toprak Üstü Organların Boy Uzunlukları (cm),
(Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

Toprak Üstü Organların Boy Ölçümleri (cm)		
<i>P.major</i>	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	5,86	\pm 0,150a
NP-Zn	5,28	\pm 0,302a
H-Zn	5,10	\pm 0,438a
Toplam	5,43	\pm 0,190
Toprak Üstü Organların Boy Ölçümleri (cm)		
<i>P.lanceolata</i>	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	9,14	\pm 0,624a
NP-Zn	8,36	\pm 0,372a
H-Zn	9,40	\pm 0,327a
Toplam	8,97	\pm 0,273



Şekil 4.1 *P. major* ve *P. lanceolata* türlerinin yaprak sayısı (A), en ve boy ölçümleri (B), sürgünlerin boy uzunlukları (C). (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P < 0,05$), $N:5$).

4.1.4. Taze ve Kuru Ağırlıklar

Bitki gruplarının kök ve toprak üstü organlarında, taze ve kuru ağırlıklarında görülen değişimler istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (Şekil 4.2).

P. major, toprak üstü organların ortalama taze ağırlıkları 0,53 gram ve ortalama kuru ağırlıkları 0,16 g olarak tartılmıştır (Tablo 4.5). Ortalama taze kök ağırlıkları 0,6 gram ve ortalama kuru ağırlıkları ise 0,07 g olarak ölçülmüştür (Tablo 4.6).

Tablo 4.5 *P. major* toprak üstü organların yaş ve kuru ağırlıkları (g), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P.major</i> Toprak Üstü Organların Taze ve Kuru Ağırlıkları (g)		
Taze Ağırlık	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,53	\pm 0,062a
NP-Zn	0,51	\pm 0,054a
H-Zn	0,55	\pm 0,061a
Toplam	0,53	\pm 0,032
Kuru Ağırlık	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,15	\pm 0,018a
NP-Zn	0,15	\pm 0,016a
H-Zn	0,18	\pm 0,020a
Toplam	0,16	\pm 0,010

Tablo 4.6 *P. major* köklerin yaş ve kuru ağırlıkları (g), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P.major</i> Kök Taze ve Kuru Ağırlıkları (g)		
Taze Ağırlık	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,63	\pm 0,079a
NP-Zn	0,62	\pm 0,064a
H-Zn	0,54	\pm 0,062a
Toplam	0,60	\pm 0,038
Kuru Ağırlık	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,08	\pm 0,010a
NP-Zn	0,07	\pm 0,008a
H-Zn	0,06	\pm 0,007a
Toplam	0,07	\pm 0,005

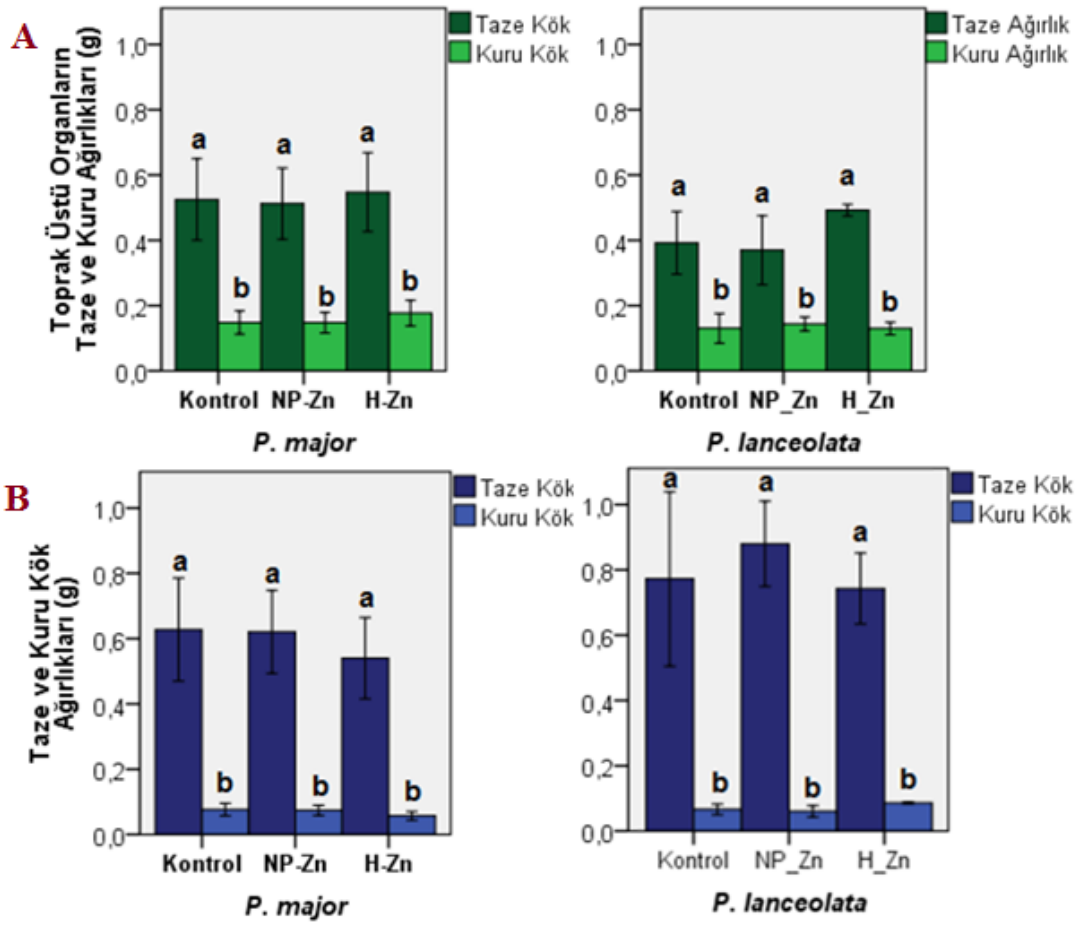
P. lanceolata, bitkilerinde de taze ve kuru ağırlıklarının kontrol ve uygulama grupları arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Toprak üstü organların taze ağırlıkları ortalama 0,41 g ve ortalama kuru ağırlıkları ise 0,14 g olarak ölçülmüştür (Tablo 4.7). Gruplar arası taze kök ağırlıkları, 0,74-0,88 g arası ölçülmüş olup, kuru ağırlıkları ise 0,060-0,086 g arası değişkenlik göstermektedir (Tablo 4.8).

Tablo 4.7 *P. lanceolata* toprak üstü organların yaş ve kuru ağırlıkları (g), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P.lanceolata</i> Toprak Üstü Organların Taze ve Kuru Ağırlıkları (g)		
Taze Ağırlık	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,40	\pm 0,048a
NP-Zn	0,37	\pm 0,053a
H-Zn	0,49	\pm 0,009a
Toplam	0,41	\pm 0,028
Kuru Ağırlık	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,13	\pm 0,023a
NP-Zn	0,14	\pm 0,011a
H-Zn	0,13	\pm 0,010a
Toplam	0,14	\pm 0,009

Tablo 4.8 *P. lanceolata* köklerin yaş ve kuru ağırlıkları (g), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P.lanceolata</i> Kök Taze ve Kuru Ağırlıkları (g)		
Taze Ağırlık	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,77	\pm 0,134a
NP-Zn	0,88	\pm 0,065a
H-Zn	0,74	\pm 0,054a
Toplam	0,80	\pm 0,054
Kuru Ağırlık	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,07	\pm 0,008a
NP-Zn	0,06	\pm 0,009a
H-Zn	0,09	\pm 0,002a
Toplam	0,07	\pm 0,005



Şekil 4.2 *P. major* ve *P.lanceolata* sürgün (A) ve köklerin (B) taze ve kuru ağırlıkları (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P<0,05$), $N:5$).

4.1.5. Bitkilerin Su İçerikleri (g/ g K.A.)

Nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulanmış bitki türlerinde kök ve toprak üstü organların su içeriklerine bakıldığında istatistiksel anlamda bir takım farklılıklar bulunmuştur (Şekil 4.3).

P. major türünün toprak üstü organlarında gruplar arası $P<0,001$ düzeyinde anlamlı bir farklılık mevcuttur (Tablo 4.9). NP-Zn uygulama grubunun, H-Zn uygulama grubuna kıyasla su içeriği %18,18 oranında bir artış göstermiştir. En yüksek su içeriği kontrol grubuna aittir. Nanopartiküler Zn uygulanan bitkilerde su içerik oranı kontrole göre %2,77 oranında bir azalma göstermekle birlikte, hacimsel Zn uygulanan grubun su içeriği kontrole kıyasla %17,72'lik bir düşüş sergilemiştir. Toprak üstü organların su içeriklerine göre gruplar sırasıyla, Kontrol> NP-Zn >H-Zn şeklinde sıralanmaktadır.

P. major türünün köklerinde ölçülen su içeriklerine bakıldığında, istatistiksel açıdan gruplar arası bir takım farklılıklar bulunmuştur (Tablo 4.9). Toprak üstü organlara ters bir şekilde en yüksek su içeriği hacimsel çinko uygulanan grup sahipken, en düşük yüzde kontrol grubuna aittir. Kontrol grubuna kıyasla NP-Zn uygulamalarının su içeriği %1,8 oranında, H-Zn uygulama grubunun ise su içerik ölçümleri %16,16 oranında bir artış sergilemiştir. Köklerde tüm grupları birbirleriyle kıyasladığımızda su içerikleri, H-Zn> NP-Zn> Kontrol şeklinde sıralanmaktadır.

Tablo 4.9 *P. major* kök ve toprak üstü organların su içerikleri (g/ g K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,01), (**: P<0,001), N:5).

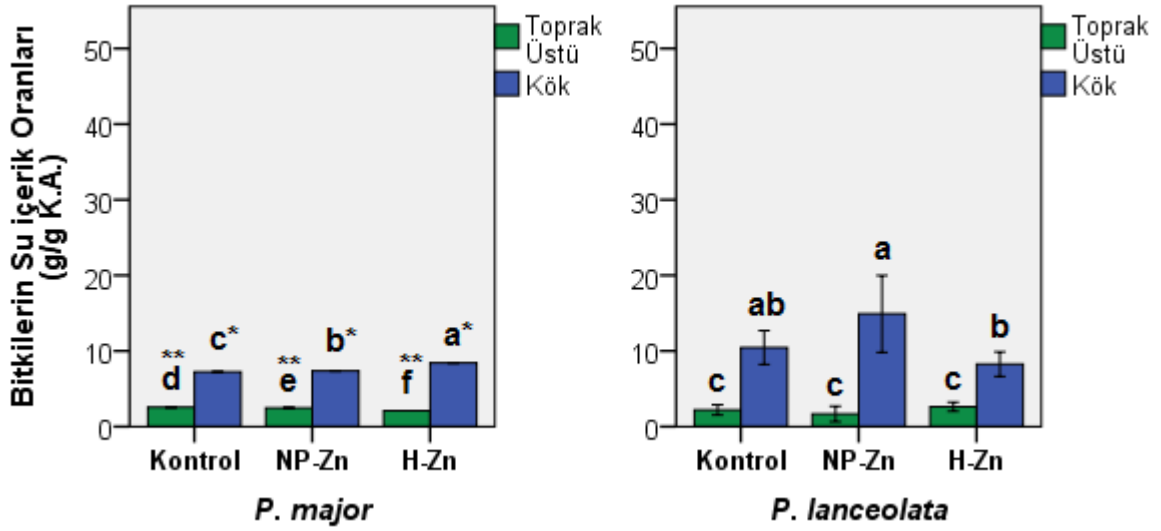
<i>P. major</i> Bitki Su İçerikleri (g/ g K.A.)		
T. Ü. Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	2,54	\pm 0,002a**
NP-Zn	2,47	\pm 0,004b**
H-Zn	2,09	\pm 0,001c**
Toplam	2,37	\pm 0,053
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	7,24	\pm 0,020c*
NP-Zn	7,37	\pm 0,019b*
H-Zn	8,41	\pm 0,024a*
Toplam	7,67	\pm 0,141

P. lanceolata toprak üstü organlarda kontrol grubu ile çinko uygulama grupları arasında istatistiksel bir farklılık bulunmadığı ortaya konmuştur (Tablo 4.10). Su içerik oranları %2,62-1,67 değerleri arasında değişkenlik göstermektedir.

Plantago lanceolata'nın kontrol ve uygulama gruplarının kök su içeriklerine bakıldığında kontrol grubu ile diğer uygulama grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.10). Ancak nanopartiküler ve hacimsel çinko uygulama grupları arasında istatistiksel bir farklılık mevcuttur. NP-Zn uygulama grubunun su içerik yüzdesi, Hacimli-Zn uygulama grubuna göre %80,4 oranında bir artış sergilemiştir.

Tablo 4.10 *P. lanceolata* kök ve toprak üstü organların su içerikleri (g/ g K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P. lanceolata</i> Bitki Su İçerikleri (g / g K.A.)		
T. Ü. Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	2,20	\pm 0,340a
NP-Zn	1,67	\pm 0,517a
H-Zn	2,62	\pm 0,302a
Toplam	2,17	\pm 0,237
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	10,45	\pm 1,118ab
NP-Zn	14,90	\pm 2,536a
H-Zn	8,26	\pm 0,805b
Toplam	11,20	\pm 1,157



Şekil 4.3 *P. major* ve *P. lanceolata* türlerinin kök ve toprak üstü organların su içerik yüzdeleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata, (P<0,05), (*: P<0,01), (**: P<0,001), N:5).

4.1.6. Kök ve Sürgün Oranları (K / S) (g K.A. /g. K.A.)

P. major (Tablo 4.11), türünün taze kök ağırlıklarının, taze toprak üstü organların ağırlıklarına oranları doğrultusunda yapılan istatistiksel hesaplamalara göre, nanopartiküler çinko uygulama grubunun K / S oranı, hacimsel uygulama grubuna göre, $P < 0,001$ anlamlılık düzeyinde %54,27 oranında bir artış olduğu saptanmıştır. Hacimsel grubun K/S değeri diğer gruplara nazaran daha düşük düzeydedir.

Tablo 4.11 *P. major* Kök / Sürgün Oranları (K/S) (g K.A. /g. K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,001), N:5).

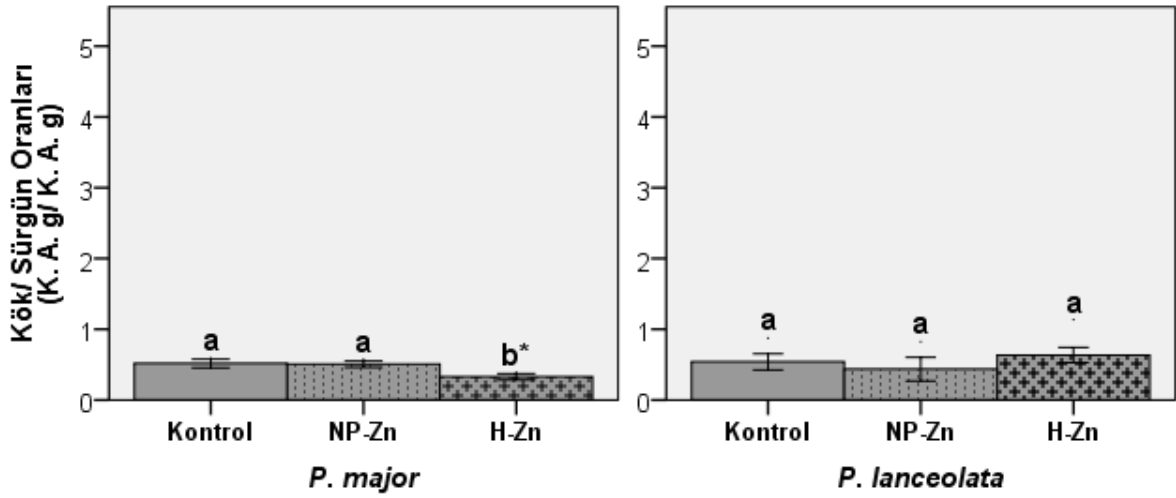
<i>P. major</i> Kök/ Sürgün Oranları (g K.A./ g K.A.)		
Yaprak	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,52	$\pm 0,030a$
NP-Zn	0,51	$\pm 0,023a$
H-Zn	0,33	$\pm 0,022b^*$
Toplam	0,45	$\pm 0,027$

P. lanceolata türünün K/S oranlarına bakıldığında (Tablo 4.12), kontrol grubu ve uygulama grupları arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır. K/S oranları gruplar arasında ortalama 0,44 ile 0,64 değerleri arasında değişkenlik göstermekle birlikte, hacimsel çinko uygulamasında bu oran, değer sıralamaları açısından diğer gruplara kıyasla daha yüksektir. Ortalama sıralamaları H-Zn > Kontrol > NP-Zn şeklindedir.

Tablo 4.12 *P. lanceolata* Kök / Sürgün Oranları (K/S) (g K.A. /g. K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P. lanceolata</i> Kök/ Sürgün Oranları (g K.A./ g K.A.)		
Yaprak	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,54	$\pm 0,06a$
NP-Zn	0,44	$\pm 0,08a$
H-Zn	0,64	$\pm 0,05a$
Toplam	0,54	$\pm 0,04$

Genel olarak türler arası bir karşılaştırmaya gidildiğinde *P. lanceolata* gruplarının toplam ortalama K/S değeri, *P. major* gruplarının toplam değerinden daha yüksek olduğu görülmüştür.



Şekil 4.4 *P. major* ve *P. lanceolata* türlerinin Kök / Sürgün (K / S) oranı (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:5).

4.1.7. Tolerans İndeksi (%)

Plantago major ve *Plantago lanceolata* türlerinin kök ve toprak üstü organlarında gruplar arası istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.5).

P. major türünün gruplar arası tolerans indeks yüzdeleri toprak üstü organlarda %104- %96,6 ve kökte %100-%86,1 değerleri arasında değişim göstermektedir (Tablo 4.13). Toprak üstü organların ortalama tolerans indeksleri sırasıyla NP-Zn < Kontrol <H-Zn olarak sıralanmaktadır. Köklerin ortalama tolerans indeks yüzdeleri ise sırasıyla H-Zn< <NP-Zn <Kontrol şeklinde sıralanmaktadır.

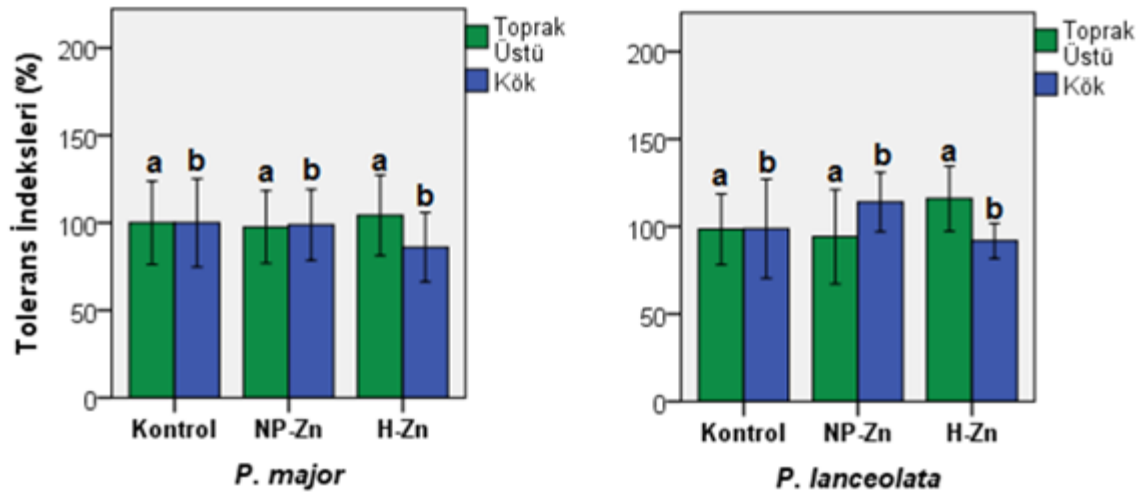
Tablo 4.13 *P. major* Tolerans İndeksleri (%) (g K.A. /g. K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P. major</i> Tolerans İndeksleri (%)		
T. Ü. Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	100,0	\pm 11,87a
NP-Zn	97,6	\pm 10,36a
H-Zn	104,3	\pm 11,51a
Toplam	100,6	\pm 6,07a
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	100,0	\pm 12,60a
NP-Zn	98,9	\pm 10,13a
H-Zn	86,1	\pm 9,92a
Toplam	95,0	\pm 6,09a

P. lanceolata türünün sürgün ve kök ortalama tolerans indeksleri istatistiksel bir farklılık göstermemekle birlikte; ortalama değerleri sırasıyla %101,67 ve %101,97 düzeyindedir (Tablo 4.14).

Tablo 4.14 *P. lanceolata* Tolerans İndeksleri (%) (g K.A. /g. K.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P. lanceolata</i> Tolerans İndeksleri (%)		
T. Ü. Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	98,41	\pm 10,108a
NP-Zn	94,18	\pm 13,463a
H-Zn	115,91	\pm 9,309a
Toplam	101,67	\pm 6,505a
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	98,76	\pm 14,169a
NP-Zn	113,96	\pm 8,450a
H-Zn	91,79	\pm 4,997a
Toplam	101,97	\pm 6,527a



Şekil 4.5 *P. major* ve *P. lanceolata* türlerinin tolerans indeksi (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:5).

4.2.NANOPARTİKÜLER VE HACİMSEL ÇİNKO OKSİT UYGULAMALARININ KÜLTÜR ORTAMLARINA ETKİSİ

4.2.1. Kültür Ortamlarının pH Ölçümleri

P. major bitkilerinin pH değerlerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan $p < 0,005$ düzeyinde bir farklılık olduğu görülmüştür (Tablo 4.15). Hacimsel Zn uygulamasının pH düzeyi, kontrol grubuna kıyasla %2,54 oranında artış göstermiştir. Nanopartiküler çinko uygulaması ise kontrol grubuna göre %2,73 oranında bir artış sergilediği ortaya konmuştur. Nanopartiküler Zn uygulamasının pH düzeyi hacimsel Zn uygulamasına göre yaklaşık %2,8 oranında artmış olup, tüm grupların ortalama pH değerleri sırasıyla Kontrol < H-Zn < NP-Zn şeklindedir.

Tablo 4.15 *P. major* pH ölçümleri (Standart Hata: \pm ($P < 0,005$), N:5).

<i>P.major</i> Kültür Ortamlarının pH Ölçümleri		
pH	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	9,05	$\pm 0,053c$
NP-Zn	9,54	$\pm 0,015a$
H-Zn	9,28	$\pm 0,043b$
Toplam	9,29	$\pm 0,058$

P. lanceolata kontrol ile NP-Zn uygulamaları arasında $P < 0,001$ ve kontrol ile H-Zn uygulamaları arasında $p < 0,01$ düzeylerinde korelasyon olduğu ortaya konmuştur (Tablo 4.16). Nanopartiküler ve hacimli Zn uygulama grupları arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir. Kontrol grubunun pH düzeyi NP-Zn uygulama gruplarına kıyasla %2,94 oranında; H-Zn uygulama gruplarına kıyasla %2,05 oranında daha düşüktür. Tüm grupların ortalama pH değerleri sırasıyla Kontrol < H-Zn < NP-Zn şeklindedir.

Tablo 4.16 *P. lanceolata* pH ölçümleri (Standart Hata: \pm (*: $P < 0,01$), (**: $P < 0,001$), N:5).

<i>P.lanceolata</i> Kültür Ortamlarının pH Ölçümleri		
pH	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	9,24	$\pm 0,025b$
NP-Zn	9,52	$\pm 0,020a^{**}$
H-Zn	9,43	$\pm 0,051a^*$
Toplam	9,39	$\pm 0,039$

4.2.2. Kültür Ortamlarının Elektriksel İletkenliği (mS / cm)

İki türün kültür ortamlarında elektriksel iletkenlik düzeyleri açısından kontrol ve uygulama grupları arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır.

P. major kültür ortamlarının ortalama elektriksel iletkenlik düzeyleri 0,038-0,044mS/ cm arasında değişim göstermektedir (Tablo 4.17).

Tablo 4.17 *P. major* kültür ortamlarının elektriksel iletkenliği (mS / cm), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P.major</i> Kültür Ortamlarının Elektriksel İletkenliği (mS/ cm)		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,044	\pm 0,003a
NP-Zn	0,038	\pm 0,002a
H-Zn	0,038	\pm 0,002a
Toplam	0,040	\pm 0,001

P. lanceolata türünün yetiştirme ortamından elde edilen verilerinde gruplar arası p<0,05 düzeyinde anlamlı bir farklılık bulunmamakla birlikte, elektriksel iletkenlik değerleri ortalama olarak 0,040- 0,045 mS/ cm arası değişim göstermektedir (Tablo 4.18).

Tablo 4.18 *P. lanceolata* kültür ortamlarının elektriksel iletkenliği (mS / cm), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P.lanceolata</i> Kültür Ortamlarının Elektriksel İletkenliği (mS/ cm)		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,040	\pm 000a
NP-Zn	0,045	\pm 003a
H-Zn	0,040	\pm 000a
Toplam	0,042	\pm 001a

4.2.3. Kùltür Ortamlarının Bağıl Su İçeriği (%)

İki türün kök ve toprak üstü organlarının bağıl su içeriklerinde, gruplar arası istatistiksel bir farklılık bulunmadığı ortaya konmuştur (Şekil 4.6).

P. major türünün kontrol ve uygulama gruplarının yetiştirme ortamlarında toplam ortalama değerleri % 45 olarak bulunmuştur (Tablo 4.19).

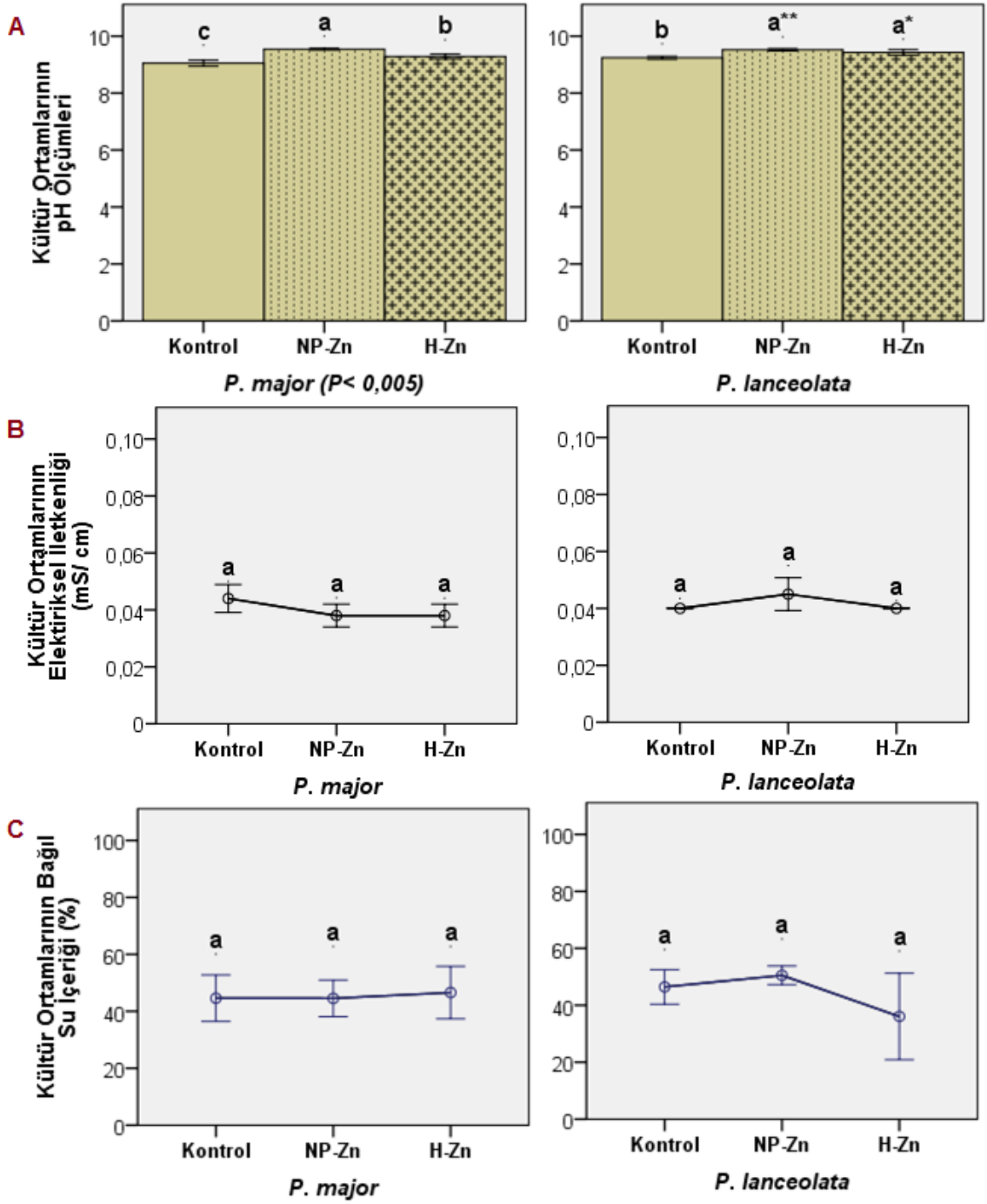
Tablo 4.19 *P. major* kùltür ortamlarının bağıl su içerikleri (%), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P.major</i> Kùltür Ortamlarının Bağıl Su İçeriği (%)		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	45	\pm 4,1a
NP-Zn	45	\pm 3,2a
H-Zn	47	\pm 4,6a
Toplam	45	\pm 2,2

P. lanceolata türünün kontrol ve uygulama gruplarının toplam ortalama bağıl su yüzdeleri ortalama %44 olarak bulunmuştur (Tablo 4.20).

Tablo 4.20 *P. lanceolata* kùltür ortamlarının bağıl su içerikleri (%), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:5).

<i>P.lanceolata</i> Kùltür Ortamlarının Bağıl Su İçeriği (%)		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	46	\pm 3,0a
NP-Zn	51	\pm 1,6a
H-Zn	36	\pm 7,6a
Toplam	44	\pm 3,0



Şekil 4.6 *P. major* ve *P. lanceolata* kùltür ortamlarının pH ölçümleri (*P. major*: (P<0,005), *P. lanceolata*: (*: P<0,01), (**: P<0,001) (A), elektriksel iletkenlik ölçümleri (B) ve bağıl su içeriği (C), (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:5).

4.3. NANOPARTİKÜLER VE HACİMSEL ÇİNKO UYGULAMALARININ BİTKİ KISIMLARI VE KÜLTÜR ORTAMLARINDA BAZI BESİN ELEMENTLERİNİN BİRİKİMLERİNE OLAN ETKİLERİ

4.3.1. Nanopartiküler ve Hacimsel Çinko Uygulamalarının Bazı Makro Besin Elementlerinin (Ca, K, Mg) Birikimlerine Olan Etkileri

4.3.1.1. Kalsiyum (Ca) Ölçümleri (mg/ kg)

P. major bitki türünün toprak üstü organlarında Zn uygulamalarının Ca birikimini negatif yönde etkilediği görülmüştür (Tablo 4.21). Nanopartiküler Zn uygulaması kontrole göre kalsiyum alımını %18,97 oranında, hacimsel Zn uygulamasının ise %20,75 oranında azaltmıştır. Kontrol ile uygulamalar arasındaki bu farklılıklar $P < 0,001$ düzeyindedir. Nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulamalarının Ca alımına etkilerindeki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

P. major türünün gruplarındaki kök numunelerinde Ca birikimine bakıldığında (Tablo 4.21), nanopartiküler Zn uygulamasının Ca konsantrasyonunu kontrol grubuna nazaran % 7,21 oranında arttırdığı ve Ca elementinin kökten toprak üstü organlarına geçişini engellediği görülmüştür. Köklerde ki bu farklılık istatistiksel açıdan $P < 0,001$ düzeyinde anlamlıdır. Hacimsel Zn uygulamasının Ca alımına etkisini kontrol grubuyla kıyasladığımızda istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmamaktadır. Nanopartiküler Zn uygulamalarının kökte kalsiyum birikimine etkisi, hacimsel çinko uygulama grubuna kıyasla $P < 0,002$ düzeyinde olup, kalsiyum emilimi %4,96 oranında daha yüksektir.

P. major kültür ortamlarında biriken kalsiyum miktarlarına bakıldığında (Tablo 4.21), hacimsel Zn uygulanan grubun saksılarında diğer gruplara kıyasla daha yüksek oranda birikim olduğu görülmüştür. Bu farklılık $P < 0,001$ istatistiksel düzeyde olup, kontrol grubuna kıyasla %39,91 oranında, nanopartiküler Zn uygulanan gruba kıyasla %37,45'lik bir artış sergilemektedir. Hacimsel çinko uygulaması kalsiyumun kültür ortamından köklere alınımını büyük ölçüde engellediği görülmüştür. Nanopartiküler Zn uygulamalarının, kontrole göre kültür ortamlarında ölçülen Ca birikimine olan etkisi istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

Tablo 4.21 *P. major* türünün kalsiyum (Ca) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,002), (**:P<0,001), N:3).

<i>P.major</i> Kalsiyum (Ca) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	30994	\pm 336a**
NP-Zn	25116	\pm 237b
H-Zn	25667	\pm 163b
Toplam	27259	\pm 946
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	3723	\pm 15,04b**
NP-Zn	3991	\pm 34,35a
H-Zn	3803	\pm 34,58b*
Toplam	3839	\pm 42,43
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	2003	\pm 10,78b
NP-Zn	2039	\pm 18,24b
H-Zn	2802	\pm 7,94a**
Toplam	2281	\pm 130,5

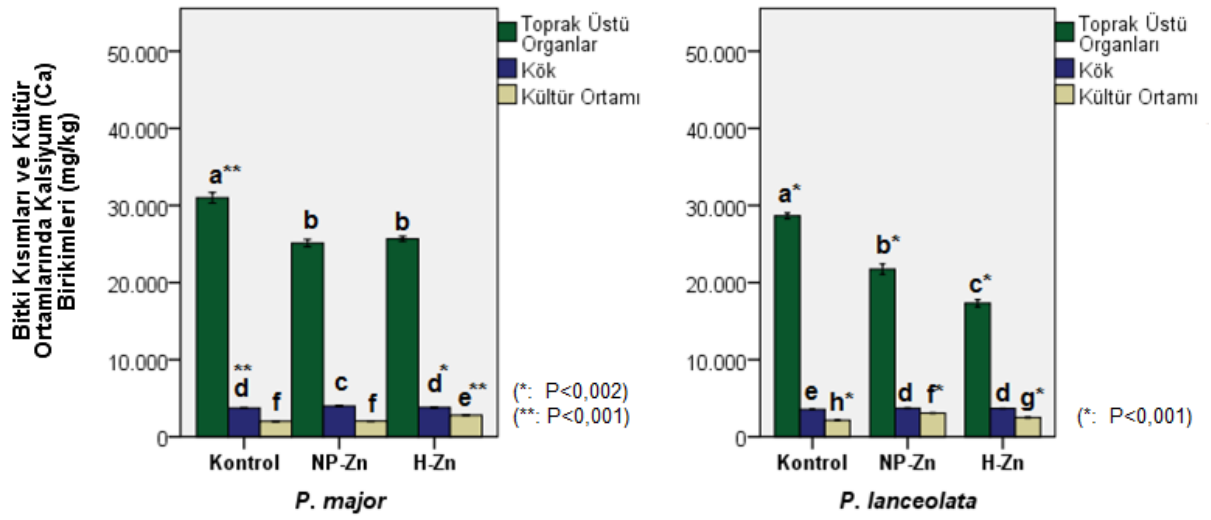
P. lanceolata türü kontrol ve uygulama gruplarından elde edilen verilere bakıldığında, Zn uygulamalarının toprak üstü organlarda Ca alımlarına olan etkileri P<0,001 seviyesinde farklılıklar oluşturduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.22). Nanopartiküler Zn uygulamaları toprak üstü organlarda Ca emilimini, kontrole göre %24,11 oranında, hacimsel Zn uygulamaları ise %39,56 oranında azaltmıştır. Hacimsel uygulamanın azaltıcı etkisi nanopartiküler uygulamaya kıyasla %20,36 oranında daha yüksektir.

P.lanceolata gruplarının köklerinde biriken Kalsiyum düzeylerinde bakıldığında, hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulamalarının Ca elementinin kökten toprak üstü organlara geçişini engellediği ve kökte birikmesine neden olduğu görülmüştür (Tablo 4.22). Kontrole kıyasla kalsiyum birikimi hacimsel uygulamada %3,7 oranında, nanopartiküler uygulamada ise %4,42 düzeyde arttığı görülmüştür. Nanopartiküler uygulamanın, hacimsel uygulamaya göre köklerde kalsiyum birikimine olan etkisi istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

P.lanceolata kültür ortamlarında kalsiyum birikimine bakıldığında çinko uygulamalarının köklere doğru kalsiyum alımını inhibe ettiği ve kültür ortamlarında Ca birikimin artmasına neden olduğu görülmüştür (Tablo 4.22). Gruplar arası farklılıklar $P<0,001$ düzeyinde istatistiksel bir anlamlılık taşımaktadır. Kontrole kıyasla nanopartiküler uygulama kalsiyum birikimini %43,32 oranında, hacimsel Zn uygulama ise %16,63 oranında arttırmıştır. Nanopartiküler çinko uygulaması kültür ortamlarında Ca konsantrasyonunu hacimsel uygulamaya göre %22,89 oranında daha fazla yükseltmiş ve kökten alımını engellemiştir.

Tablo 4.22 *P. lanceolata* türünün kalsiyum (Ca) Ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm ($P<0,05$), (*: $P<0,001$), N:3).

<i>P.lanceolata</i> Kalsiyum (Ca) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	28644	$\pm 188a^*$
NP-Zn	21739	$\pm 329b^*$
H-Zn	17313	$\pm 237c^*$
Toplam	22565	± 1653
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	3542	$\pm 36,5b$
NP-Zn	3698	$\pm 27,2a$
H-Zn	3672	$\pm 16,5a$
Toplam	3637	± 28
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	2145	$\pm 10,96c$
NP-Zn	3074	$\pm 26,38a$
H-Zn	2502	$\pm 38,62b$
Toplam	2574	$\pm 136,03$



Şekil 4.7 *P. major* (*: P<0,002), (**: P<0,001)) ve *P. lanceolata* (*: P<0,001) türlerinde kalsiyum (Ca) ölçümleri (Hata Çubukları: ± Standart Hata (P<0,05), N:3).

4.3.1.2. Potasyum (K) Ölçümleri (mg/ kg)

P. major toprak üstü organlarında potasyum birikimine bakıldığında, hacimsel Zn uygulamasının K elementinin konsantrasyonunu arttırdığı ancak nanopartiküler Zn uygulamasının ise tam tersi yönünde köklerden toprak üstü organlara potasyum alımını azalttığı kaydedilmiştir (Tablo 4.23). Hacimsel uygulama kontrole kıyasla K alımını %4,91 oranında yükseltmiştir. Nanopartiküler uygulama P<0,001 düzeyinde kontrol grubuna kıyasla K alımını %13,66 oranında, hacimsel uygulamaya göre ise %17,71 oranında azaltıcı bir etkide bulunduğu görülmüştür.

P. major türünün kök örneklerinde yapılan ölçümlere göre gruplar arası potasyum birikimlerinde meydana gelen istatistiksel farklılıklar P<0,05 düzeyinde önemsiz bulunmuştur (Tablo 4.23). Ortalama potasyum değerlerine göre gruplar H-Zn > Kontrol > NP-Zn şeklinde sıralanmaktadır.

P. major kültür ortamlarında potasyum birikimlerindeki farklılıklar gruplar arasında $P < 0,001$ düzeyindedir (Tablo 4.23). Uygulama gruplarının kültür ortamlarında ki potasyum konsantrasyonu kontrol grubuna nazaran daha yüksektir. Hacimsel Zn uygulaması, K birikimini kontrol grubuna kıyasla %30,04 oranında, NP-Zn uygulaması ise %12,54 oranında yükselttiği görülmüştür. Potasyum konsantrasyonunun artmasında hacimsel Zn uygulaması daha etkili olmakla birlikte bu etki nanopartiküler gruba göre %15,41 oranında daha yüksek bir birikime neden olmuştur.

Tablo 4.23 *P. major* türünün potasyum (K) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm ($P < 0,05$), (*: $P < 0,001$), N:3).

<i>P. major</i> Potasyum (K) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	11272	$\pm 125b$
NP-Zn	9731	$\pm 24c^*$
H-Zn	11825	$\pm 85a$
Toplam	10943	± 316
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	8484	$\pm 28a$
NP-Zn	8436	$\pm 24a$
H-Zn	8779	$\pm 82a$
Toplam	8566	± 60
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	406,3	$\pm 3,3c^*$
NP-Zn	457,3	$\pm 1,6b^*$
H-Zn	528,4	$\pm 6,0a^*$
Toplam	464,0	$\pm 17,8$

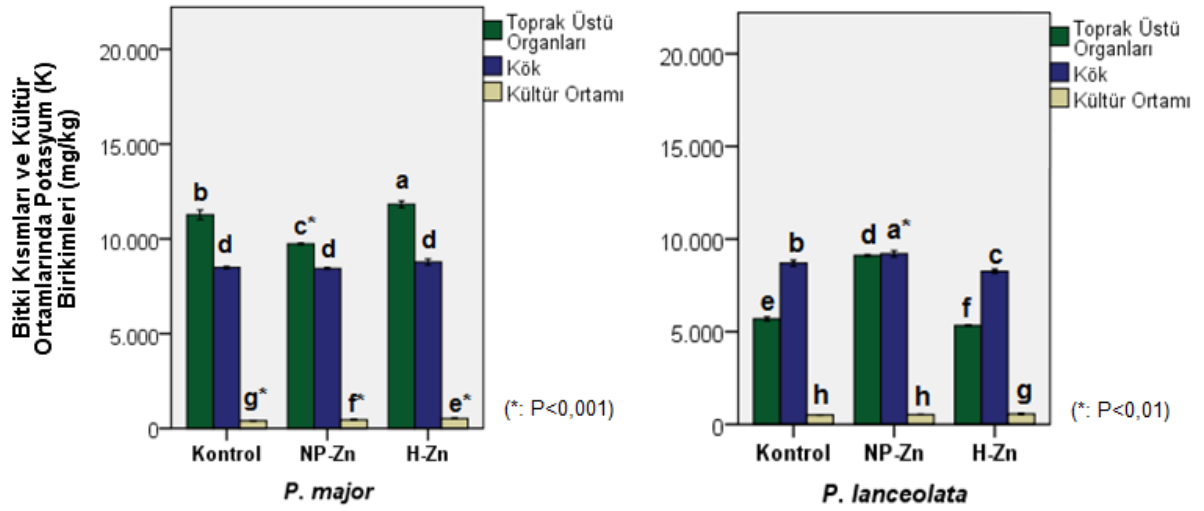
P. lanceolata kontrol ve uygulama gruplarının toprak üstü organlarında potasyum birikimine bakıldığında, NP-Zn uygulamasının toprak üstü organlarında K birikimini teşvik ettiği ancak H-Zn uygulamasının ise tam tersi yönde potasyum birikimine azaltıcı bir etkide bulunduğu görülmüştür (Tablo 4.24). Kontrol grubuna kıyasla nanopartiküler Zn uygulaması toprak üstü organlarda potasyum konsantrasyonunu %60,05 oranında arttırdığı ancak hacimsel Zn uygulamasının ise %6,33 oranında azalttığı bulunmuştur. Nanopartiküler Zn uygulanan grupta bulunan potasyum konsantrasyonu, hacimsel Zn uygulanan gruba göre %70,88 oranında daha yüksektir.

P. lanceolata kök örneklerinden elde edilen verilere göre potasyum konsantrasyonu, NP-Zn uygulama grubunda artış gösterdiği ancak tam tersi yönünde H-Zn uygulama grubunda ise azalma gösterdiği kaydedilmiştir (Tablo 4.24). Köklerde en yüksek K birikimine sahip olan grup nanopartiküler Zn uygulamalarıdır ve diğer gruplar ile arasındaki farklılıklar $P < 0,009$ düzeyinde anlamlıdır. Kontrol grubuna göre nanopartiküler Zn uygulaması, potasyum birikimini %5,79 oranında, hacimsel Zn uygulamasına göre ise %11,37 oranında arttırdığı görülmüştür. Kontrol grubuna kıyasla hacimsel Zn uygulamaları ise tam tersi yönünde %5,01 oranında potasyum birikimi üzerinde azaltıcı bir etkide bulunduğu kaydedilmiştir.

P.lanceolata kültür ortamlarında en yüksek K birikimine sahip olan grup H-Zn uygulaması yapılan saksılardır (Tablo 4.24). Hacimsel Zn uygulama grubuna göre kültür ortamlarındaki K birikimi, nanopartiküler Zn uygulanan grupta %6,51 oranında bir azalma olduğu bulunmuştur. Her iki Zn uygulaması, kontrol grubuna göre kültür ortamlarında potasyum birikimini arttırıcı bir etkide bulunmuştur; ancak kontrol ve NP-Zn uygulanan gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsizdir. Hacimsel uygulama grubunun kontrol grubuna göre kültür ortamlarında potasyum birikimini %10,96 oranında yükselttiği görülmüştür.

Tablo 4.24 *P. lanceolata* türünün potasyum (K) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm ($P < 0,05$), (*: $P < 0,01$), N:3).

<i>P.lanceolata</i> Potasyum (K) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	5691	$\pm 52b$
NP-Zn	9109	$\pm 29a$
H-Zn	5331	$\pm 20c$
Toplam	6710	± 602
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	8696	$\pm 81b$
NP-Zn	9200	$\pm 84a^*$
H-Zn	8261	$\pm 60c$
Toplam	8719	± 141
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	505	$\pm 4,3b$
NP-Zn	524	$\pm 1,8b$
H-Zn	560	$\pm 8,9a$
Toplam	530	$\pm 8,6$



Şekil 4.8 *P. major* (*: $P < 0,001$) ve *P. lanceolata* (*: $P < 0,01$) türlerinde potasyum (K) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P < 0,05$), N:3).

4.3.1.3. Magnezyum (Mg) Ölçümleri (mg/kg)

P. major toprak üstü organlarında en yüksek magnezyum birikimi kontrol grubuna ait olmakla birlikte Zn uygulamaları Mg alımını negatif yönde etkilemiştir (Tablo 4.25). Kontrol grubuna kıyasla NP-Zn uygulanan grubun toprak üstü organlarında Mg birikimi %4,62 oranında; H-Zn uygulanan grupta ise %9,97 oranında azaldığı görülmektedir. Gruplar arasında istatistiksel açıdan $P \leq 0,05$ oranında anlamlı bir farklılık mevcuttur. Hacimsel Zn uygulanan grupların toprak üstü organlarında en düşük Mg birikimi görülmekle birlikte, NP-Zn uygulamalarına kıyasla Mg emilimini %5,61 oranında azaltmıştır.

P. major kök örneklerinde en yüksek Mg birikimi H-Zn uygulanan grupta gözlenmiştir (Tablo 4.25). Hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulamalarının Mg birikimine olan etkileri istatistiksel açıdan $P < 0,005$ düzeyinde farklılık göstermiştir. H-Zn uygulanan grubun köklerinde Mg birikimi, NP-Zn uygulanan gruba nazaran %2,73 oranında daha yüksektir. Kontrol grubundaki Mg miktarı, uygulama grupları ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan bir farklılık teşkil etmese de iki gruba nazaran daha düşük düzeyde olduğu görülmüştür. Nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulanan gruplarda Mg elementi kökten toprak üstü organlara geçişi azalmış ve kökte birikme yoluna gitmiştir.

P. major kültür ortamlarında en yüksek Mg birikimi H-Zn grubunda gözlenmiştir (Tablo 4.25). Gruplar arasında $P < 0,05$ düzeyinde bir farklılık gözlenmekle birlikte, H-Zn uygulanan gruplarda Mg birikimi kontrol grubuna kıyasla %18,24 oranında ve NP-Zn uygulanan grupta ise %13,55 oranında bir artış sergilemiştir. Çinko uygulamalarında Mg elementinin toprak üstü organlarına geçişini büyük bir oranda engellemesinin yanısıra kültür ortamlarından köklere doğru alınımını da azalttığı görülmüştür. Hacimsel Zn uygulanan grubun kültür ortamlarındaki Mg birikimi, NP-Zn uygulamasına kıyasla %4,12 oranında daha yüksek düzeydedir.

Tablo 4.25 *P. major* türünün magnezyum (Mg) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm ($P < 0,05$), (*: $P < 0,005$), N:3).

<i>P. major</i> Magnezyum (Mg) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	2249	$\pm 13a$
NP-Zn	2145	$\pm 15b$
H-Zn	2025	$\pm 27c$
Toplam	2140	± 34
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	2631	$\pm 37ab$
NP-Zn	2754	$\pm 6b^*$
H-Zn	2829	$\pm 7a^*$
Toplam	2738	± 31
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	848	$\pm 5,4c$
NP-Zn	962	$\pm 8,2b$
H-Zn	1002	$\pm 6,4a$
Toplam	937	$\pm 23,4$

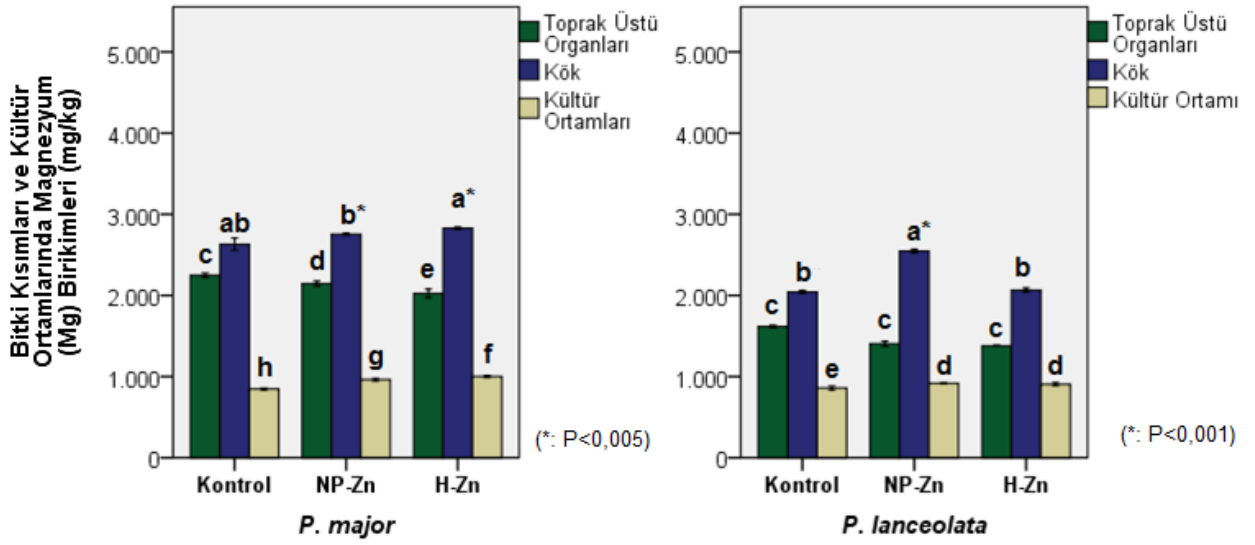
P. lanceolata toprak üstü organlarında en yüksek magnezyum birikimi kontrol grubunda gözlenmekte; ancak gruplar arasındaki birikim farklılıkları istatistiksel açıdan önemsizdir (Tablo 4.26). Ortalama Mg değerleri 1380 - 1617 mg/kg arasında değişmektedir. Toprak üstü organlarında ortalama birikim düzeylerine bakıldığında Zn uygulamaları Mg alımını negatif yönde etkilemiştir.

P. lanceolata köklerinde en yüksek Mg birikimi nanopartiküler Zn uygulama gruplarında görülmüştür (Tablo 4.26). Kontrol ve H-Zn uygulama gruplarının köklerinde ölçülen Mg birikimleri arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Ancak nanopartiküler çinko uygulanan köklerde Mg birikimi diğer gruplara kıyasla $P<0,001$ düzeyinde bir farklılık tespit edilmiştir. NP-Zn uygulaması köklerde Mg birikimini kontrole göre %24,74 oranında, hacimsel Zn uygulamasına göre ise %28,29 oranında yükseltmiştir. Nanopartiküler Zn uygulama grubu diğer gruplara göre köklerde Mg birikimini artırmıştır.

P. lanceolata kültür ortamlarında en yüksek Mg birikimi nanopartiküler Zn uygulanan grupta görülmüştür (Tablo 4.26). Hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulamalarının birbirlerine göre kültür ortamlarında Mg birikimine olan etkileri istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kültür ortamlarında Mg birikimi H-Zn uygulanan grupta %5,23 oranında, NP-Zn uygulanan grupta ise %6,51 oranında bir artış sergilemiştir. Nanopartiküler çinko uygulamasının kökten toprak üstü organlara ve kültür ortamlarından köklere doğru Mg alımını azalttığı görülmüştür.

Tablo 4.26 *P. lanceolata* türünün magnezyum (Mg) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm ($P<0,05$), (*: $P<0,001$), N:3).

<i>P.lanceolata</i> Magnezyum (Mg) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	1617	$\pm 8a$
NP-Zn	1404	$\pm 16a$
H-Zn	1380	$\pm 4a$
Toplam	1467	± 39
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	2042	$\pm 9b$
NP-Zn	2547	$\pm 12a^*$
H-Zn	2066	$\pm 13b$
Toplam	2219	± 83
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	860,65	$\pm 11,220b$
NP-Zn	916,98	$\pm 3,383a$
H-Zn	905,66	$\pm 9,380a$
Toplam	894,43	$\pm 9,631$



Şekil 4.9 *P. major* (*: $P < 0,005$) ve *P. lanceolata* (*: $P < 0,001$) türlerinde magnezyum (Mg) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P < 0,05$), N:3).

4.3.2. Nanopartiküler ve Hacimsel Çinko Uygulamalarının Bazı Mikro Besin Elementlerinin (Mn, Fe) Birikimlerine Olan Etkileri

4.3.2.1. Manganez (Mn) Ölçümleri (mg/kg)

P. major toprak üstü organlarında en yüksek manganez birikimi kontrol grubunda bulunmuştur (Tablo 4.27). Çinko uygulamaları toprak üstü organlarına Mn alımına negatif bir etkide bulunduğu görülmüştür. Kontrol grubuna kıyasla nanopartiküler Zn uygulama grubunda Mn birikimi %17,36 oranında ve hacimsel Zn uygulama grubunda ise %14,63 oranında azaltıcı bir etkide bulunduğu kaydedilmiştir. Hacimsel ve nanopartiküler çinko uygulamalarının toprak üstü organlarda Mn birikimlerine olan etkileri arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

P. major köklerinde en yüksek Mn birikimi kontrol grubunda ölçülmüştür. Kök ölçümlerinde gruplar arası Mn birikimlerinde görülen farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı olmakla birlikte özellikle nanopartiküler Zn uygulamalarında Mn seviyesi diğer gruplara kıyasla $P < 0,001$ düzeyinde bir farklılık sergilemektedir (Tablo 4.27). NP-Zn uygulamalarının köklerde Mn birikimini kontrol grubuna kıyasla %22,15 oranında, H-Zn uygulanan gruba

göre ise %18,47 oranında azaltıcı bir etkide bulunduğu görülmüştür. Çinko uygulamalarının toprak üstü organlarda Mn birikiminde azaltıcı bir etkisi olduğu kaydedilmiştir. Hacimsel Zn uygulama grubu Mn birikimi kontrol grubuna kıyasla %4,52 oranında azalmıştır. *P. major* köklerinde Mn birikimlerine göre gruplar sırasıyla, NP-Zn <H-Zn <Kontrol şeklinde sıralanmıştır.

P. major kültür ortamlarında en yüksek mangan birikimi hacimsel çinko uygulanan grupta görülmüştür (Tablo 4.27). Kontrol ve çinko uygulamalarının kültür ortamlarındaki mangan birikimine olan etkileri istatistiksel açıdan $P < 0,001$ düzeyinde farklılık göstermektedir. Kontrol grubuna kıyasla H-Zn uygulanan grup %29,23 oranında, NP-Zn uygulama grubunun ise %11,2 oranında kültür ortamlarında Mn birikimini arttırdığı ve bitki köklerine geçişini azaltıcı bir etkide bulunduğu görülmüştür. Hacimsel Zn uygulama grubunun kültür ortamlarında Mn birikimi NP-Zn uygulama grubuna kıyasla %16,22 oranında daha yüksek düzeydedir. Çinko uygulama gruplarının kontrol grubuna kıyasla mangan elementinin köklerden alımı ve toprak üstü organlara iletilmesini engelleyici bir etkide bulunduğu ortaya konmuştur.

Tablo 4.27 *P. major* türünün (Mn) ölçümleri (mg/kg),
(Standart Hata: \pm (P<0,05),(*: P<0,001), N:3).

<i>P.major</i> Mangan (Mn) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	54,90	$\pm 1,102a$
NP-Zn	45,37	$\pm 0,318b$
H-Zn	46,87	$\pm 0,233b$
Toplam	49,04	$\pm 1,518$
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	114,23	$\pm 0,504a$
NP-Zn	88,93	$\pm 1,562c^*$
H-Zn	109,07	$\pm 0,933b$
Toplam	104,08	$\pm 3,897$
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	107,17	$\pm 0,612c^*$
NP-Zn	119,17	$\pm 0,406b^*$
H-Zn	138,50	$\pm 0,666a^*$
Toplam	121,61	$\pm 4,573$

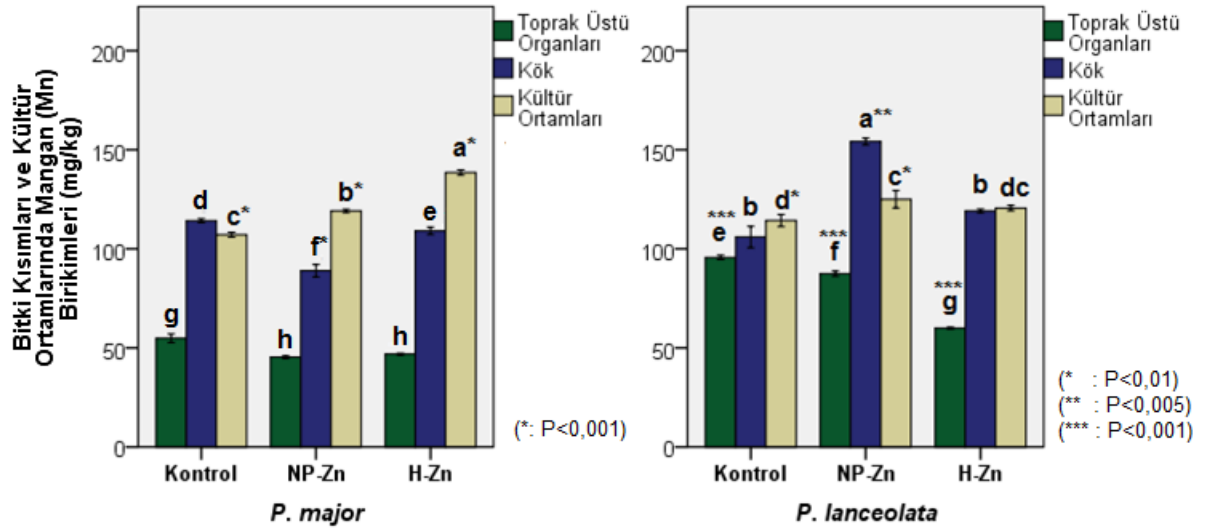
P. lanceolata toprak üstü organlarında en yüksek mangan birikimi kontrol grubundadır. Çinko uygulamaları toprak üstü organlarında Mn birikimine azaltıcı bir etkide bulunmakla birlikte gruplar arasındaki değerler $P < 0,001$ düzeyinde farklılık göstermektedir (Tablo 4.28). Kontrol grubuna göre hacimsel Zn uygulamaları Mn akümülyasyonunu %41,06 oranında; nanopartiküler Zn uygulamaları ise %8,58 oranında azalttığı kaydedilmiştir. *P. major* toprak üstü organlarında en düşük Mn birikimi H-Zn uygulamasında ölçülmüş; NP-Zn uygulamasına göre %31,42 oranında düştüğü gözlenmiştir.

P. lanceolata köklerinde en yüksek Mn birikimi nanopartiküler çinko uygulanan grupta ölçülmekle birlikte; bu gruptaki Mn birikimi diğer gruplara kıyasla $P < 0,005$ düzeyinde farklılık göstermektedir (Tablo 4.28). Nanopartiküler Zn uygulama grubunun köklerinde Mn konsantrasyonu kontrol grubuna kıyasla %45,44 oranında; hacimsel Zn uygulama grubuna göre ise %29,38 oranında yükseldiği görülmüştür. Kontrol ve H-Zn uygulama grubu arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmamıştır. NP-Zn uygulaması Mn birikimini köklerde arttırdığı ve toprak üstü organlarına geçişini azalttığı ortaya konmuştur.

P.lanceolata kültür ortamlarında en yüksek Mn birikimi nanopartiküler Zn uygulama gruplarında ölçülmüştür (Tablo 4.28). Hacimsel Zn uygulamasında ölçülen Mn konsantrasyon düzeyi, kontrol ve NP-Zn Uygulama gruplarıyla kıyaslandığında aradaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz çıkmakla birlikte; NP-Zn Uygulama grubu ile kontrol grupları arasındaki değişim $P < 0,01$ düzeyinde bir farklılık göstermektedir. NP-Zn uygulama grubunun kültür ortamlarındaki Mn birikiminin kontrol grubuna kıyasla %9,36 oranında daha yüksek olduğu kaydedilmiştir. Nanopartiküler Zn uygulaması kültür ortamlarında Mn birikimini arttırmakla birlikte köklere geçişini engelleyici bir etkide bulunduğu görülmüştür. *P. lanceolata* kültür ortamlarında Mn konsantrasyonuna göre gruplar sırasıyla; Kontrol < H-Zn < NP-Zn şeklinde dizilim göstermektedir.

Tablo 4.28 *P. lanceolata* türünün (Mn) ölçümleri (mg/kg),
(Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,001), N:3).

<i>P. lanceolata</i> Mangan (Mn) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	95,67	$\pm 0,547a^{***}$
NP-Zn	87,46	$\pm 0,647b^{***}$
H-Zn	59,98	$\pm 0,208c^{***}$
Toplam	81,04	$\pm 5,403$
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	105,99	$\pm 2,709b$
NP-Zn	154,15	$\pm 0,868a^{**}$
H-Zn	119,15	$\pm 0,452b$
Toplam	126,43	$\pm 7,233$
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	114,31	$\pm 1,499b^*$
NP-Zn	125,02	$\pm 2,208a^*$
H-Zn	120,58	$\pm 0,666ab$
Toplam	119,97	$\pm 1,745$



Şekil 4.10 *P. major* (*: P<0,001) ve *P. lanceolata* ((*: P<0,005), (***: P<0,001)) türlerinde mangan (Mn) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:3).

4.3.2.2. Demir (Fe) Ölçümleri (mg/kg)

P.major toprak üstü organlarda en yüksek demir konsantrasyonu kontrol grubunda ölçülmüştür (Tablo 4.29). Nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulamaları toprak üstü organlara demir alımını negatif yönde etkilemiştir. Kontrol grubuna kıyasla NP-Zn uygulaması toprak üstü organlarında Fe birikimini %54,59 oranında, H-Zn uygulaması ise %70,56 oranında azaltmıştır. En düşük demir alımı hacimsel Zn uygulamasında görülmekle birlikte; NP-Zn uygulamasına kıyasla %35,15 oranında negatif bir etkide bulunduğu görülmüştür. *P. major* toprak üstü organlarındaki Fe birikimleri $P<0,001$ düzeyinde bir farklılık göstermiştir.

P. major köklerinde Fe birikimi en yüksek kontrol grubundadır (Tablo 4.29). Köklerde Fe konsantrasyonları arasındaki farklılık $P<0,001$ düzeyindedir. Hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulamaları köklere demir alımını negatif yönde etkilemiştir. Köklerde nanopartiküler Zn uygulaması; kontrol grubuna göre %14,57 oranında, hacimsel Zn uygulaması ise %23,71 oranında Fe alımını azaltmıştır. En düşük Fe konsantrasyonu hacimsel Zn uygulanan grupta görülmekle birlikte, NP-Zn uygulama grubu ile kıyaslandığında %10,68 oranında Fe alımını azalttığı görülmüştür.

P.major kültür ortamlarına bakıldığında en yüksek Fe birikimi NP-Zn uygulama grubunda görülmüştür (Tablo 4.29). Nanopartiküler ve hacimsel uygulamaları birbirleriyle kıyasladığımızda kültür ortamlarındaki demir konsantrasyonları arasındaki farklılıklar önemsiz bulunmakla birlikte kontrol grubu ile aralarındaki farklılık düzeyi $P<0,001$ derecesindedir. Kontrol grubuna kıyasla kültür ortamlarında Fe konsantrasyonu; NP-Zn uygulanan grupta %10,4 oranında, H-Zn uygulanan grupta ise %8,94 oranında artış göstermiştir. Ortalama Fe birikim düzeylerine göre gruplar; Kontrol < H-Zn < NP-Zn şeklinde dizilim göstermektedir. Nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulamaları demir elementinin köklerden emilimini ve toprak üstü organlara doğru iletilmesine negatif bir etkide bulunmuştur.

Tablo 4.29 *P. major* türünün demir (Fe) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,001), N:3).

<i>P. major</i> Demir (Fe) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	326,13	\pm 4,599a*
NP-Zn	148,10	\pm 1,747b*
H-Zn	96,03	\pm 1,676c*
Toplam	190,09	\pm 34,864
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	1183,90	\pm 11,927a*
NP-Zn	1011,30	\pm 2,053b*
H-Zn	903,20	\pm 6,643c*
Toplam	1032,80	\pm 41,064
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	5384	\pm 30b*
NP-Zn	5944	\pm 42a
H-Zn	5865	\pm 21a
Toplam	5731	\pm 89

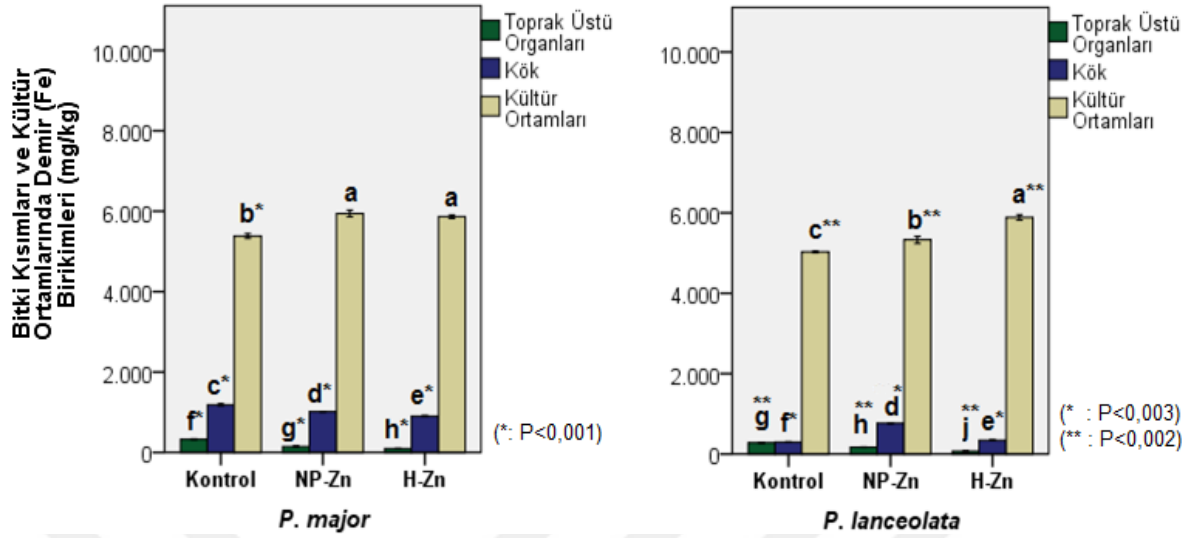
P. lanceolata toprak üstü organlarında gruplar arasındaki demir konsantrasyon düzeyleri $P<0,002$ derecesinde farklılık göstermiştir (Tablo 4.30). Toprak üstü organlarda en yüksek demir birikimi kontrol grubunda görülmekte ve Zn uygulamalarının Fe birikimine azaltıcı bir etkide bulunduğu ortaya konmuştur. Kontrol grubuna göre demir alımındaki düşüşler; NP-Zn uygulamasında %38,98 oranında ve H-Zn uygulamasında ise %75,71 oranındadır. *P. lanceolata* toprak üstü organlarında en düşük Fe birikimi H-Zn uygulama grubundadır. Nanopartiküler Zn uygulamalarına göre hacimsel Zn uygulama grupları toprak üstü organlarda Fe konsantrasyonunu %60,20 oranında azalttığı kaydedilmiştir.

P. lanceolata köklerinde en yüksek Fe birikimi NP-Zn uygulamasında görülmekle birlikte en düşük Fe konsantrasyonu kontrol grubunda ölçülmüştür (Tablo 4.30). Köklerde demir birikim düzeyleri incelendiğinde, gruplar arası bulunan istatistiksel farklılıklar $P<0,003$ düzeyindedir. Kontrol grubuna kıyasla köklerde Fe birikimi NP-Zn uygulanan grupta %159,66 oranında, H-Zn uygulanan grupta ise %16,53 oranında bir artış göstermiştir. Nanopartiküler Zn uygulama grubundaki Fe konsantrasyon artışı, hacimsel Zn uygulamasına göre yaklaşık 2 kat artış sergilemiştir. Hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulamalarının köklerden toprak üstü organlara Fe iletimini önemli ölçülerde inhibe etmekle birlikte köklerde akümülyasyon düzeylerini yükseltici bir etkide bulunduğu ortaya konulmuştur.

P. lanceolata kültür ortamlarındaki demir birikim ortalamaları arasındaki farklılıklar $P < 0,002$ düzeyinde bulunmuştur (Tablo 4.30). Kültür ortamlarındaki en yüksek Fe birikimi H-Zn uygulanan grupta gözlenirken, en düşük Fe konsantrasyonu kontrol grubundadır. Kontrol grubuna kıyasla kültür ortamlarında Fe birikim oranları; NP-Zn uygulanan grupta %5,98, H-Zn uygulanan grupta ise %17,05 düzeyinde artış sergilemektedir. Kültür ortamlarında hacimsel Zn uygulaması, nanopartiküler Zn uygulamasına kıyasla %10,45 oranında demir birikimini artırıcı bir etki gösterdiği kaydedilmiştir. Uygulama gruplarında Fe elementinin köklerden emilimi yüksek bir oranla inhibe edilmiştir.

Tablo 4.30 *P. lanceolata* türünün demir (Fe) ölçümleri
(Standart Hata: \pm ($P < 0,05$), (*: $P < 0,003$), (**: $P < 0,002$), N:3).

<i>P.lanceolata</i> Demir (Fe) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	279,7	$\pm 3,9a^{**}$
NP-Zn	170,7	$\pm 2,3b^{**}$
H-Zn	67,9	$\pm 0,4c^{**}$
Toplam	172,8	$\pm 30,6$
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	295,4	$\pm 2,5c^*$
NP-Zn	767,1	$\pm 5,0a^*$
H-Zn	344,3	$\pm 0,8b^*$
Toplam	468,9	$\pm 74,9$
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	5028	$\pm 9c^{**}$
NP-Zn	5329	$\pm 44b^{**}$
H-Zn	5886	$\pm 34a^{**}$
Toplam	5415	± 127



Şekil 4.11 *P. major* (*: $P < 0,001$) ve *P. lanceolata* ((*: $P < 0,003$), (**: $P < 0,002$)) türlerinde demir (Fe) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P < 0,05$), N:3).

4.4. BİTKİ KISIMLARI VE KÜLTÜR ORTAMLARINDA ÇİNKO ÖLÇÜMLERİ: AKÜMÜLASYON, TRANSLOKASYON VE BİYOKONSANTRASYON FAKTÖRLERİ

4.4.1. Çinko (Zn) Birikimleri (mg/kg)

P. major toprak üstü organlarında kontrol ve çinko uygulamaları arasında $P \leq 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farklılık mevcuttur (Tablo 4.31). Kontrol grubuna kıyasla; nanopartiküler Zn birikimi 3 kat, hacimsel Zn birikimi ise yaklaşık 4 kat daha yüksektir. Hacimsel Zn birikimi nanopartiküler gruba kıyasla yaklaşık %18,85 oranında daha yüksektir. Toprak üstü organlarında Zn birikim düzeylerine göre grupların dizilimi; H-Zn > NP-Zn > Kontrol şeklindedir.

P. major kontrol ve uygulama gruplarından ölçülen kök numunelerine göre uygulama gruplarında Zn birikiminde bir artış görülmektedir (Tablo 4.31). Bu artış istatistiksel açıdan $P < 0,001$ düzeyde bir farklılık teşkil etmektedir. Kontrole kıyasla çinko akümülyasyonu NP-Zn uygulanan grupta 2 kat, H-Zn uygulanan grupta ise yaklaşık 3 katlık bir artış sergilemektedir. Hacimsel Zn grubundaki artış, NP-Zn grubunda ölçülen birikimine göre yaklaşık 1,5 kat daha fazladır. Köklerde Zn birikim düzeylerine göre gruplar; H-Zn > NP-Zn > Kontrol şeklinde sıralanmaktadır.

P. major kültür ortamlarına bakıldığında nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulanan saksılarda ölçülen birikim, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 5 kat daha yüksektir. Bu farklılık istatistiksel açıdan $P < 0,001$ düzeydedir (Tablo 4.31). Nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulama gruplarında görülen Zn birikimleri arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

Tablo 4.31 *P. major* türünün çinko (Zn) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm ($P \leq 0,05$), (*: $P < 0,001$), N:3).

<i>P. major</i> Çinko (Zn) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	11,45	$\pm 0,135c$
NP-Zn	37,56	$\pm 0,175b$
H-Zn	44,64	$\pm 0,077a$
Toplam	31,22	$\pm 5,046$
<i>P. major</i> Çinko (Zn) Ölçümleri (mg/kg)		
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	37,16	$\pm 0,197c^*$
NP-Zn	76,84	$\pm 0,110b^*$
H-Zn	108,13	$\pm 0,675a^*$
Toplam	74,04	$\pm 10,270$
<i>P. major</i> Çinko (Zn) Ölçümleri (mg/kg)		
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	9,19	$\pm 0,064b^*$
NP-Zn	46,90	$\pm 0,132a$
H-Zn	48,48	$\pm 0,358a$
Toplam	34,86	$\pm 6,422$

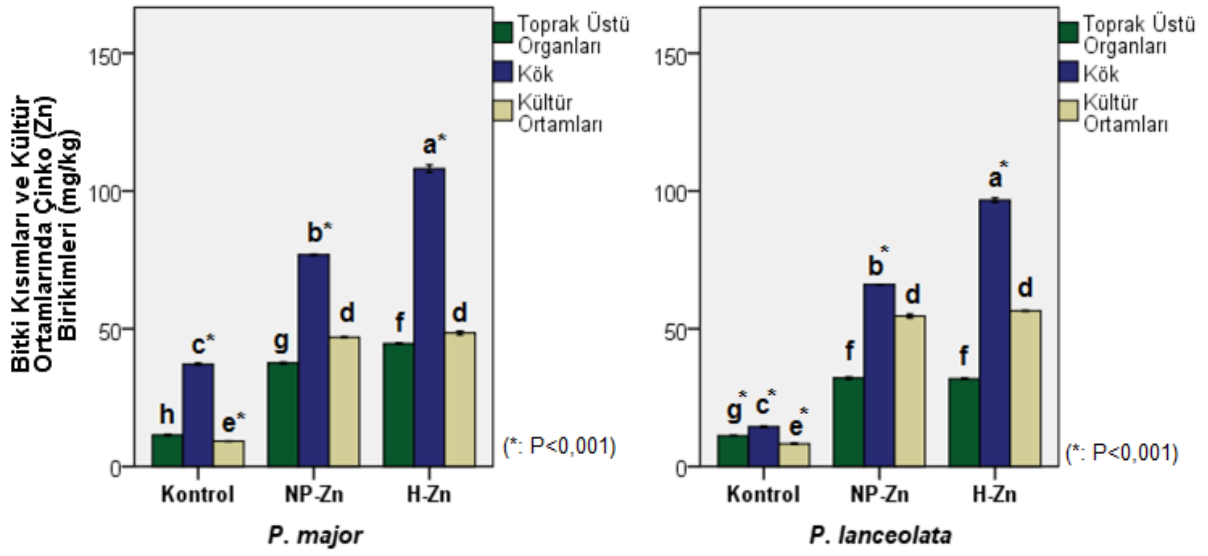
P. lanceolata kontrol ve uygulama grupları arası toprak üstü organlarında Zn birikimi $P < 0,001$ düzeyinde istatistiksel bir farklılık göstermektedir (Tablo 4.32). Nanopartiküler ve hacimsel Zn birikimi kontrol grubuna göre ortalama %32,01 oranında artış göstermiştir. Nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulama gruplarını birbirleri ile kıyasladığımızda birikim düzeylerinde ölçülen farklılıklar istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur.

P. lanceolata köklerinde ölçülen çinko birikimlerine bakıldığında, kontrol ve uygulama grupları arasında $P < 0,001$ düzeyinde istatistiksel bir farklılık bulunmuştur (Tablo 4.32). Nanopartiküler Zn uygulanan grupta görülen birikim; kontrol grubuna göre 4,5 kat artmıştır. Kontrol grubuna göre H-Zn uygulamalarında çinko artışı yaklaşık 6,7 kattır. Hacimsel grupta Zn birikimi nanopartiküler gruba göre yaklaşık 1,5 kat daha fazladır.

P. lanceolata kültür ortamlarına bakıldığında nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulanan saksılarda görülen birikim, kontrol grubuna kıyasla ortalama 6,7 kat daha yüksektir. Bu farklılık istatistiksel açıdan $P < 0,001$ düzeydedir (Tablo 4.32). Nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulama gruplarının akümülyasyon verileri arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan $P < 0,05$ düzeyinde önemsiz olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.32 *P. lanceolata* türünün çinko (Zn) ölçümleri (mg/kg), (Standart Hata: \pm ($P \leq 0,05$), (*: $P < 0,001$), N:3).

<i>P.lanceolata</i> Çinko (Zn) Ölçümleri (mg/kg)		
Toprak Üstü Organlar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	11,17	$\pm 0,034b^*$
NP-Zn	32,13	$\pm 0,206a$
H-Zn	31,88	$\pm 0,0316a$
Toplam	25,06	$\pm 3,473$
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	14,45	$\pm 0,139c^*$
NP-Zn	66,01	$\pm 0,061b^*$
H-Zn	96,66	$\pm 0,378a^*$
Toplam	59,04	$\pm 11,993$
Kültür Ortamı	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	8,28	$\pm 0,026b^*$
NP-Zn	54,62	$\pm 0,385a$
H-Zn	56,51	$\pm 0,097a$
Toplam	39,80	$\pm 7,887$

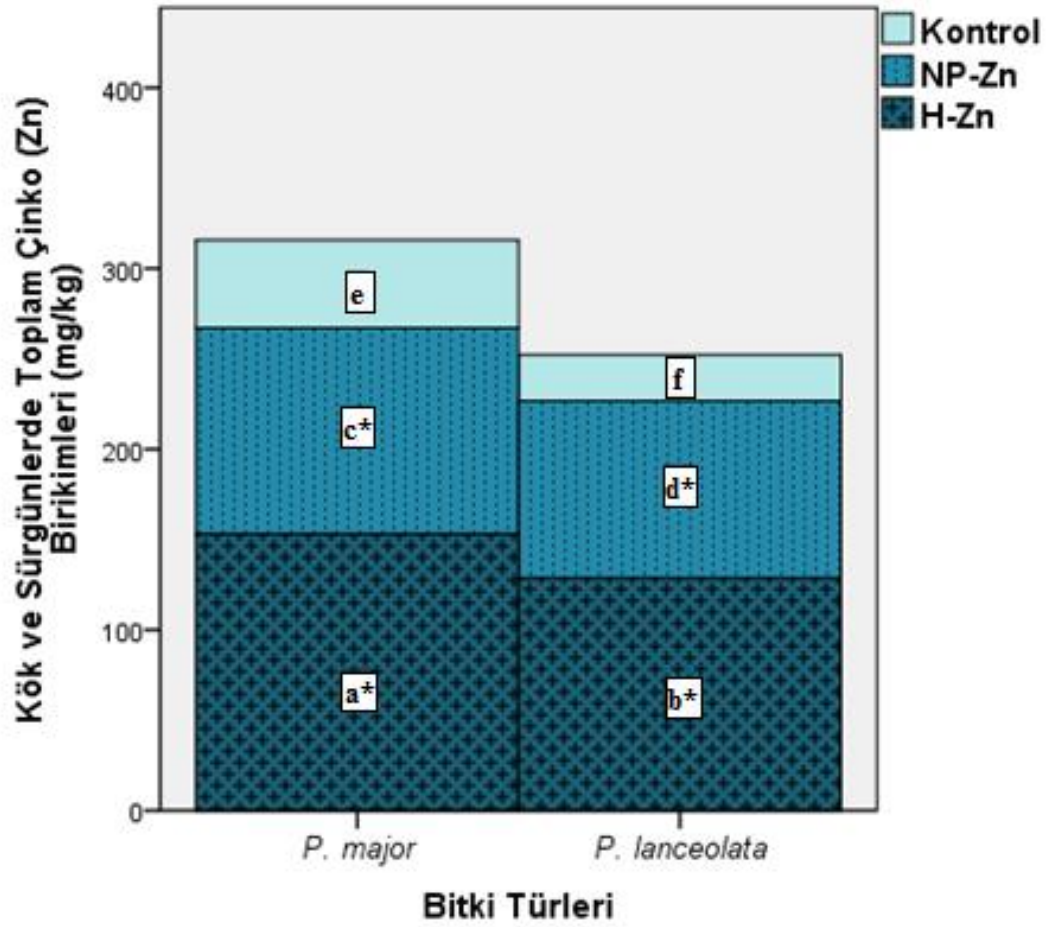


Şekil 4.12 *P. major* (*: P<0,001) ve *P. lanceolata* (*: P<0,001) türlerinde çinko (Zn) ölçümleri (Hata Çubukları: ± Standart Hata (P≤0,05), N:3).

P. major türlerinde ölçülen Zn seviyeleri, *P.lanceolata* türlerinden elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında; kontrol grubunda %89,66 düzeyinde, NP-Zn uygulama grubunda % 16,56 ve H-Zn uygulama grubunda ise %18,85 oranlarında daha yüksek seviyelerde birikim gösterdiği kaydedilmiştir (Tablo 4.33). Nanopartiküler ve hacimsel Zn birikimleri türler arasında P<0,0001 düzeyinde korelasyon göstermektedir.

Tablo 4.33 Kök ve Sürgünlerde Zn Ölçümleri (mg/kg)
(Standart Hata: ± (P<0,05), (*: P<0,0001), N:3).

Türler	Kontrol	NP-Zn	H-Zn
<i>P. major</i>	48,61 ± 0,1a	114,40 ± 0,2a*	152,77 ± 0,7a*
<i>P. lanceolata</i>	25,63 ± 0,2 b	98,15 ± 0,2b*	128,54 ± 0,4b*



Şekil 4.13 Kök ve Sürgünlerde Zn Ölçümleri ((mg/kg), ($P < 0,05$), (*: $P < 0,0001$), N:3).

4.4.2. Akümülayon Faktörleri (AF)

P. major akümülayon faktörlerinin gruplar arası farklılıkları $P < 0,0001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Tablo 4.34). En yüksek akümülayon faktörü kontrol grubunda olmakla birlikte; hacimsel uygulamalarda bu değer %40,43 oranında, nanopartiküler uygulamalarda ise %50,90 oranında düşüş göstermiştir. Hacimsel uygulama grubunun AF değeri nanopartikül uygulamaya kıyasla yaklaşık 1,3 kat daha fazladır. Tüm grupları akümülayon değerlerine göre en düşükten en yükseğe doğru sıralayacak olursak; NP-Zn < H-Zn < Kontrol şeklinde dizilim gösterir.

Tablo 4.34 *P. major* nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) akümülayon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,0001), N:3).

<i>P.major</i> Çinko (Zn) Akümülayon Faktörü (mg K.A./ mg K.A.)		
AF	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	5,291	\pm 0,044a*
NP-Zn	2,439	\pm 0,007c*
H-Zn	3,152	\pm 0,017b*
Toplam	3,627	\pm 0,429

P. lanceolata türünde en yüksek akümülayon faktörü yine kontrol grubunda olmakla birlikte gruplar arası farklılıklar P<0,0001 seviyesinde bulunmuştur (Tablo 4.35). Kontrole kıyasla akümülayon faktörleri; hacimsel uygulamada %26,54 oranında, nanopartiküler uygulamada ise %41,98 oranında düşüş göstermiştir. Hacimsel uygulamada AF değeri nanopartiküler uygulamaya göre yaklaşık 1,27 oranında daha yüksek bulunmuştur. *P. major* türüne nazaran *P. lanceolata* gruplarının akümülayon faktörleri daha düşük bulunmuştur. Grupların AF değerlerine göre sıralanışı NP-Zn < H-Zn < Kontrol şeklindedir.

Tablo 4.35 *P. lanceolata* nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) akümülayon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,0001)).

<i>P.lanceolata</i> Çinko (Zn) Akümülayon Faktörü (mg K.A./ mg K.A.)		
AF	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	3,097	\pm 0,028a*
NP-Zn	1,797	\pm 0,015c*
H-Zn	2,275	\pm 0,008a*
Toplam	2,390	\pm 0,190

4.4.3. Translokasyon (TF) ve Biyokonsantrasyon Faktörleri (BF)

P.major kontrol ve uygulama gruplarının Zn translokasyon faktörleri arasındaki değişimler P<0,0001 seviyesinde farklılık göstermektedir (Tablo 4.36). En yüksek Zn translokasyon faktörü nanopartiküler uygulama grubunda görülmekle birlikte, kontrol grubuna kıyasla %58,77 oranında bir artış sergilemiştir. Kontrol grubuna kıyasla hacimsel uygulamalarda Zn TF değerlerini ortalama %34,09 oranında artırdığı kaydedilmiştir. Gruplar arasında translokasyon faktörleri sırasıyla NP-Zn > H-Zn > Kontrol şeklindedir.

Tablo 4.36 *P. major* nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) translokasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,0001)).

<i>P. major</i> Çinko (Zn) Translokasyon Faktörleri (mg K.A./ mg K.A.)		
TF	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,308	\pm 0,005c*
NP-Zn	0,489	\pm 0,003a*
H-Zn	0,413	\pm 0,002b*
Toplam	0,403	\pm 0,026

P. major toprak üstü organlarının BF değerlerine bakıldığında, kontrol ve uygulama grubu arasındaki farklılıkların P<0,003 seviyesinde olduğu görülmüştür (Tablo 4.37). Toprak üstü organlarda en yüksek BF değeri kontrol grubuna aittir. Nanopartiküler uygulama grubunda Zn biyokonsantrasyon faktörü; kontrol grubuna göre %35,71 oranında, hacimsel uygulama grubuna kıyasla %26,08 oranında azalma göstermektedir. *P. major* toprak üstü organlarda en düşük BF değeri nanopartiküler uygulama grubunda görülmekle birlikte hacimsel uygulama grubuna kıyasla %13,03 düzeyinde azaldığı kaydedilmiştir. *P. major* toprak üstü organlarda Zn BF değerlerine göre gruplar, Kontrol> H-Zn >NP-Zn şeklinde sıralanmaktadır.

Tablo 4.37 *P. major* toprak üstü organlarının nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) biyokonsantrasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,003)).

<i>P. major</i> Çinko (Zn) Biyokonsantrasyon Faktörleri (mg K.A./ mg K.A.)		
T.Ü. BF	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	1,246	\pm 0,019a*
NP-Zn	0,801	\pm 0,005c*
H-Zn	0,921	\pm 0,007b*
Toplam	0,989	\pm 0,067

P. major köklerinde gruplar arası Zn biyokonsantrasyon faktörleri P<0,001 düzeyinde farklılık içermektedir (Tablo 4.38). Köklerde bulunan en yüksek biyokonsantrasyon faktörü kontrol grubuna ait olmakla birlikte nanopartiküler uygulamalarda Zn BF değerleri; kontrol grubuna göre %59,50 oranında, hacimsel uygulama grubuna kıyasla %44,83 oranında azalmıştır. *P. major* köklerinde en düşük biyokonsantrasyon faktörü nanopartiküler uygulama grubunda görülmekle birlikte hacimsel uygulamalara kıyasla %26,58 oranında bir düşüş sergilemiştir. Toprak üstü organlara paralel bir şekilde Kök Zn BF değerlerine göre gruplar, Kontrol> H-Zn >NP-Zn şeklinde sıralanmaktadır.

Tablo 4.38 *P. major* köklerinin nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) biyokonsantrasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,0001)).

<i>P.major</i> Çinko (Zn) Biyokonsantrasyon Faktörleri (mg K.A./ mg K.A.)		
Kök BF	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	4,044	\pm 0,037a*
NP-Zn	1,638	\pm 0,002c*
H-Zn	2,231	\pm 0,012b*
Toplam	2,638	\pm 0,362

P.lanceolata kontrol, hacimsel ve nanopartiküler uygulamalarının Zn translokasyon faktörleri üzerinde etkileri istatistiksel olarak P<0,0001 seviyesindedir (Tablo 4.39). En yüksek çinko translokasyon faktörü nanopartiküler uygulama grubunda görülmektedir. Kontrol grubuna kıyasla çinko TF değeri NP uygulama grubunda %37 oranında, Hacimsel uygulama grubunda ise % 57,31 bir artış kaydetmiştir. Gruplar arasında TF değerleri sırasıyla, H-Zn < NP-Zn < Kontrol şeklindedir.

Tablo 4.39 *P. lanceolata* nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) translokasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*:P<0,0001)).

<i>P.lanceolata</i> Çinko (Zn)Translokasyon Faktörleri (mg K.A./ mg K.A.)		
TF	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,773	\pm 0,005a*
NP-Zn	0,487	\pm 0,004b*
H-Zn	0,330	\pm 0,001c*
Toplam	0,530	\pm 0,065

P.lanceolata toprak üstü organlarının BF değerlerine bakıldığında, kontrol grubu ve uygulama grupları arasındaki farklılıkların P<0,0001 seviyesinde olduğu görülmüştür (Tablo 4.40). Toprak üstü organlarda en yüksek BF değerinin kontrol grubunda olduğu kaydedilmiştir. Toprak üstü organlarda çinko biyokonsantrasyon faktörü, kontrol grubuna kıyasla; nanopartiküler uygulamalarda %56,44 oranında, hacimsel uygulamalarda ise %58,22 oranında azalma sergilemektedir. *P. lanceolata* toprak üstü organlarda en düşük Zn BF değeri hacimsel uygulama grubunda görülmüştür. Ancak buna karşın nanopartiküler ve hacimsel uygulamaları birbirleri ile kıyasladığımızda aradaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

P. lanceolata toprak üstü organlarda ölçülen Zn BF değerlerine göre gruplar: Kontrol > NP-Zn > H-Zn şeklinde sıralanmaktadır.

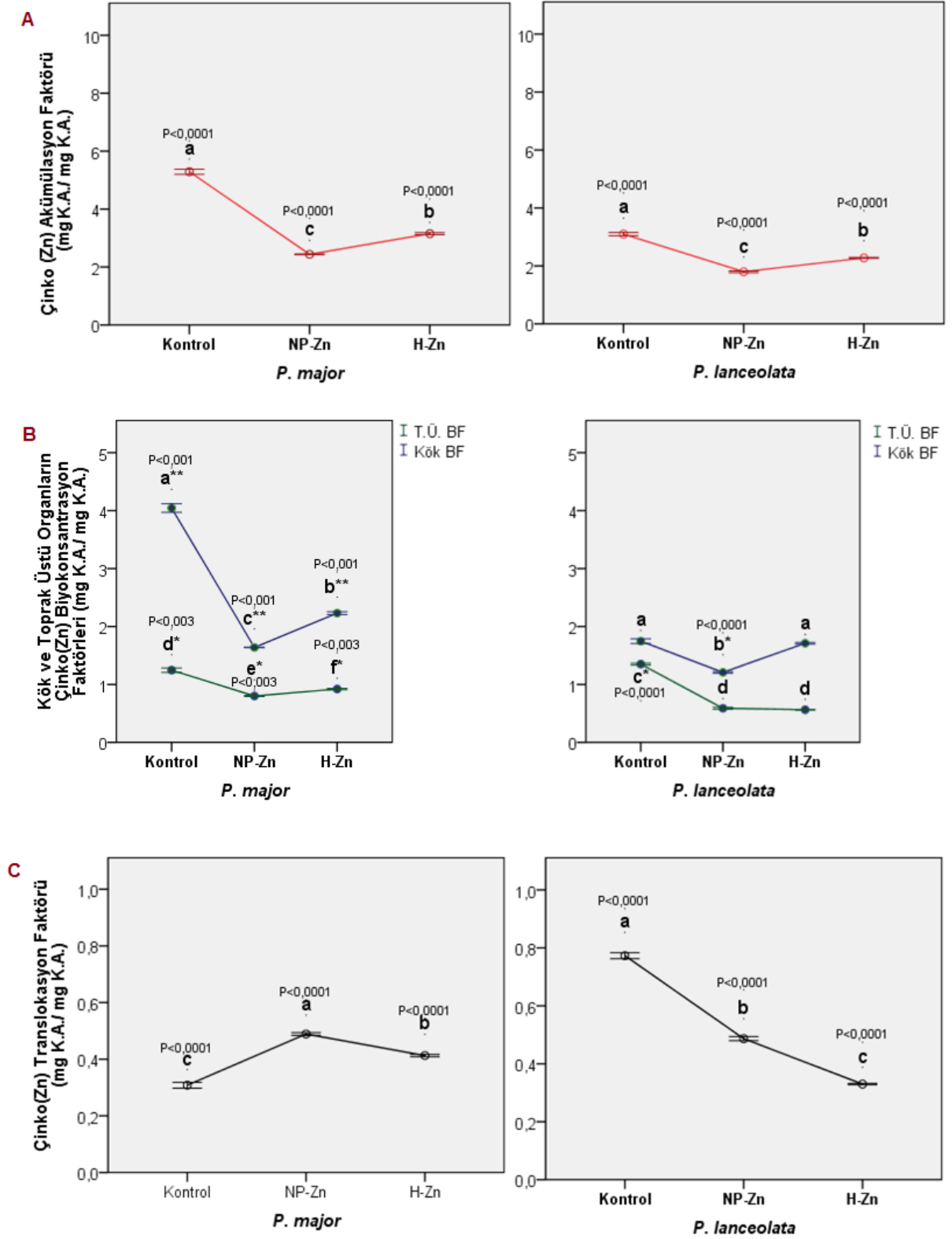
Tablo 4.40 *P. lanceolata* toprak üstü organlarının nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) biyokonsantrasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,0001)).

<i>P.lanceolata</i> Çinko (Zn) Biyokonsantrasyon Faktörleri (mg K.A./ mg K.A.)		
T.Ü. BF	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	1,350	\pm 0,008a*
NP-Zn	0,588	\pm 0,008b
H-Zn	0,564	\pm 0,001b
Toplam	0,834	\pm 0,129

P. lanceolata köklerinde en yüksek biyokonsantrasyon faktörü kontrol grubuna aittir. Kontrol grubuna kıyasla nanopartiküler uygulama grubu Zn biyokonsantrasyon faktörünü %30,8 oranında azalttığı görülmüştür (Tablo 4.41). Köklerde kontrol ile hacimsel uygulama gruplarında hesaplanan Zn BF değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. *P.lanceolata* köklerinde en düşük Zn biyokonsantrasyon faktörü nanopartiküler uygulama grubunda görülmekle birlikte, hacimsel uygulamaya kıyasla %29,34 oranında bir azalma göstermiştir. Nanopartiküler uygulamalarda kök Zn BF değerlerinde kaydedilen bu azalma diğer gruplara kıyasla istatistiksel açıdan P<0,0001 seviyesinde bulunmuştur. *P. lanceolata* köklerinde Zn BF değerlerine göre gruplar; Kontrol > H-Zn > NP-Zn şeklinde sıralanmaktadır.

Tablo 4.41 *P. lanceolata* köklerinin nanopartiküler ve hacimsel çinko (Zn) biyokonsantrasyon faktörleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,0001)).

<i>P.lanceolata</i> Çinko (Zn) Biyokonsantrasyon Faktörleri (mg K.A./ mg K.A.)		
Kök BF	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	1,747	\pm 0,020a
NP-Zn	1,209	\pm 0,007b*
H-Zn	1,711	\pm 0,008a
Toplam	1,555	\pm 0,087



4.5. NANOPARTİKÜLER VE HACİMSSEL ÇİNKO OKSİT UYGULAMALARININ BİTKİLER ÜZERİNDE FİZYOLOJİK ETKİLERİ

4.5.1. Toplam Fenolik Ölçümleri

P. major köklerinden ölçülen numunelerde, gruplar arası görülen tüm değişkenlikler istatistiksel açıdan önemli bulunmakla birlikte; en yüksek fenolik madde birikimi NP-Zn uygulamasında görülmüştür (Tablo 4.42). Kontrol grubuna nazaran %32,8 ve H-Zn uygulamalarına göre ise %12 oranında artış göstermiştir. Toplam fenolik madde miktarına göre gruplar; NP-Zn > H-Zn > Kontrol şeklinde sıralanmaktadır.

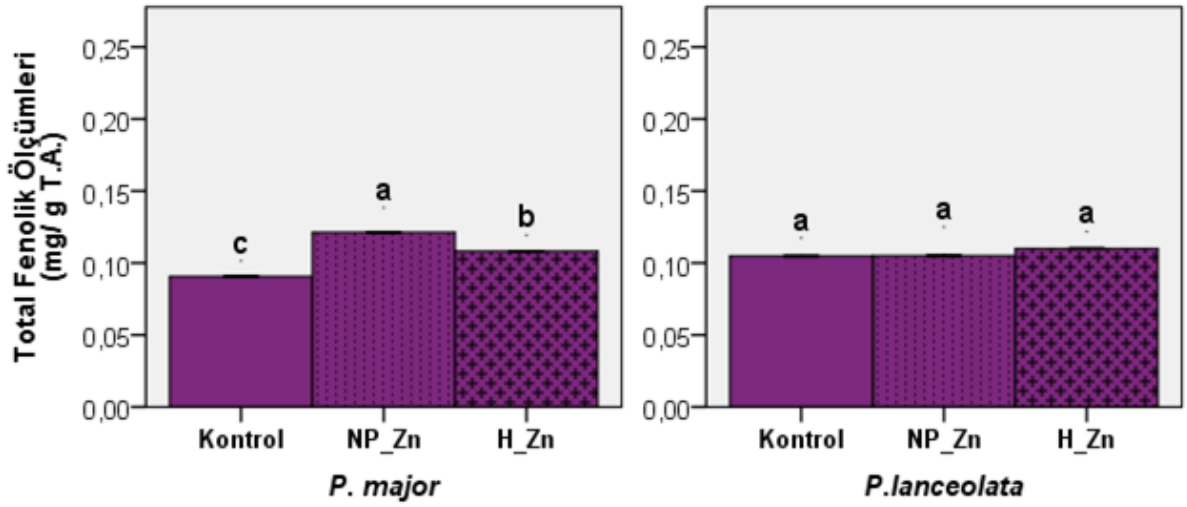
Tablo 4.42 *P. major* kök ve toprak üstü organlarında toplam fenolik ölçümleri (mg/ g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).

<i>P. major</i> Toplam Fenolik Ölçümleri (mg / g T.A.)		
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,091	\pm 0,001c
NP-Zn	0,121	\pm 0,003a
H-Zn	0,108	\pm 0,002b
Toplam	0,107	\pm 0,010

P. lanceolata köklerinde toplam fenolik madde birikimlerine bakıldığında, gruplar arasında bulunan farklılıkların istatistiksel açıdan önemli olmadığı görülmüştür (Tablo 4.43). Toplam fenolik madde miktarları 0,105 – 0,110 mg/ g T.A. arası değişmektedir.

Tablo 4.43 *P. lanceolata* kök ve toprak üstü organlarında toplam fenolik ölçümleri (mg/ g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).

<i>P. lanceolata</i> Toplam Fenolik Ölçümleri (mg / g T.A.)		
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,105	\pm 0,0003a
NP-Zn	0,105	\pm 0,0003a
H-Zn	0,110	\pm 0,0003a
Toplam	0,107	\pm 0,001



Şekil 4.15 *P. major* ve *P. lanceolata* köklerinde toplam fenolik ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P < 0,05$), $N:3$).

4.5.2. İyon Sızıntısı Ölçümleri (%)

P. major yaprak ölçümlerinden çıkan sonuçlarda doğrultusunda kontrol, nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulama grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.44). İyon sızıntı yüzdeleri %2,65-4,20 arasında değişkenlik göstermektedir. Tüm gruplar ortalama iyon sızıntı yüzdelerine göre, Kontrol < NP-Zn < H-Zn şeklinde sıralanmaktadır.

P. major köklerinde iyon sızıntısı yüzdelerine bakıldığında, kontrol ve hacimsel Zn uygulama grubu arasındaki farklılık $P < 0,01$ seviyesindedir (Tablo 4.44). Hacimli Zn uygulanan grubun iyon sızıntı düzeyi, kontrol grubuna göre %76,15 oranında artış göstermiştir. Ortalama düzeylerine göre dizimleri sırasıyla, Kontrol < NP-Zn < Hacimli-Zn şeklindedir. Nanopartiküler Zn uygulama grubu ile diğer gruplar kıyaslandığında elde edilen farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

Tablo 4.44 *P. major* iyon sızıntı ölçümleri (%),
(Standart Hata: \pm (P<0,05), (*: P<0,007), N:4).

<i>P.major</i> Yaprak ve Kök İyon Sızıntı Ölçümleri (%)		
Yaprak	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	2,65	\pm 0,172a
NP-Zn	2,72	\pm 0,105a
H-Zn	4,20	\pm 0,568a
Toplam	3,19	\pm 0,282
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	17,74	\pm 1,393b*
NP-Zn	31,25	\pm 5,154ab
H-Zn	33,81	\pm 2,349a*
Toplam	27,60	\pm 2,760

P. lanceolata yaprak bulgularından elde edilen sonuçlar doğrultusunda, kontrol ve Zn uygulama grupları arasında istatistiksel açıdan P<0,05 düzeyinde anlamlı bir farklılık elde edilmemiştir (Tablo 4.45). Grupların yaprak iyon sızıntı yüzdeleri ortalama %11,28-24,40 arası değişkenlik göstermektedir. Tüm gruplar ortalama değerlerine göre düşükten yükseğe doğru, Kontrol< H-Zn< NP-Zn şeklinde sıralanmaktadır.

P. lanceolata kök numunelerinden elde edilen veriler doğrultusunda gruplar arası istatistiksel açıdan herhangi bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.45). Köklerde iyon sızıntı yüzdeleri %29,17- %45,67 arası değişkenlik göstermektedir. Kök iyon sızıntı yüzdelerine göre gruplar sırasıyla, “Kontrol < NP-Zn < H-Zn” şeklinde dizilmektedir.

Tablo 4.45 *P. lanceolata* iyon sızıntı ölçümleri (%), (Standart Hata: \pm ($P \leq 0,05$), N:4).

<i>P. lanceolata</i> Yaprak ve Kök İyon Sızıntı Ölçümleri (%)		
Yaprak	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	11,28	\pm 1,318a
NP-Zn	24,40	\pm 8,550a
H-Zn	13,14	\pm 1,596a
Toplam	16,27	\pm 3,177
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	29,17	\pm 2,406a
NP-Zn	41,67	\pm 4,811a
H-Zn	45,83	\pm 4,167a
Toplam	38,89	\pm 2,961

4.5.3. Hücre Membran Hasarı (%)

P. major yaprak ve kök örneklerinde ölçülen hücre membran hasar yüzdeleri oldukça düşük düzeyde olmakla birlikte, gruplar arası karşılaştırmalardan elde edilen farklılıkların istatistiksel açıdan önemsiz olduğu bulunmuştur (Tablo 4.46). Yapraklardan elde edilen değerlere göre gruplar düşükten yükseğe doğru sırasıyla Kontrol < NP-Zn < H-Zn şeklinde dizilim gösterirken, köklerde ise Kontrol < H-Zn < NP-Zn şeklinde sıralanmaktadır.

Tablo 4.46 *P. major* hücre membran hasarları (%), (Standart Hata: \pm ($P \leq 0,05$), N:4).

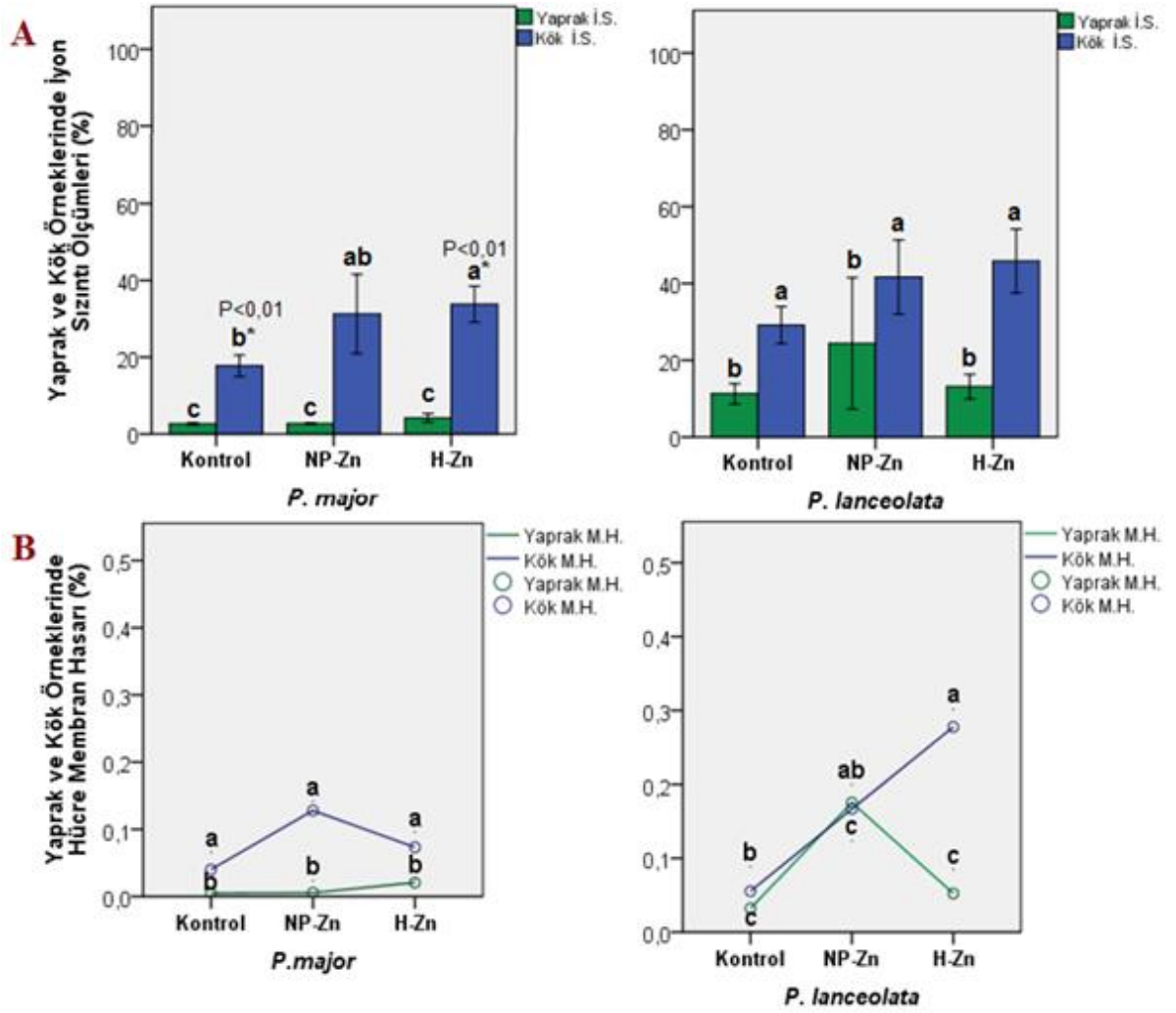
<i>P. major</i> Yaprak ve Kök Hücre Membran Hasar Ölçümleri (%)		
Yaprak	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,005	\pm 0,002a
NP-Zn	0,006	\pm 0,001a
H-Zn	0,021	\pm 0,006a
Toplam	0,010	\pm 0,003
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,040	\pm 0,016a
NP-Zn	0,128	\pm 0,022a
H-Zn	0,073	\pm 0,033a
Toplam	0,081	\pm 0,017

P.lanceolata yaprak örneklerinden elde edilen değerlerin gruplar arası farklılıkları istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (Tablo 4.47). Ölçülen değerler oldukça düşük seviyede çıkmakla birlikte ortalama hücre membran hasar yüzdelere göre gruplar Kontrol < H-Zn < NP-Zn şeklinde dizilim göstermektedir.

P. lanceolata köklerinde ise en yüksek hücre membran hasarı H-Zn uygulanan grupta görülmüştür (Tablo 4.47). Hacimsel Zn uygulanan grup ile kontrol grubu arasında $P < 0,05$ düzeyinde bir istatistiksel farklılık mevcut olmakla birlikte, Hacimsel Çinko uygulaması Kontrol grubuna kıyasla hücre membran hasarını yaklaşık 5 kat yükseltmiştir. İstatistiksel açıdan, NP-Zn uygulama grubundan elde edilen değerler diğer gruplar ile kıyaslandığında aradaki farklılıklar önemsiz bulunmuştur. Ortalama hücre membran hasar yüzdelere göre gruplar düşükten yükseğe doğru, Kontrol < NP-Zn < H-Zn şeklinde dizilim göstermektedir.

Tablo 4.47 *P. lanceolata* hücre membran hasarları (%), (Standart Hata: \pm ($P \leq 0,05$), N:4).

<i>P.lanceolata</i> Yaprak ve Kök Hücre Membran Hasar Ölçümleri (%)		
Yaprak	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,032	$\pm 0,014a$
NP-Zn	0,175	$\pm 0,093a$
H-Zn	0,052	$\pm 0,017a$
Toplam	0,087	$\pm 0,035$
Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,056	$\pm 0,032b$
NP-Zn	0,167	$\pm 0,056ab$
H-Zn	0,278	$\pm 0,056a$
Toplam	0,167	$\pm 0,038$



Şekil 4.16 *P. major* ve *P. lanceolata* iyon sızıntı (A) ve hücre membran hasarı (B) ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P < 0,05$), $N:4$)

4.5.4. Klorofil a, Klorofil b ve Total Klorofil Ölçümleri

P. major yapraklarından elde edilen ölçümlerde klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil değerleri arasında farklılıklar $P < 0,05$ düzeyinde önemsiz bulunmuştur (Tablo 4.48). Klorofil a değerleri gruplar arasında ortalama 176, 81 – 186,12 mg/g T.A. arasındadır. Klorofil b değerleri ise 54,11 – 47,12 mg/g T.A. arasında değişkenlik göstermektedir. Klorofil a ve klorofil b ölçümlerinden elde edilen toplam klorofil miktarları ise 223, 94 ve 240,23 mg/g T.A. arasında ölçülmüştür.

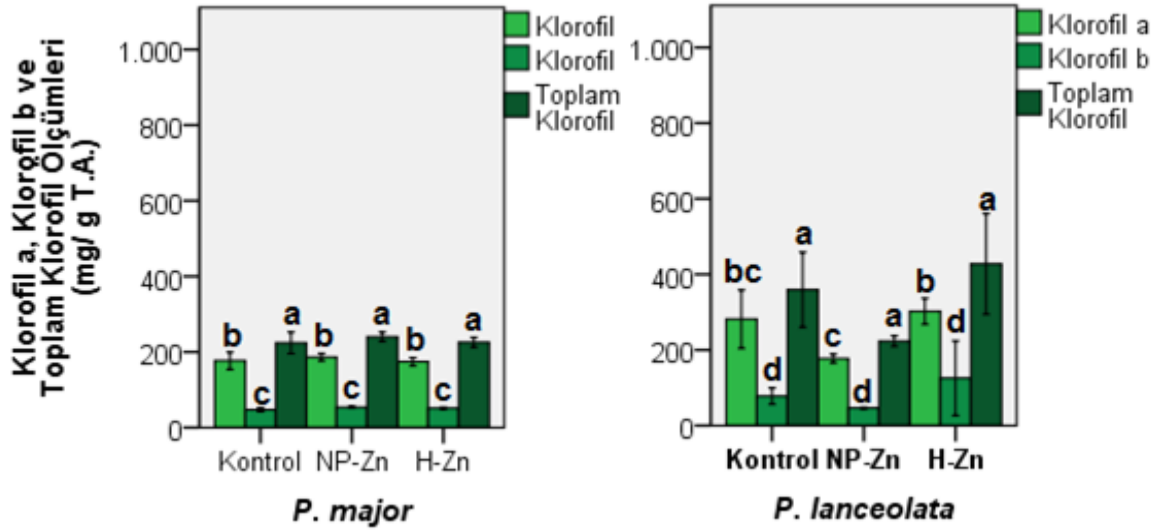
Tablo 4.48 *P. major* klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil Ölçümleri (mg/ g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).

<i>P. major</i> Klorofil a, Klorofil b ve Toplam Klorofil Ölçümleri		
Klorofil a (mg/ g T.A.)	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	176,81	\pm 11,526a
NP-Zn	186,12	\pm 5,008a
H-Zn	174,09	\pm 5,442a
Toplam	179,01	\pm 4,352a
Klorofil b (mg/ g T.A.)	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	47,12	\pm 2,746a
NP-Zn	54,11	\pm 1,248a
H-Zn	51,45	\pm 1,334a
Toplam	50,89	\pm 1,395a
Toplam Klorofil (mg/ g T.A.)	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	223,94	\pm 14,232a
NP-Zn	240,23	\pm 6,043a
H-Zn	225,55	\pm 6,482a
Toplam	229,91	\pm 5,490a

P. lanceolata klorofil değerlerine bakıldığında gruplar arası klorofil b ve toplam klorofil değerleri arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.49). Kontrol ve uygulama gruplarını karşılaştırdığımızda Klorofil a değerleri istatistiksel bir farklılık göstermezken; NP-Zn uygulamasının, H-Zn uygulamasına göre Klorofil a değerini %41,4 oranında azalttığı kaydedilmiştir.

Tablo 4.49 *P. lanceolata* klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil ölçümleri (mg/ g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).

<i>P. lanceolata</i> Klorofil a, Klorofil b ve Toplam Klorofil Ölçümleri		
Klorofil a (mg/ g T.A.)	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	281,46	\pm 38,58ab
NP-Zn	177,13	\pm 5,77b
H-Zn	302,23	\pm 17,30a
Toplam	253,61	\pm 22,94
Klorofil b (mg/ g T.A.)	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	77,98	\pm 10,88a
NP-Zn	46,28	\pm 1,04a
H-Zn	125,38	\pm 49,50a
Toplam	83,21	\pm 18,61
Toplam Klorofil (mg/ g T.A.)	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	359,44	\pm 49,46a
NP-Zn	223,41	\pm 6,80a
H-Zn	427,60	\pm 66,55a
Toplam	336,82	\pm 38,44



Şekil 4.17 *P. major* ve *P. lanceolata* klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:3).

4.5.5. Karotenoid Ölçümleri

P. major karotenoid değerlerine bakıldığında, kontrol ve uygulama gruplarından elde edilen değerler arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan bir önem taşımadığı kaydedilmiştir (Tablo 4.50). Toplam karotenoid miktarları ortalama olarak 145,53 – 120 mg/g T.A. değerleri arasında değişim göstermektedir.

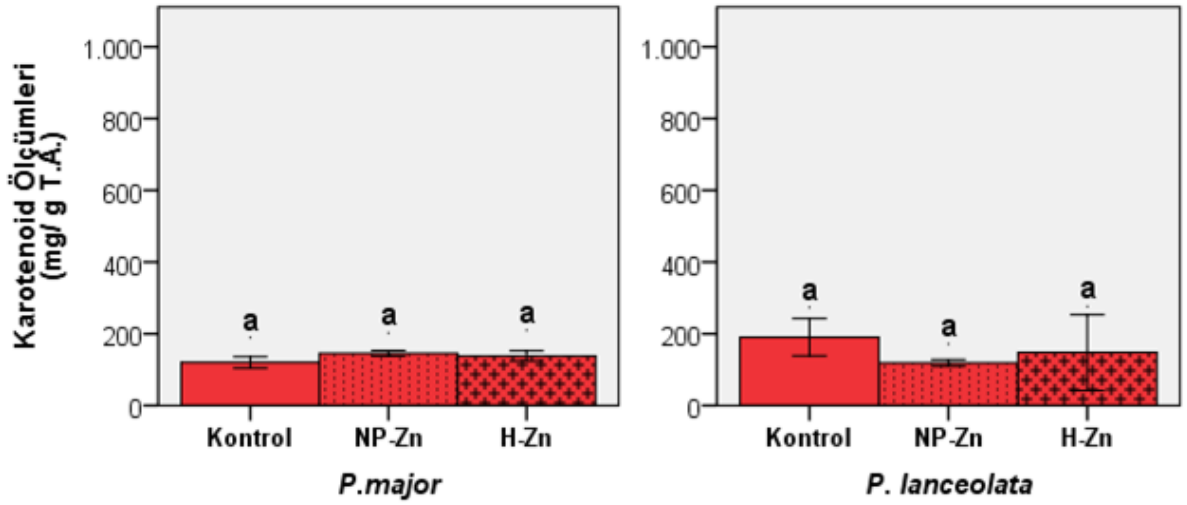
Tablo 4.50 *P. major* karotenoid ölçümleri (mg/ g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).

<i>P. major</i> Karotenoid Ölçümleri		
Toplam Karotenoid (mg/ g T.A.)	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	120,0	\pm 8,031a
NP-Zn	145,5	\pm 3,865a
H-Zn	138,1	\pm 7,073a
Toplam	134,6	\pm 5,017a

P. lanceolata karotenoid verilerinde, kontrol ve uygulama grupları arasında herhangi istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.51). Toplam karotenoid miktarları ortalama olarak 118,9– 190,5 mg/g T.A. değerleri arasında değişim göstermektedir. Karotenoid içeriklerine göre gruplar; Kontrol > H-Zn > NP-Zn şeklinde dizilim göstermektedir.

Tablo 4.51 *P. lanceolata* karotenoid ölçümleri (mg/g T.A.), (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:3).

<i>P. lanceolata</i> Karotenoid Ölçümleri		
Toplam Karotenoid (mg/ g T.A.)	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	190,5	\pm 26,06a
NP-Zn	118,9	\pm 4,67a
H-Zn	147,6	\pm 52,84a
Toplam	152,4	\pm 19,98



Şekil 4.18 *P. major* ve *P. lanceolata* türlerinin karotenoid ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P < 0,05$), $N:3$).

4.6. NANOPARTİKÜLER VE HACİMSSEL ÇİNKO OKSİT UYGULAMALARININ KLOROFİL FLORESANS AKTİVİTESİNE ETKİLERİ

P. major ve *P. lanceolata* türlerinden aynı yaş ve aynı büyüklükte olmasına özen gösterilerek seçilmiş yapraklar üzerinde bir takım parametreler doğrultusunda $330 \mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ aktinik ışık düzeyinde klorofil floresans aktivitelere bakılmıştır. Bu parametreler sırasıyla; Fotosistem II fotokimyasının maksimum kuantum verimliliği (F_v/F_m), PSii açık redox merkezlerinin fotokimyasal söndürme seviyesi (qP), PSII kapalı reaksiyon merkezlerinin oranı ($1-qP$), PSII'de göreceli elektron taşıma oranı (ETR), fotokimyasal enerji dönüşümünün etkili kuantum verimi (Φ_{PSII}), PSII'de regülasyona tabi tutulmuş fotokimyasal olmayan enerji kaybının quantum etkisi (Φ_{NPQ}), PSII'de fotokimyasal olmayan düzenlenmemiş enerji kaybının quantum etkisi (Φ_{NO}) ve fotokimyasal olmayan söndürme (NPQ), parametreleridir.

4.6.1. F_v/F_m Ölçümleri

P. major türünün kontrol ve Zn uygulama grupları arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.52). Nanopartiküler Zn uygulama grubunda F_v/F_m değerleri en düşük düzeydedir. F_v/F_m ortalama değerleri sırasıyla Kontrol > H-Zn > NP-Zn şeklindedir.

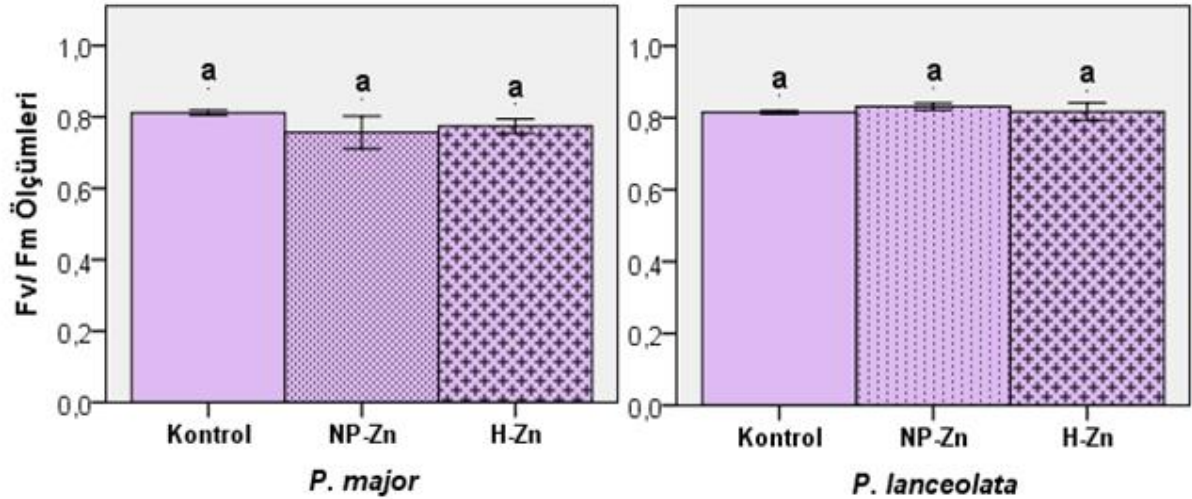
Tablo 4.52 *P. major* yaprak örneklerinin Fv/Fm ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).

<i>P.major</i> Fv/Fm Ölçümleri		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,812	\pm 0,004a
NP-Zn	0,757	\pm 0,023a
H-Zn	0,774	\pm 0,010a
Toplam	0,781	\pm 0,010

P. lanceolata kontrol ve çinko uygulama gruplarında alınan yaprak örneklerinden elde edilen ölçüm değerleri arasında istatistiksel açıdan bir farklılık görülmemiştir (Tablo 4.53).

Tablo 4.53 *P. lanceolata* yaprak örneklerinin Fv/Fm ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).

<i>P.lanceolata</i> Fv/Fm Ölçümleri		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,815	\pm 0,002a
NP-Zn	0,831	\pm 0,005a
H-Zn	0,817	\pm 0,012a
Toplam	0,821	\pm 0,005

**Şekil 4.19** *P. major* ve *P. lanceolata* Fv/Fm ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:4).

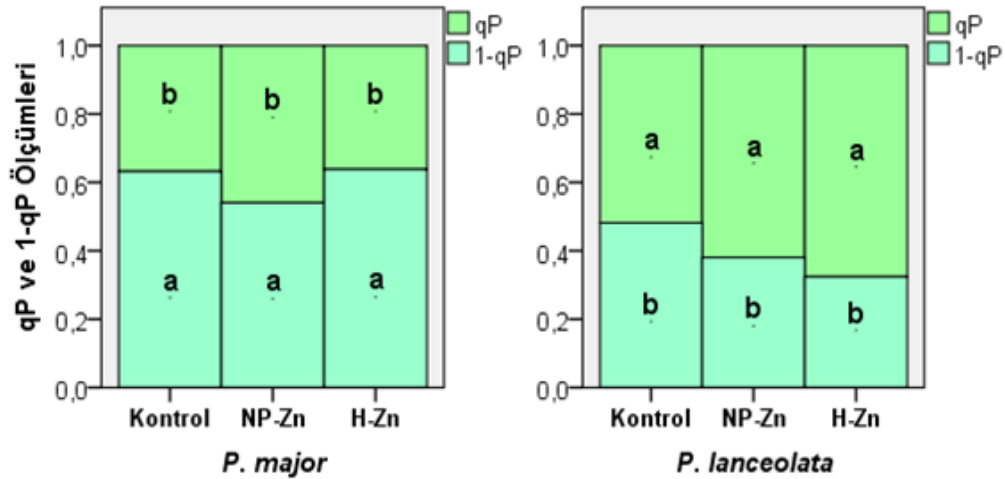
4.6.2. qP ve 1-qP Ölçüm Değerleri

P. major ve *P. lanceolata* türlerinin, kontrol ve çinko uygulama gruplarının, fotokimyasal söndürme (qP) ve kapalı PSII reaksiyon merkezlerinin (1-qP) oranları, iki tür içinde istatistiksel düzeyde bir farklılık barındırmamaktadır (Tablo 4.54).

Tablo 4.54 *P. major* ve *P. lanceolata* qP ve 1-qP ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).

<i>P. major</i> qP Ölçümleri			<i>P. lanceolata</i> qP Ölçümleri		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata	Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,368	$\pm 0,104a$	Kontrol	0,518	$\pm 0,052a$
NP-Zn	0,460	$\pm 0,172a$	NP-Zn	0,620	$\pm 0,046a$
H-Zn	0,362	$\pm 0,052a$	H-Zn	0,676	$\pm 0,022a$
Toplam	0,396	$\pm 0,118$	Toplam	0,605	$\pm 0,030$
<i>P. major</i> 1-qP Ölçümleri			<i>P. lanceolata</i> 1-qP Ölçümleri		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata	Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,632	$\pm 0,104a$	Kontrol	0,482	$\pm 0,052a$
NP-Zn	0,541	$\pm 0,172a$	NP-Zn	0,380	$\pm 0,046a$
H-Zn	0,638	$\pm 0,052a$	H-Zn	0,324	$\pm 0,022a$
Toplam	0,604	$\pm 0,118$	Toplam	0,395	$\pm 0,030$

İki türü birbirleriyle kıyasladığımızda, *P. lanceolata* türünün qP aktivitesi %52,8 oranında daha yüksektir. Bununla paralel olarak 1-qP değerleri ise %34,6 oranında daha düşük düzeydedir (Şekil 4.20).



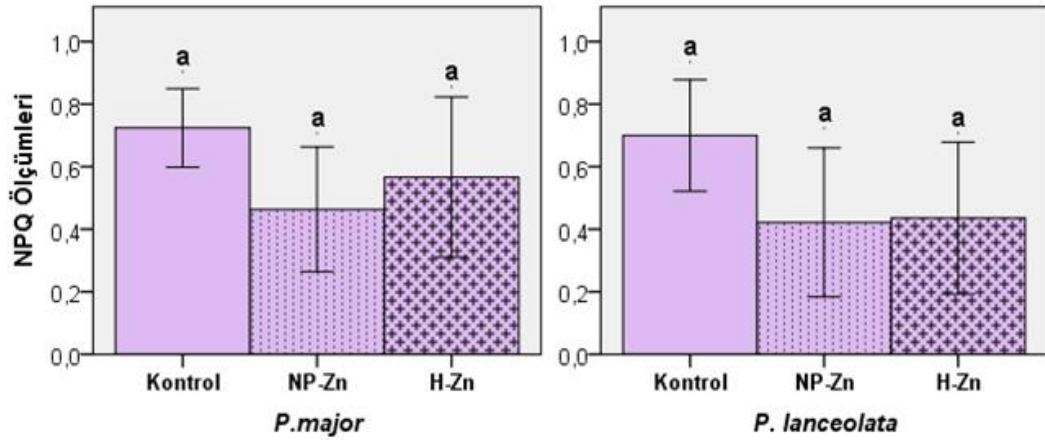
Şekil 4.20 *P. major* ve *P. lanceolata* türlerinin qP ve 1-qP ölçümleri ((P<0,05), N:4).

4.6.3. NPQ Ölçümleri

P. major ve *P. lanceolata* türlerinin, kontrol ve uygulama grupları arasında yapılan kıyaslamalarda, fotokimyasal olmayan söndürme değerlerinin istatistiksel açıdan herhangi bir farklılık taşımadığı kaydedilmiştir (Tablo 4.55).

Tablo 4.55 *P. major* ve *P. lanceolata* NPQ ölçümleri (Standart Hata: \pm (P<0,05), N:4).

<i>P.major</i> NPQ Ölçümleri		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,724	\pm 0,063a
NP-Zn	0,464	\pm 0,100a
H-Zn	0,567	\pm 0,128a
Toplam	0,585	\pm 0,062
<i>P.lanceolata</i> NPQ Ölçümleri		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,699	\pm 0,089a
NP-Zn	0,422	\pm 0,119a
H-Zn	0,436	\pm 0,121a
Toplam	0,519	\pm 0,070



Şekil 4.21 *P. major* ve *P. lanceolata* NPQ ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata (P<0,05), N:4).

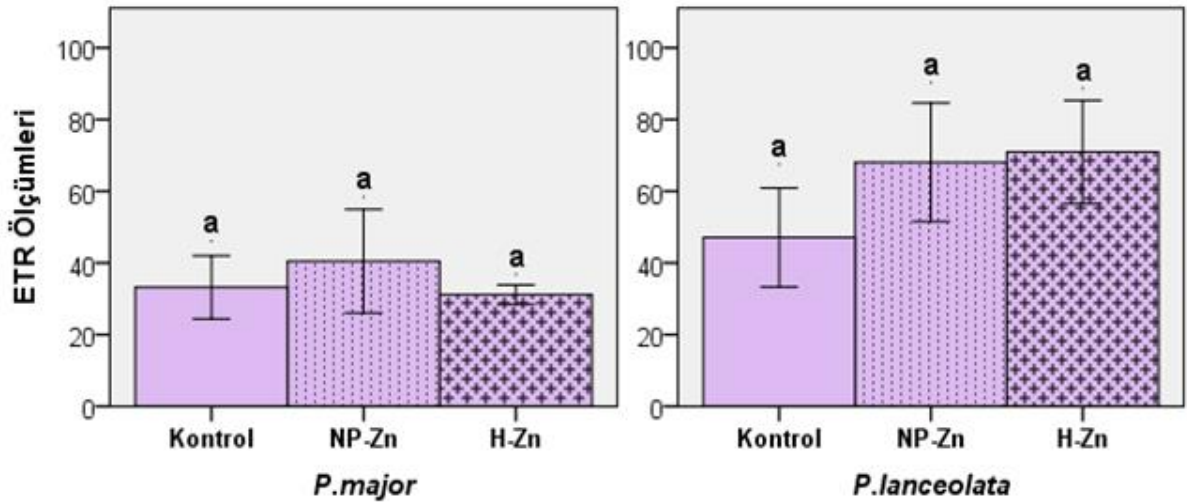
4.6.4. ETR Ölçümleri

P. major ve *P.lanceolata* türlerinin kontrol ve uygulama grupları arasında yapılan kıyaslamalarda, göreceli PSII elektron taşıma oranlarının $P<0,05$ düzeyinde istatistiksel bir farklılık içermediği kaydedilmiştir (Tablo 4.56).

Tablo 4.56 *P. major* ve *P. lanceolata* türlerinin ETR ölçümleri

(Standart Hata: \pm ($P<0,05$), N:4).

<i>P.major</i> ETR Ölçümleri		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	33,204	$\pm 4,392a$
NP-Zn	40,508	$\pm 7,215a$
H-Zn	31,150	$\pm 1,357a$
Toplam	34,954	$\pm 2,850$
<i>P.lanceolata</i> ETR Ölçümleri		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	47,09	$\pm 6,90a$
NP-Zn	68,08	$\pm 8,25a$
H-Zn	70,93	$\pm 7,22a$
Toplam	62,03	$\pm 5,05$



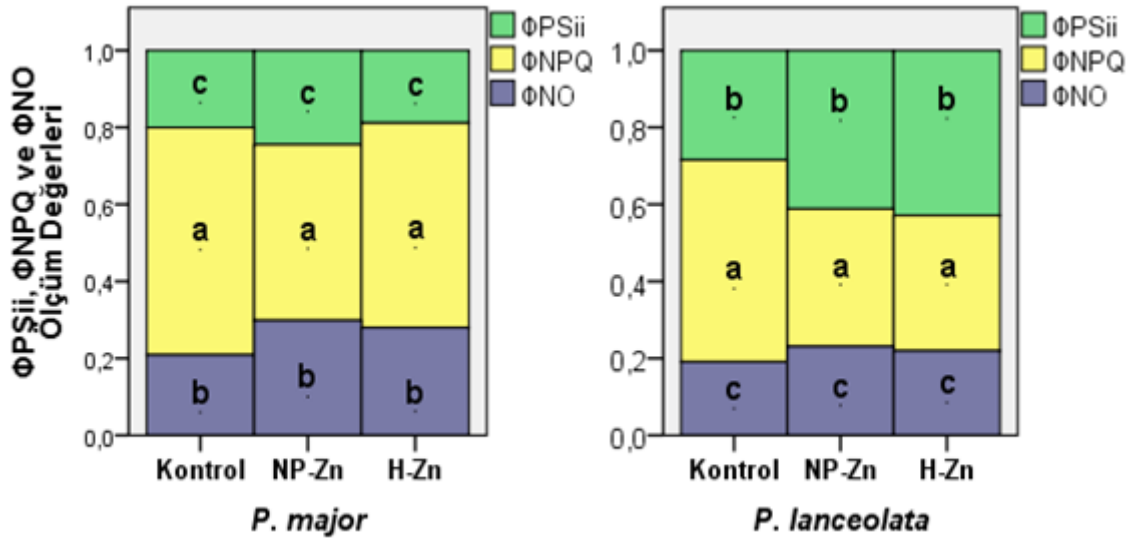
Şekil 4.22 *P. major* ve *P. lanceolata* ETR ölçümleri
(Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P<0,05$), N:4).

4.6.5. Φ PSII, Φ NPQ ve Φ NO Ölçümleri

P. major ve *P. lanceolata* türlerinin, kontrol ve çinko uygulama gruplarının Φ PSII (Fotosistem II'nin fotokimyasal quantum verimi), Φ NPQ (Işık kaynaklı fotokimyasal olmayan düzenlenmiş sönü kuantum verimi), Φ NO (Işık kaynaklı ve fotokimyasal olmayan, düzensiz sönü işlemlerinin kuantum verim) değerleri incelenmiştir. İki tür içinde bu üç parametrenin verileri gruplar arası değerlendirmelerde $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farklılık içermediği tespit edilmiştir (Tablo 4.57).

Tablo 4.57 *P. major* ve *P. lanceolata* Φ PSII, Φ NPQ ve Φ NO ölçümleri
(Standart Hata: \pm ($P < 0,05$), N:4).

<i>P.major</i> Φ PSII Ölçümleri			<i>P.lanceolata</i> Φ PSII Ölçümleri		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata	Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,201	$\pm 0,027a$	Kontrol	0,285	$\pm 0,042a$
NP-Zn	0,245	$\pm 0,044a$	NP-Zn	0,411	$\pm 0,050a$
H-Zn	0,188	$\pm 0,008a$	H-Zn	0,429	$\pm 0,044a$
Toplam	0,211	$\pm 0,017$	Toplam	0,375	$\pm 0,03$
<i>P.major</i> Φ NPQ Ölçümleri			<i>P.lanceolata</i> Φ NPQ Ölçümleri		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata	Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,590	$\pm 0,028a$	Kontrol	0,525	$\pm 0,050a$
NP-Zn	0,457	$\pm 0,025a$	NP-Zn	0,358	$\pm 0,070a$
H-Zn	0,532	$\pm 0,055a$	H-Zn	0,352	$\pm 0,060a$
Toplam	0,526	$\pm 0,026$	Toplam	0,411	$\pm 0,04$
<i>P.major</i> Φ NO Ölçümleri			<i>P.lanceolata</i> Φ NO Ölçümleri		
Gruplar	Ortalama	Standart Hata	Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	0,209	$\pm 0,012a$	Kontrol	0,191	$\pm 0,009a$
NP-Zn	0,298	$\pm 0,061a$	NP-Zn	0,231	$\pm 0,021a$
H-Zn	0,280	$\pm 0,055a$	H-Zn	0,219	$\pm 0,021a$
Toplam	0,262	$\pm 0,028$	Toplam	0,214	$\pm 0,011$



Şekil 4.23 *P. major* ve *P. lanceolata* ΦPSII, ΦNPQ ve ΦNO ölçümleri ((P < 0,05), N:4).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tez kapsamında yürütülen bu deneyde sterilize edilmiş kum ve perlit karışımından oluşan kültür ortamlarında yetiştirilmiş iki farklı *Plantago* türüne, 15 gün boyunca özel olarak günlük sonikatör vasıtasıyla deiyonize su içerisinde homojenize edilmiş 100 mg/ L'lik nanopartiküller ve hacimsel ZnO süspansiyonları uygulanmıştır. Deney sonunda bitkilerde Zn birikimleri analiz edilerek fitoremediasyon potansiyeli incelenmiştir. Bununla birlikte nanopartikül ve hacimsel uygulamalar arası bitkilerde meydana gelen fitotoksik reaksiyonlardaki farklılık ve benzerlikler ile uygulanan Zn elementinin partikül boyutuna göre diğer besin elementlerinin bitkinin bünyesine alımı ve iletimine olan etkileri incelenmiştir.

15 günlük nanopartiküller ve hacimsel çinko uygulamaları bitkilerin kuru ve yaş ağırlıkları, toprak üstü uzunlukları, tolerans indeksleri, yaprak sayıları ile en ve boy ölçümleri gibi gelişimsel değişimleri gösteren parametrelerde istatistiksel bir etkiye neden olmadığı görülmüştür. Bu durum bitki türü, yetiştirme ortamının özellikleri, uygulanan konsantrasyon vs. gibi bir çok nedenden kaynaklı olabilmekle birlikte; çeşitli çalışmalarda ZnO nanopartiküllerinin morfolojik açıdan bitkinin kök ve sürgün gelişimine ciddi anlamda zarar verdiği kaydedilmiştir (Singh ve diğ., 2013).

Tablo 5.1 NP-Zn uygulamalarının bitki gelişimleri üzerinde etkileri (P. B. : Partikül Boyutu).

Zn Partikül Boyutu ve Konsantrasyonu	Model Bitkiler	Stres Faktörleri	Referanslar
P.B. < 50 nm ZnO (2000 mg/L)	Turp, Kolza, Marul, Salatalık, Mısır, Çim	Kök gelişiminin yüksek oranda baskılanması	Lin ve Xing (2007)
P.B. < 50 nm ZnO (1000 mg/L)	Çim	-Biyokütlede azalma -Kök uçlarının küçülmesi -Kök epidermisinin ve uç kısmında oluşan hasarlar -Kortikal hücrelerde küçülme	Lin ve Xing (2008)

Tablo 5.1. devamı			
P.B. < 10 nm ZnO (1000 mg/L)	Kabak	Biyokütlede azalma	Stampoulis ve diğ., (2009)
P.B. <20 nm ZnO (0,01 – 1000 mg/L)	Mısır, Lahana	Doza bağımlı olarak çimlenme oranında azalma.	Pokhrel ve Dubey (2013)
P.B. < 50 nm ZnO (400, 2000, 4000 mg/L)	<i>Arabidopsis</i>	-Çimlenme yüzdesinde yüksek oranda azalma -Kök boylarının kısılması -. Yaprak sayısında düşüş	Lee ve diğ., (2010)
P.B. < 10 nm ZnO (500, 1000, 2000, 4000 mg/L)	Soya fasulyesi	-Kök uzunluklarında artış (500 ppm) -Kök uzunluklarının azalması (4000 ppm) - Kök büyümesinin baskılanması	Lopez-Moreno ve diğ., (2010)
P.B. < 50 nm ZnO (10 - 2000 mg/L)	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Biyokütlede yüksek oranda azalma.	Lee ve diğ., 2012
P.B. < 50 nm ZnO (5, 10, 20 mg/L)	<i>Allium cepa</i>	Kök gelişiminde indirgenme	Ghodake ve diğ., (2011)
P.B. <100 nm ZnO (10 – 20 mg/L)	Buğday	-Kök büyümesinde azalma	Dimkpa ve diğ., (2013)
P.B. <100 nm ZnO (10, 100, 1000 ve 10000 mg/L)	<i>Lepidium sativum</i>	-Kök büyümesinde yavaşlama	Joško ve Oleszczuk (2013)
P.B. <50 nm ZnO (50, 100, 200, 250, 300 mg/L)	<i>Arabidopsis</i>	-Biyokütle seviyelerinde azalma	Wang ve diğ., (2016)
P.B. <50 nm ZnO (20, 40, 60, 80, 100 mg/L)	Domates	-Kök ve sürgün uzunluklarının kısalma -Taze ağırlık düşüşü -Kök aktivitesinin inhibisyonu	Li ve diğ., (2016)
P.B. <50 nm ZnO (500 mg/L)	Soya fasulyesi	-Yaprak ve kök ağırlığında azalma -Kök kısılması	Hossain ve diğ. (2016)

Tablodaki araştırmalarda (Tablo 5.1) toksisite seviyesinin partikül boyutuna, uygulanan konsantrasyona ve bitki türlerine göre değişkenlik sergilediği görülmektedir. Yürüttüğümüz deney sonunda kontrol ve uygulama grupları arasında bitkilerde morfolojik açıdan belirgin bir farklılık görülmemesinin sebebi kullanılan *Plantago* türlerine uygulanan Zn konsantrasyonlarının düşük gelmesi veya uygulama süresinden kaynaklanabileceği ön görülmektedir. Ayrıca yetiştirme ortamı olarak kum kültürünün seçilmesinin bu duruma etkisi büyüktür.

Kök / Sürgün oranlarına bakıldığında, *P. major* hacimsel Zn uygulanan grupta istatistiksel bir düşüş olduğu kaydedilmiştir. Sagardoy ve diğ. (2009) tarafından yürütölen bir deneyde, şeker pancarı üzerinde çinko toksisitesini araştırmak amacıyla 3 farklı konsantrasyonda (50, 100, 300 µM) çinko sülfat uygulanmış ve deney sonunda kök/sürgün oranları 50 ve 100 µM konsantrasyonlarında artarken sadece 300 µM konsantrasyonunda önemli bir oranda düşüş sergilediği görölmüştür. *P.lanceolata* türünde gruplar arasında kök / sürgün değerlerinde görölen farklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Kök / sürgün oranlarında görölen değişimler bitkilerin biyotik ve abiyotik strese karşı gösterdikleri tepkilerin farklı şekillerde yorumlanabilmesine olanak sağlar. Örnek olarak, azot bakımından fakir bölgelerde, kök içi azot konsantrasyonu düşük olduğunda bitki azota daha iyi bir şekilde ulaşmak için kök büyümesini teşvik ederek kök / sürgün oranını yükselttiği tespit edilmiştir (Mattsson ve diğ., 1991; Pilbeam, 2018). Höpfner ve diğ. tarafından yürütölen farklı bir çalışmada, *Plantago lanceolata* ve *Hieracium pilosella* bitki türlerinde mikorizal aşılamanın besin alımı üzerinde etkileri incelenmiş ve düşük gübreleme düzeyinde yetişen *H. pilosella* türünün, kök aracılı rekabeti artırmak için kök / sürgün oranında fark edilir bir artış gösterdiği kaydedilmiştir. Yine aynı çalışmada orta ve yüksek gübreleme seviyelerinde bitki sürgün gelişimine daha çok önem vererek, kök / sürgün oranında azalışa neden olmuştur (Höpfner ve diğ., 2015). Bu araştırmalardan farklı olarak kuraklık ile ilgili yapılan başka bir çalışmada mikoriza ile aşılanmış *P. lanceolata* bitkilerinde kök / sürgün oranının %20 civarında arttığı tespit edilmiştir (Karadağ, 2013).

Bitkilerin genel su içerik oranları incelendiğinde, iki bitki türünde köklerde ölçölen değerler toprak üstü organlarında bulunan değerlere göre daha yüksektir. *P. major* türünde toprak üstü organlarından elde edilen su içerik oranları düşükten yükseğe doğru sırasıyla H-Zn < NP-Zn < Kontrol şeklinde iken, köklerde ters orantılı olarak su içeriklerine göre

gruplar; Kontrol < NP-Zn < H-Zn şeklinde dizilim göstermektedir. *P. lanceolata* türünde ise toprak üstü organlarda su içerik değerlerinin istatistiksel açıdan farklılık bulundurmadığı kaydedilmiştir. Köklerinde ölçülen su içerik miktarları incelendiğinde ise kontrol grubuna göre, uygulama gruplarında istatistiksel bir farklılık gözlenmediği ancak NP-Zn uygulama grubunun su içerik yüzdesinin H-Zn uygulanan gruba göre daha yüksek bulunduğu görülmüştür. Bitkilerin su içeriklerinde görülen bu değişkenlikler; kullanılan türlerin yapısal özellikleri arasındaki farklılıklar, kültür ortamlarının genel özellikleri, uygulanan ağır metal türü, partikül boyutları, ortamın pH'ı ve yetiştirme ortamının bağıl su içerik yüzdeleri gibi birçok etmenden kaynaklı olabilir. Kültür ortamlarının bağıl su yüzdeleri incelendiğinde *P.major* türünün gruplar arası değerlerinin birbirine çok yakın olduğu ve bu durumun bitkilerin kök ve toprak üstü organlarda ki su içerik yüzdesine herhangi bir etkide bulunmadığı düşünülmektedir. Ancak *P.lanceolata* türüne bakıldığında kum bağıl su yüzdeleri gruplar arası istatistiksel bir fark içermemekle birlikte, oransal olarak *P. lanceolata*'nın köklerindeki su içerik değerleriyle paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Bitkilerde bulunan su içerik değerleri uygulama grupları arasında farklılıklar göstermektedir. Bu durum bitkinin türü, uygulanan ağır metal ve geliştirdiği tolerans potansiyeli ile bağlantılı bir şekilde ağır metal maruziyetine karşı gösterdiği reaksiyonlardan biri olabilir. Bakıra toleransı olan *Silene cucubalus* türünün populasyonları ile toleranssız bitki populasyonları üzerinde yapılan bir çalışmada, yapraklarda ölçülen su içerik yüzdesinin yüksek bakır toleransı sayesinde *Silene cucubalus* türünün populasyonlarında muhafaza edildiği, toleranssız populasyonlarda ise su içeriğinin hızlı bir şekilde azaldığı görülmüştür (Barceló ve Poschenrieder, 1990).

Çinko aynı zamanda bitkiler için mikro besin elementlerinden biri olmakla birlikte, bitkilerde su içeriklerine olan etkileri kullanıldığı form ve yoğunluğa bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Şeker pancarı (*Beta vulgaris*) üzerinde yüksek çinko uygulamasının fotosentez aktivitelerine olan etkilerinin incelendiği bir çalışmada kontrol grubuna kıyasla 100 ve 300 µM konsantrasyonlarında yaprak su içeriklerinde orantılı bir şekilde düşüş yaşandığı görülmüştür (Sagardoy ve diğ., 2010). Yine şeker pancarı ile yapılan farklı bir çalışmada ise 50, 100 ve 300 µM konsantrasyonlarında çinko uygulaması yapılmış, sürgünlerde su içerik yüzdesinin 50 µM'dan sonra, köklerde ise 100 µM'dan sonra azalışa geçtiği görülmüştür (Sagardoy ve diğ., 2009). Nanotoksitenin salatalık bitkilerine olan etkilerinin araştırıldığı bir

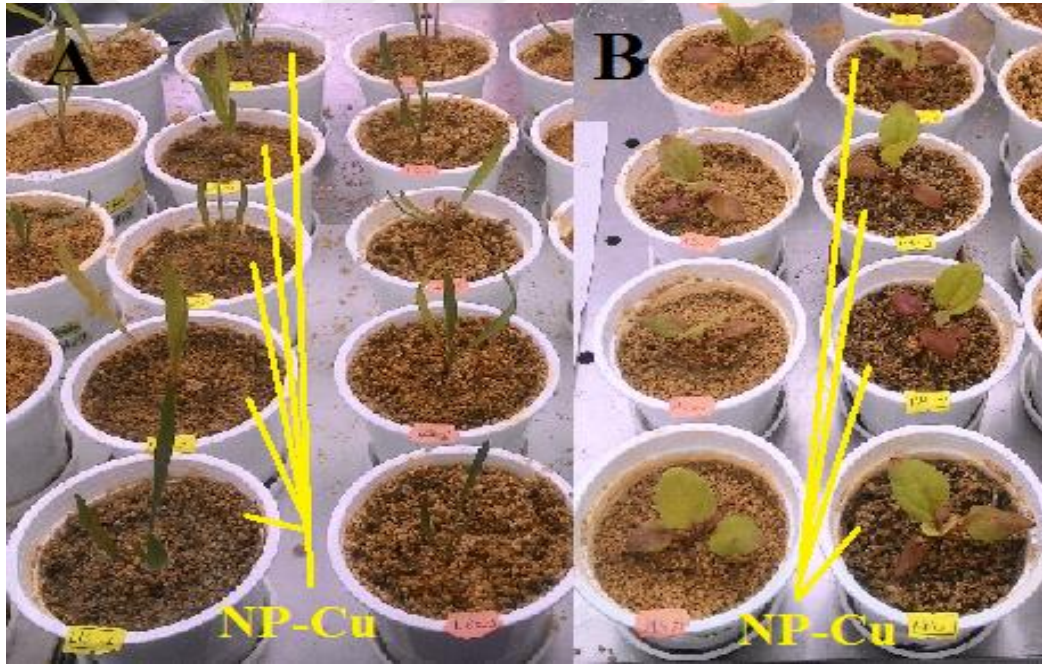
çalışmada 400, 800 mg/L konsantrasyonlarında ZnO ve CeO₂ nanopartikülleri uygulanmış ve sonuç olarak yüksek konsantrasyonlarda dahi bitkilerin su içeriğini koruduğu kaydedilmiştir (Zhao ve diğ., 2013b). Başka bir araştırmada kuraklık stresi uygulanan buğday fidanlarında nanopartikül Cu ve Zn kullanımlarının yapraklarda su içeriğini yükselttiği tespit edilmiştir (Taran ve diğ., 2017). Deneylemizde ZnO uygulamaları sonucu köklerde artan çinko konsantrasyonunun su tutma kapasitesini yükseltebileceği bulunmuştur. İki türde uygulanan hacimsel ve nanopartiküler çinko süspansiyonlarının bitki köklerinin su tutma kapasitelerine farklı etkilerde bulunduğu görülmüştür. Chen ve diğ. (2018) tarafından yürütülen bir araştırmada, farklı konsantrasyonlarda uygulanan ZnO nanopartiküllerinin köklerde su içeriğini artırabildiği kaydedilmiştir. Wang ve diğ., (2016), *Arabidopsis* türüne farklı konsantrasyonlarda nanopartiküler ZnO (100, 200, 300 mg/L) uygulamaları yapmış ve 100 mg/L ve 200 mg/L konsantrasyonlarında bir değişkenlik olmamakla birlikte sadece 300 mg/L'de kök ve toprak üstü organlarının su içeriklerinde düşüş olduğunu rapor etmişlerdir. Bitkilerde su tutma kapasitesinde görülen farklılıklarda, uygulanan çinko konsantrasyonu anahtar rol oynamaktadır.

Deneylemiz sonucunda bitkilerin maruz kaldığı ağır metal çeşidi, partiküler boyutu ve konsantrasyonlarına göre su içeriklerinin değişkenlik gösterebildiği bulunmuştur. Üç farklı ağır metalin (Co, Cu ve Cr) karnabahar (*Brassica oleracea*) bitkisinde fitotoksik etkileri üzerinde yapılan bir araştırmada bitkilerde bağıl su içerikleri kobalt uygulanan gruplarda artmış diğer uygulamalarda ise değişkenlik göstermemiştir (Chatterjee ve Chatterjee, 2000). Lahana üzerinde yapılan benzer bir çalışmada ise Co, Ni ve Cd iyonlarının yaprak bağıl su içeriklerine etkileri araştırılmış ve sonuç olarak, kobalt ile nikel iyonlarının su içeriğini artırdığı kadmiyumun ise azalttığı kaydedilmiştir (Pandey ve Sharma, 2002). Uygulamalarımız sonucunda, bitkilerin su içerik yüzdelerinde görülen bu değişkenliklerde tür farklılıklarının anahtar rol oynayabileceği düşünülmektedir. Özellikle karasal bitkilerde iç vasküler dokuyu dış korteksten ayıran ve silindirik bariyer görevi gören endodermisin yapısal özellikleri ağır metale maruz kalan köklerin su tutma kapasitesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu durumun daha ayrıntılı bir şekilde ortaya konması adına ileride anatomik düzeyde çalışmaların yapılması gerekmektedir.

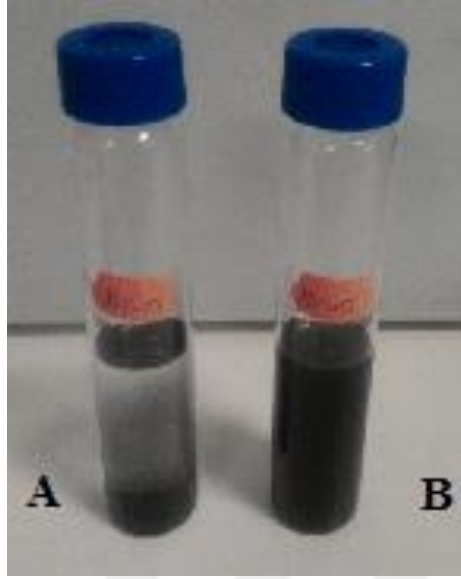
Yetiştirme ortamlarının pH seviyesi nanopartiküler ağır metallerin hareketlerini düzenleyen en kritik faktörlerden biri olmakla birlikte; nanopartiküler ağır metallerin asidik ortamda çözünebilir iyonlara ayrıştırılarak alınabilir forma geçerken, alkali ortamlarda ise tam tersi çözünürlüğü azalmakta ve partiküler hacmi artmaktadır (Dimkpa ve diğ., 2013). Nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulanan kültür ortamlarında ki pH değişimlerine bakıldığında iki türün gruplar arasında benzer değişimler gösterdiği gözlenmiştir. İki türde de pH derecesi, kontrol grupları ile karşılaştırdığımızda uygulama gruplarında artış göstermiş ve nanopartiküler uygulama gruplarında ki artışın hacimsel uygulamaya nazaran daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum nanopartiküllerin yetiştirme ortamında kum ve perlite adsorbsiyonundan kaynaklı olabilir. İki türde kültür ortamlarının pH seviyelerine göre sıralanışı; Kontrol (pH:9,1-9,2) < H-Zn (pH:9,3-9,4) < NP- Zn (pH:9,5-9,5) şeklindedir. Toprak pH seviyesinin ZnO nanopartiküllerinin fitotoksitesine olan etkilerinin incelendiği bir çalışmada Zn konsantrasyonu arttıkça toprak pH seviyesinin arttığı ancak artan pH'la birlikte çinko'nun toprak içi çözünürlüğünün düştüğü kaydedilmiştir (Waalewijn-Kool, 2014). Bu çalışmayla paralel bir şekilde Nanopartiküler Zn uygulanan ortamlarda görülen pH artışı, hacimli Zn uygulanan ortamlara göre çinkonun çözünürlüğünü göreceli olarak azaltarak kültür ortamlarında ki aktivitesini indirgemiş ve kökten emilimini azaltmış olabilir. Dimpka ve diğ. (2012), buğday üzerinde oksidatif stres ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, pH seviyesi yaklaşık 8 olan kum kültürlerinde hacimsel ve nanopartiküler ZnO bileşiklerinin 1, 7 ve 14. günlerdeki çözünürlük derecelerini incelemiş, ve her iki çinko oksitin de çözünürlüğünün birinci gün en yüksek seviyede olduğu, yedinci günden sonra ise büyük oranda azaldığını kaydetmişlerdir. Ayrıca ZnO toksitesine maruz kalan buğdayların sürgünlerinde bulunan Zn birikimleri incelendiğinde hacimsel Zn uygulanan bitkilerin sürgünlerinde yaklaşık %3 oranında daha fazla akümülyasyon kaydetmişlerdir. 15 günlük hacimsel ve nanopartiküler ZnO uygulamamızda benzer bir durum tespit edilmiştir. Ağır metal analizlerine bakıldığında hacimsel çinkonun bitkilerde emilimleri daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum nanopartiküler çinkonun yetiştirme ortamlarında kullanılan kum ve perlit taneciklerinin yüzeylerine daha yüksek düzeyde adsorbe olmaya eğilim gösterdiği ihtimalini güçlendirmektedir. Öte yandan kökler ile daha çok etkileşime girdiği düşünülen H-ZnO, kök yüzeylerinde birikme yoluna giderek kök membran yapısına zarar vermiş olabilir. İyon sızıntısı ve hücre membran hasarıyla ilgili veriler bu durumu desteklemektedir. Araştırmamızda ZnO uygulamaları pH seviyelerinde değişikliklere neden olsa da, apolar

yapıda olduğu ve sudaki çözünürlüğü çok düşük olduğu için (%0,0004 (17,8°C), (Uikey ve Vishwakarma, 2016)), kum kültürlerinin elektriksel iletkenliklerinde herhangi bir farklılık oluşturmamıştır.

Deneilerimizde, nanopartiküler ve hacimsel ZnO uygulamalarının yanı sıra, bazı fizyolojik ve ağır metal ölçümlerinde ortaya çıkan sorunlar nedeniyle teze dahil edilmeyen nanopartiküler ve hacimsel CuO analizlerinde benzer durumlar görülmüştür. 15. günün sonunda NP-CuO'ların net bir şekilde kültür ortamlarına adsorbe olduğu tespit edilmiştir. Siyah renge sahip hacimsel ve nanopartiküler CuO uygulamaları (Şekil 5.2), kum kültürlerinin renklerinde gözle görülür bir şekilde değişim göstermesine neden olmuştur (Şekil 5.1).



Şekil 5.1 15. gün sonunda nanopartiküler ve hacimsel CuO (100 mg/L) uygulamaları yapılmış bitkiler. Sarı etiketliler NP-CuO uygulanan grupları, kırmızı etiketliler H-CuO uygulamaları temsil etmektedir (A: *P. lanceolata*, B: *P. major*).



Şekil 5.2 Hacimsel (A) ve nanopartiküler (B) CuO süspansiyonları (1000 mg/L).

İyon sızıntı yüzdelerine bakıldığında, *P. major* ve *P. lanceolata* türlerinin toprak üstü organlarında herhangi bir değişim gözlenmediği ancak köklere bakıldığında ise, *P. major* türünün hacimsel Zn uygulama grubunda, kontrole kıyasla önemli bir artışta bulunduğu görülmüştür. *P. lanceolata* türünde ise istatistiksel açıdan önemsiz bulunsa da, H-Zn uygulama grubunun diğer gruplara kıyasla hafif bir artışta bulunduğu kaydedilmiştir. Nanopartiküler uygulama gruplarında ise özellikle köklerde kontrole kıyasla çok küçük bir artış görülse de bu durum istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

Hücre membran hasar yüzdeleri incelendiğinde ise *P. major* kök ve toprak üstü organlarında istatistiksel bir artış gözlenmemiştir. *P. lanceolata* türünün toprak üstü organlarında durum aynı olsa dahi köklere bakıldığında ise H-Zn uygulamasında büyük bir artış kaydedilmiştir.

Nanopartiküler ve hacimsel bakır uygulamalarının iyon sızıntı yüzdesi ve hücre membran hasar seviyelerinde de benzer bir durum gözlenmiştir. İki parametrede toprak üstü organlarda istatistiksel açıdan bir farklılık barındırmamakla birlikte, köklerde özellikle H-Cu uygulanan gruplarda önemli bir artış kaydedilmiştir (Tablo 5.2).

Tablo 5.2 Nanopartiküler ve hacimsel CuO uygulamaları yapılan bitkilerde iyon sızıntı yüzdesi ve hücre membran hasar ölçümleri (Hata Çubukları: \pm Standart Hata ($P < 0,05$), $N:4$).

<i>P.major</i> İyon Sızıntı Ölçümleri (%)			<i>P.major</i> Hücre Hasar Ölçümleri (%)		
Yaprak	Ortalama	Standart Hata	Yaprak	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	2,651	$\pm 0,172a$	Kontrol	0,005	$\pm 0,002a$
NP-Zn	8,604	$\pm 3,921a$	NP-Zn	0,066	$\pm 0,040a$
H-Zn	7,907	$\pm 2,272a$	H-Zn	0,059	$\pm 0,023a$
Toplam	6,387	$\pm 1,585$	Toplam	0,043	$\pm 0,016$
Kök	Ortalama	Standart Hata	Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	17,738	$\pm 1,393b$	Kontrol	0,040	$\pm 0,016b$
NP-Zn	35,000	$\pm 6,124ab$	NP-Zn	0,178	$\pm 0,042ab$
H-Zn	41,250	$\pm 5,907a$	H-Zn	0,221	$\pm 0,046a$
Toplam	31,329	$\pm 3,968$	Toplam	0,146	$\pm 0,030$
<i>P.lanceolata</i> İyon Sızıntı Ölçümleri (%)			<i>P.lanceolata</i> Hasar Ölçümleri (%)		
Yaprak	Ortalama	Standart Hata	Yaprak	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	11,280	$\pm 1,318a$	Kontrol	0,032	$\pm 0,014a$
NP-Zn	15,417	$\pm 3,560a$	NP-Zn	0,077	$\pm 0,039a$
H-Zn	14,921	$\pm 1,851a$	H-Zn	0,072	$\pm 0,020a$
Toplam	13,872	$\pm 1,390$	Toplam	0,060	$\pm 0,015$
Kök	Ortalama	Standart Hata	Kök	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	29,167	$\pm 2,406b$	Kontrol	0,056	$\pm 0,032b$
NP-Zn	41,667	$\pm 4,811ab$	NP-Zn	0,222	$\pm 0,064ab$
H-Zn	50,000	$\pm 0a$	H-Zn	0,333	$\pm 0a$
Toplam	40,278	$\pm 3,049$	Toplam	0,204	$\pm 0,041$

Kum kültürlerinin yüksek pH seviyeleri NP-ZnO'nun yetiştirme ortamında kum ve perlit yüzeyleri gibi inorganik maddeye olan adsorbsiyon seviyesini artırmakla birlikte; H-ZnO'nun ise köklere yani organik maddeye doğru adsorbsiyon düzeyini yükseltmiş olabileceği düşünülmektedir. CuO uygulamalarından benzer olarak elde edilen iyon sızıntısı ve hücre membran düzeylerinin yüzdeleri bu durumu desteklemektedir. Ayrıca hacimsel ve nanopartiküler ZnO uygulanan kum kültürleriyle paralel olarak, CuO uygulanan yetiştirme ortamlarında ölçülen pH seviyelerinin kontrole kıyasla yükseldiği kaydedilmiştir (Tablo 5.3).

Tablo 5.3 Hacimsel ve nanopartiküler CuO uygulamaları yapılan yetiştirme ortamlarında pH dereceleri. (Standart Hata: \pm ($P < 0,05$), $N:4$).

pH Ölçümleri	Kontrol	NP-Cu	Hacimli-Cu
<i>P. major</i>	9,1 \pm 0,053b	9,59 \pm 0,03a	9,51 \pm 0,019a
<i>P. lanceolata</i>	9,24 \pm 0,19b	9,54 \pm 0,35a	9,5 \pm 0,14a

İyon sızıntısı ve hücre membran hasar yüzdelerinden elde ettiğimiz bu veriler doğrultusunda, partiküler açıdan daha büyük bir boyuta sahip olan hacimsel Zn uygulanan gruplarda çinko elementinin kültür ortamlarından kökün iç dokularına doğru hareketleri, nanopartiküler Zn uygulamalarına nazaran daha kısıtlı olabileceği için kök yüzeylerinde daha yüksek oranda birikme yoluna gittiği düşünülmektedir. Bu durum iyon sızıntısı ve membran hasar yüzdeleriyle doğru orantılı olarak köklerde nekrozu daha fazla tetiklediği şeklinde yorumlanabilir. Kök yüzeylerinde artan membran hasarı ve iyon sızıntısı ile oluşması potansiyel doku kaybıyla bağlantılı bir şekilde H-Zn uygulamasının, NP-Zn uygulamasına göre kök yüzeyinde adsorbsiyon oranını daha çok yükselttiği ve bu nedenle köklerde çinko birikiminin nanopartiküler uygulamalara kıyasla daha yüksek seviyede olduğu ön görülmektedir. Bu tarz oluşabilecek vakaların ileride mikroskobik düzeyde daha ayrıntılı bir şekilde çalışılması gerekir. Bu durumda bitkilerde H-ZnO emilimin daha yüksek olmasının köklerde oluşması muhtemel nekrozlardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

P. major ve *P. lanceolata* köklerinde Zn birikimlerine bakıldığında H-Zn uygulanan gruplarda ölçülen akümülyasyon seviyelerinin NP-Zn uygulanan gruba nazaran daha yüksek olma nedeni kültür ortamlarının genel özellikleri ile pH seviyelerinde görülen küçük değişikliklerden dolayı kaynaklanıyor olabilir. Nanopartiküler ve hacimsel ZnO uygulamaların toprak içi bazı bakteriyel topluluklara olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, asidik pH (4,8 ve 5,9) düzeyinde ki ortamlarda bakteriyel toplulukların daha yüksek pH'a (7,2) sahip ortamlara nazaran Zn toksisitesine daha çok maruz kaldığı görülmüş ve yüksek konsantrasyonlarda nanopartiküler ve hacimsel uygulamalarının toprak içindeki hareketlerinin benzer özellikler barındırdığı kaydedilmiştir (Read ve diğ., 2015). Yetiştirme ortamlarında pH değişimlerinin bitkilerde akümülyasyon potansiyellerine etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise *Valeriana officinalis* türünün köklerinde Cu ve Zn birikimlerine bakılmış; asidik ortamlara nazaran (pH: 5,1), bazik ortamlarda (pH: 10) bitki köklerinde Cu ve Zn akümülyasyon oranlarının farklılık gösterdiği rapor edilmiştir (Adamczyk-Szabela ve diğ., 2015). Çalıştığımız gruplarda pH ölçümlerinde görülen ufak değişimler çinko birikimlerine

etkide bulunmuş olabilir. Nitekim pH değişimleri dışında hacimsel uygulamalarda ölçülen Zn birikimi köklerden emilemeyecek kadar büyük partiküllerin kök yüzeylerinde gerçekleşen yüksek düzeyde adsorbsiyon derecesinden kaynaklı olabileceği ihtimalini de içinde barındırmaktadır.

Toprak üstü organlarda Zn birikimlerine bakıldığında *P.major* türünde hacimsel Zn uygulanan grup, NP-Zn uygulanan gruba kıyasla çok az bir farkla daha yüksek birikim gösterirken, *P. lanceolata* türündeki birikimlere göz atıldığında ise hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulama grupları arasında istatistiksel bir fark kaydedilmemiştir. Bu durum uygulanan Zn süspansiyonlarının köklerden absorbe edilerek toprak üstü organlara iletildiğini göstermektedir. Ayrıca hacimsel uygulamalarda çinko'nun kültür ortamlarından köklere doğru emilim seviyesinin daha yüksek olduğunu ancak bununla birlikte, hacimsel uygulamalarda bitki içinde köklerden toprak üstü organlara doğru Zn translokasyon seviyelerinin nanopartiküler uygulamalara nazaran daha düşük düzeyde kaldığı bulunmuştur. Bu durumda hacimsel ZnO uygulamasının köklerde adsorbsiyonun yüksek olma ihtimalini güçlendiren başka bir etmenddir.

Makro besin elementlerinden biri olan magnezyum; klorofil ve protein sentezi, hayati enzimlerin tetiklenmesi ve fotosentez aktiviteleri başta olmak üzere bitki fizyolojisinde önemli birçok işlevi bulunmaktadır (Marschner, 2012). Hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulaması genellikle kültür ortamlarından köklere magnezyum emilimini azaltmış ancak köklerde Mg konsantrasyonunu artırıcı bir etkide bulunmuştur. Bu durumun sebebi yine Zn uygulaması, magnezyumun köklerden toprak üstü organlara doğru ilerleyişini büyük oranda engellediğinden dolayı ileri gelmektedir. Çinko'nun uygulanan formu ve konsantrasyon seviyesi magnezyumun emilim düzeyinde değişkenliklere yol açabilir (Kabata-Pendias, 2011; Masarovičová ve Králová 2013; Amooaghaie ve dię., 2017). Örneğin, Çin lahanası (*Brassica pekinensis*) üzerinde yapılan bir çalışmada farklı ZnCl₂ konsantrasyonlarda yetiştirilen bitkilerde 5-10 µM uygulama düzeylerinde kök ve sürgünlerinde magnezyum konsantrasyonuna bir değişim olmadığı görülmüştür (Stuiver ve dię., 2014). Düşük Zn konsantrasyonlarının Mg alım seviyesini yükselttiği görülen çalışmalarda mevcuttur (Prasad ve dię., 2016). Ancak yapılan başka bir araştırmada kültür ortamında artan çinko konsantrasyonunun Ca, K, Mg gibi birçok besin elementlerinin kökten sürgüne translokasyon seviyesini düşürmesi sebebiyle köklerde yüksek konsantrasyonlarda birikimlerine sebep

olabileceği görülmüştür (Godbold ve Hüttermann, 1985). Soya fasülyesi üzerinde yapılan başka bir çalışmada yüksek konsantrasyonlarda NP-ZnO uygulamalarının yapraklarda magnezyum konsantrasyonunu düşürdüğü kaydedilmiştir (Peralta-Videa ve diğ., 2014). Bu çalışmalarla paralel olarak bizim çalışmamızda *P.major* toprak üstü organlarında ölçülen değerlere bakıldığında, kontrol grubuna nazaran uygulama gruplarında magnezyum seviyesinde azalma mevcuttur (H-Zn < NP-Zn < Kontrol). *P.major* türünün köklerinde ise gruplar arası Mg birikimlerinde bulunan farklılıklara bakıldığında, kontrol ile uygulama grupları arasında istatistiki bir değişim bulunmamasıyla birlikte; hacimsel uygulama grubu nanopartiküler Zn uygulamaya nazaran Mg ihtivasını artırmıştır. Köklerde Mg seviyeleri Kontrol < NP-Zn < H-Zn şeklindedir. *P.lanceolata* türünde toprak üstü organlarda Mg birikim seviyeleri istatistiksel farklılık barındırmayan bir azalma göstermektedir (H-Zn < NP-Zn < Kontrol). Köklerde ise hacimsel Zn uygulamalarına kıyasla, NP-Zn uygulama grubu, Mg birikimlerini daha fazla tetiklemiş ve toprak üstü organlara iletimlerini yüksek düzeyde inhibe ettiği görülmüştür (Kontrol < H-Zn < NP-Zn). Nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulamalarının magnezyum birikimlerine olan etkisi iki türde de benzerlik taşımakla birlikte *P.major* türünde hacimsel uygulamanın, *P.lanceolata* türünde ise nanopartiküler uygulamanın Mg taşımaya olan etkileri daha yüksektir. Bu durumda uygulanan çinkonun partiküler boyutunun yanı sıra etkileşime girdiği bitki türünün de toksisite seviyelerinde değişkenlikler oluşturabileceğini göstermektedir.

Magnezyum dışında kalsiyum bitkiler için önemli bir makro besin elementi olmakla birlikte; genel büyüme ve gelişimi, membran stabilizasyonu ve geçirgenliği, anyon ve katyon dengesinin düzenlenmesi, biyotik ve abiyotik stres durumlarında ikinci uyarıcı olma gibi birçok işlevi bulunmaktadır (Marschner, 2012).

Zn – Ca etkileşimleri, Zn – Mg ilişkisinde olduğu gibi; genel olarak bitki türü ve yetiştiği ortam içinde farklılık göstermekle birlikte pH gibi önemli parametreler ile bazı faktörler arasındaki interaksiyonların antagonistik ve sinerjik karakterini kontrol eder (Kabata-Pendias, 2011). Özellikle yüksek Zn uygulamalarının, Ca ve Zn arasında bulunan antagonistik etkileşimleri indükleyerek Ca emilimini inhibe ettiği kaydedilmiştir (Prasad ve diğ., 2016).

Çinko uygulanan *Silene maritima* türlerinin toleranslı ve toleransız populasyonları üzerinde yapılan bir araştırma sonucunda, toleranslı bitkilerin kalsiyum konsantrasyonlarında değişim gözlenmediği ancak tolerans göstermeyen topluluklarda ise kalsiyum birikiminin önemli ölçüde azaldığı kaydedilmiştir (Baker, 1978). Fıstık (*Arachis hypogaea*) bitkisi üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise yüksek düzeyde Zn uygulamalarının yaprak bünyesinde Ca ve N konsantrasyonlarını önemli ölçüde düşürdüğü kaydedilmiştir (Parker ve diğ., 1990). Aynı tür üzerinde yapılan farklı bir çalışmada ise benzer bir şekilde Zn uygulamalarının yapraklardaki Ca birikimlerine azaltıcı bir etki gösterdiği vurgulanmıştır (Davis-Carter ve diğ., 1991). Farklı konsantrasyonlarda NP-ZnO uygulamalarına maruz kalmış soya fasülyesinde 500 mg/L nanopartiküler çinko oksit düzeyinin yapraklarda Ca birikimini azalttığı kaydedilmiştir (Peralta-Videa ve diğ., 2014).

Hacimsel ve nanopartiküler çinko uygulamalarının kalsiyum birikimlerine olan etkilerine baktığımızda; *P.major* türünün toprak üstü organlarında çinko uygulamaları kontrol grubuna kıyasla, Ca seviyelerinde azaltıcı bir etki göstermiştir. Ancak bununla birlikte hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulamaları arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Köklerden elde edilen ölçümlerde ise nanopartiküler Zn uygulaması köklerde kalsiyum birikimini arttırıcı bir etki göstermiştir. *P. major* bitkisinde nanopartiküler ve hacimsel Zn uygulamaları, toprak üstü organlara kalsiyum geçişini azaltmakla birlikte, nanopartiküler uygulama köklerden sürgünlere olan geçişi, hacimsel uygulama ise daha çok kültür ortamlarından köklere kalsiyum alımını engellediği gözlemlenmiştir. *P.major* türü üzerinde çinko uygulamalarının partiküler boyutları arasındaki farklılıklar kalsiyumun emilimi ve translokasyonuna olan etkisinde değişkenlikler göstermesine neden olmuştur. *P. lanceolata* türünde ise, uygulama gruplarında toprak üstü organlarda kalsiyum absorpsiyonu kontrole kıyasla önemli ölçüde azalmış, kalsiyum seviyelerine göre gruplar H-Zn < NP-Zn < Kontrol şeklinde dizilim göstermiştir. Köklerde kalsiyum düzeyi kontrol grubuna kıyasla uygulama gruplarında daha yüksek seviyede bulunmakla birlikte hacimsel ve nanopartiküler uygulamalar birbirleriyle karşılaştırıldığında, istatistiksel bir farklılık barındırmadıkları bulunmuştur. Köklerden, toprak üstü organlarda kalsiyum geçiş oranını H-Zn uygulaması daha çok engellese de, kültür ortamlarından köklere doğru emilim oranlarına bakıldığında NP-Zn uygulamasının azaltıcı etkisinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda iki türde de yüksek konsantrasyonlarda uygulanan Zn seviyeleri, Ca birikim düzeylerini benzer bir şekilde indirgemıştır. Fakat hacimsel ve nanopartiküler Zn

uygulamalarını birbirleriyle karşılaştırdığımızda ise, kalsiyum elementinin kültür ortamlarından köklere emilim oranları ve köklerden sürgünlere iletimlerine olan etkilerinde değişkenlikler olduğu görülmüştür.

Potasyum elementi protein sentezi, fotosentez aktivitesi, osmoregülasyon dengesi, birçok enzimin indüklenmesi, stoma hareketleri, enerji transferi, floem nakliyesi, katyon-anyon dengesi ve stres direnci gibi bitki için hayati birçok durumda önemli görevlere sahiptir (Marschner, 2012). Türler arası potasyum birikimleri önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir. *P. major* toprak üstü organlarında K birikimlerine bakıldığında H-Zn uygulamasının pozitif bir etki yarattığı görülmüştür. Birikim oranlarıyla paralel olarak kökten toprak üstü organlara K iletimine göre gruplar NP-Zn < Kontrol < Hacimsel-Zn şeklinde dizilim göstermektedir. Kontrol ve uygulama grupları arasında köklerdeki potasyum birikim oranları istatistiksel açıdan önemsiz bulunsa da kültür ortamlarından köklere potasyum alım oranları değişkenlik göstermekte ve kültür ortamlarında biriken potasyum seviyelerine göre gruplar, Kontrol < NP-Zn < H-Zn şeklinde dizilim sergilemektedir. *P. lanceolata* türünde ise NP-Zn uygulaması kök ve toprak üstü organlarda potasyum emilimde pozitif bir etkiye sahiptir. Kök ve toprak üstü organlarda potasyum birikimlerine göre grupların sıralanışı, H-Zn < Kontrol < NP-Zn şeklindedir. Nitekim H-Zn uygulaması, kültür ortamlarından köklere potasyum geçişine büyük ölçüde engellemiştir.

P. major türünde H-Zn, *P. lanceolata* türünde ise NP-Zn toprak üstü organlarda potasyum alımı ve birikimini teşvik edici bir etkide bulunmuştur. Uygulanan çinkonun partiküler boyutlarına göre potasyum birikim oranlarında değişken etkiler gözlenmekle birlikte, kullanılan *Plantago* türleri arası farklılıklar da bu durumu tetikleyici bir unsur olduğu ihtimalini taşımaktadır. Potasyum, bitkilerinin çevresel stres koşulları altında hayatta kalmasında özel bir rol oynar (Çakmak, 2005). Türler arası potasyum birikimlerinde görülen bu değişkenlikler ağır metal stresinin tetiklediği toksisite düzeyinden kaynaklanan bir durum olabilir. Tuzluluk stresi ile ilgili yapılan bir çalışmada potasyum biriktirmeye meyilli bir buğday mutanı üzerinde artan konsantrasyonlarla NaCl uygulanmasına rağmen bitkiler osmotik toleransını geliştirmiş ve büyüme parametreleri incelendiğinde stresten etkilenmediği görülmüştür (Rascio ve diğ., 2001). Tüm bunların yanı sıra makro ve mikro besinlerin içerdiği elementler arası antagonistik ve sinerjik etkilerinde potasyumun kök ve toprak üstü organlardaki birikim oranlarında farklılıklar meydana getirdiği düşünülmektedir (Kabata-

Pendias, 2011). Ortamda belli seviyelerde bulunan Zn elementi, fosfor ile birlikte potasyumun bitkilerde emilim seviyesini yükselten bir unsur olduğu kaydedilmiştir (Ranalde-Malvi, 2011). Alkali topraklarda artan Zn uygulamasının K alımını da teşvik ettiği görülmüştür (Shukla ve Mukhi, 1980). Yine aynı araştırmacılar, bazik ortamlarda yetiştirilen Mısır (*Zea Mays*) bitkisine Zn uygulamasının sürgünlerde potasyum miktarını artırdığını belirlemişlerdir (Shukla ve Mukhi, 1985). Peralta-Videa ve diğ. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (50, 100 ve 500 mg/L) uygulanan ZnO nanopartiküllerinin, soya fasulyesinin gövdelerinde potasyum birikimini yükselttiği kaydedilmiştir. Shukla ve Prasad (1974)'ın çalışmalarında alkali topraklarda Zn uygulamasının benzer sonuçlar doğurduğu görülmüştür. Bu durum yine alkali ortamlarda yetiştirdiğimiz bazı grupların ölçümlerinden elde ettiğimiz K değerleriyle paralellik taşımaktadır. Ancak yine de nanopartiküler ve hacimsel çinko uygulamalarının türler arası potasyum emiliminde değişken olan etkilerinin daha iyi anlaşılması için moleküler düzeyde çalışmalar yapılması gereklidir. Bunun için ise, potasyumun, doku kültürü düzeyinde biyotik ve abiyotik streslere karşı bitkinin direncine etkisi incelenmeli ve ardından elde edilen ön veriler doğrultusunda toprak, bitki ve çevresel faktörlere dayanan modellemeler vasıtasıyla ölçülen değerlerin yorumlanması önerilmektedir (Wang ve diğ., 2013).

Türler arası mangan birikimlerine baktığımızda yine nanopartiküler ve hacimsel çinko uygulamalarına göre bitkilerde ölçülen birikimlerin bir takım değişkenlikler barındırdığı görülmüştür. Mangan diğer mikro besin elementlerinden farklı olarak çoğunlukla, oksidasyon seviyesini azaltıcı, dekarboksilasyon ve hidrolitik reaksiyonlarda katalizör görevi gören yaklaşık 35 farklı enzimin aktivasyonunda kofaktör işlevi görür (Burnell, 1988; Marschner, 2012). Bu açıdan manganın, antagonist ve sinerjik etkileşimleri ile diğer besin elementlerinin davranışlarını büyük ölçüde kontrol ettiği bilinmesine rağmen bu mekanizmaların tam olarak aydınlatıldığı söylenemez (Kabata-Pendias, 2011). Zn-Mn etkileşimleri ile ilgili yapılan bir takım çalışmalara bakıldığında çinko eksikliğinin yapraklarda Mn akümüülasyonunu artırıcı bir etki gösterdiği ve mangan toksisitesini artırdığı kaydedilmiştir (Rosell ve Ulrich, 1964; Ohki, 1977; Loneragan ve diğ., 1982; Kabata-Pendias, 2011). *P.major* türünde mangan birikimlerine bakıldığında toprak üstü organlarda Zn uygulamasının negatif bir etki gösterdiği kaydedilmiştir. Köklerde kontrol grubuna kıyasla uygulama gruplarında Mn birikimlerinde azalma mevcuttur. *P.lanceolata* türünde ise toprak üstü organlarda Mn birikimleri uygulama gruplarında azalma göstermektedir. Ancak köklerde ise diğer türle zıt bir şekilde NP-Zn

uygulama grubundaki Mn birikimi diğer iki gruba göre bir artış sergilemiştir. NP-Zn uygulamalarında köklerde ölçülen Mn birikimi, *P. major* bitkisinde azalma gösterirken, *P. lanceolata* türünde ise tam tersi şekilde artış göstermektedir.

Sagardoy ve diğ., (2009) turp bitkisi üzerine farklı konsantrasyonlarda NP-ZnO uygulamaları yapmış ve sonuç olarak toprak üstü organlarda artan Zn seviyesinin, bizim çalışmamızda da görüldüğü gibi, Mn emilimini negatif bir şekilde etkilediği kaydedilmiştir. Başka bir çalışmada ise soya fasulyesine 50, 100 ve 500 mg/L seviyelerinde NP-ZnO uygulamalarının diğer besin elementleri üzerinde etkilerine bakılmış ve sonuç olarak; 50 mg/L NP-Zn uygulanan bitkilerin yapraklarında Mn içeriğinde azalma, kök akümülyasyon oranlarında ise artış olduğu kaydedilmiştir (Peralta-Videa ve diğ., 2014). Aynı deneyde, 100 ve 500 mg/L NP-ZnO düzeylerine maruz kalan bitkilerde ise köklerde önemli ölçüde Mn azalışı olduğu rapor edilmiştir.

Deneyimizde toprak üstü organlardan elde edilen veriler, önceden yapılmış bazı çalışmalarla paralellik gösterse de Zn ve Mn arası etkileşimler; bitki türü ve yetiştirme ortamının özellikleri (pH, nem, sıcaklık vb.) gibi bazı parametrelere bağlı olarak çeşitlilik sergileyebilirler (Kabata-Pendias, 2011).

Demir elementinin temelde fotosentez aktivitesi, kloroplast üretimi, redox tepkimeleri ve katalitik bazı enzimlerin yapısına katılmak gibi bitkiler için birçok önemli rolleri bulunur (Marschner, 2012). Bitkilerde Fe ile diğer makro ve mikro besin elementleri arası etkileşimler çok karmaşık olmakla birlikte, Zn ile birbirlerinin emilim düzeylerini karşılıklı olarak düşürdükleri bilinmektedir (Kabata-Pendias, 2011; Prasad ve diğ., 2016).

P. major ve *P. lanceolata* türlerinin toprak üstü organlarında demir birikimlerine baktığımızda en düşük demir birikimi hacimsel Zn uygulama gruplarında görülmekle birlikte, Fe birikimlerine göre gruplar sırasıyla H-Zn < NP-Zn < Kontrol şeklinde dizilim göstermektedir. Köklerde ölçülen akümülyasyon seviyeleri ve kültür ortamlarında bulunan Fe oranlarında ise farklılıklar bulunmaktadır. *P. major* türünün köklerine baktığımızda en yüksek demir birikimi kontrol grubunda olmakla birlikte birikim düzeylerine göre gruplar; H-Zn < NP-Zn < Kontrol şeklinde dizilim göstermektedir. Kültür ortamları incelendiğinde, hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulama gruplarının köklerinde Fe emilim seviyelerinin büyük oranda azalma gösterdiği bulunmuştur. *P. lanceolata* türünün köklerinde ise en yüksek Fe birikimi NP-Zn uygulama

grubundadır. Köklerde ki demir birikimlerine göre gruplar; Kontrol < H-Zn < NP-Zn şeklinde sıralanmaktadır. Ancak kültür ortamlarından emilim oranlarına bakıldığında uygulama grupları diğer türle paralel olarak demir alımını indirgediği görülmüştür.

Soya fasüyesinde (*Glycine max*) çinko uygulamasının Fe translokasyonuna etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, kök epidermisinde aşırı birikim gösteren çinkonun, sürgünlere doğru Fe elementinin translokasyonunda indirgeyici bir etkisi olduğu kaydedilmiştir (Ambler ve diğ. 1970). Yine soya fasüyesi üzerinde yapılan başka bir çalışmada artan konsantrasyonlarda NP-ZnO uygulamalarının yapraklarda Fe birikimini önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir (Peralta-Video ve diğ., 2014). Ghasemi-Fasaei ve Ronaghi (2008) yürüttükleri bir çalışmada, buğday bitkilerinde yüksek demir uygulamalarının bitkilerde Mn, Zn ve Cu gibi elementlerin emilimini indirgediğini tespit etmişlerdir. Alkali ortamlarda yapılan bir çalışmada bazı bölgelerden toplanan *P. lanceolata* bitkilerinin ağır metal analizlerinde artan Zn seviyelerine karşılık Fe akümülyasyonlarında azalma olduğu belirlenmiştir (Szarek-Lukaszewska ve Niklinska, 2002). Bizim deneylerimizde bu çalışmalar ile paralel olarak Zn uygulamalarının benzer etkileri olduğu görülmüştür. Uygulamalar arası farklılıklara bakıldığında ise H-Zn uygulamasının NP-Zn uygulamasına göre demir alımını daha yüksek oranda inhibe ettiği kaydedilmiştir.

Ağır metallerin indüklediği oksidatif stresin, membranlarda iyon sızıntı düzeyini yükselttiği görülmüştür (Marschner, 2012). Özellikle, *P. lanceolata* toprak üstü organlarında azalan Fe içeriği ile orantılı olarak NP-Zn uygulama gruplarında, iyon sızıntı ve membran hasar yüzdelerinde istatistiksel olmayan bir artış kaydedilmiştir. Çilekler üzerinde yapılan bir çalışmada, Fe eksikliği görülen bitkilerde elektrolit sızıntısının orantılı bir şekilde arttığı belirlenmiştir (Kaya ve Ashraf, 2018). Hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulamalarının kültür ortamlarında pH seviyeleri üzerinde olan etkileri bu durumun sebeplerinden biri olma ihtimalini barındırmaktadır. Ancak aradaki bu farklılıkların sebebini daha iyi kavramak amacıyla moleküler düzeyde çalışmaların yapılması gereklidir.

Fizyolojik analizlerden elde edilen bulgular doğrultusunda hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulamalarının bitkilerde bir takım stres parametrelerini tetiklediği görülmüştür. Çalışmamızda NP-Zn uygulamalarında partiküllerin pH yüksekliğinden dolayı, kum ve perlit taneciklerine adsorbsiyon seviyesinin daha yüksek olduğu buna karşın, H-Zn uygulamalarında ise daha büyük hacme sahip parçacıkların yüzeye bağlanma aktivitesinin daha düşük

olmasından dolayı, nanopartiküllere kıyasla yetiştirme ortamında hemen adsorbe olmayarak bitki köklerine kadar ulaşarak kök yüzeyine daha yüksek seviyede nüfus ederek birikme yoluna gittiği düşünülmektedir. Bu durum elbette nanopartiküller ve hacimsel uygulamaların bitkiyle olan etkileşimlerinde bir takım farklılıklar meydana getirecektir. H-Zn uygulanan *P. major* türünün köklerinde ölçülen iyon sızıntı yüzdesi ile *P.lanceolata* türünün köklerinde ölçülen hücre membran hasar yüzdesinde meydana gelen artış bu durumla paralellik göstermektedir. *P. major* ve *P. lanceolata* türlerinin sürgünlerinde ölçülen iyon sızıntısı ve hücre membran hasar seviyelerinin gruplar arası istatistiksel bir değişkenlik göstermediği tespit edilmiştir.

Bitki kök örneklerinden ölçülen total fenolik seviyeleri incelendiğinde *P.major* ve *P.lanceolata* türleri arasında bir takım farklılıklar görülmüştür. Özellikle *P.major* türünde en yüksek birikim NP-Zn uygulanan grupta bulunmuştur. Fenolik madde seviyelerine göre sıralamaları NP-Zn > H-Zn > Kontrol şeklindedir. Buna karşın *P.lanceolata* köklerinden elde edilen değerler gruplar arası $P < 0,05$ düzeyinde istatistiksel bir farklılık barındırmamaktadır. Bu durum *P. major* bitkisinin çinko stresine daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Mohsenzadeh ve Moosavian'ın (2017) *Rosmarinus officinalis* türü üzerinde yaptıkları çalışmada toplam fenolik miktarının uygulama gruplarında artış gösterdiği kaydedilmiştir. *Capsicum annum* L. bitkisinin çimlenme aşamasında NP-ZnO uygulamalarının etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, fenolik miktarının çimlenen tohumlarda değişkenlik göstermediği fakat radikulalarda fenolik artışına sebep olduğu görülmüştür (García-López ve diğ., 2018). *P. major* bitkisinin köklerinde görülen fenolik madde artışıyla paralellik göstermektedir. İstatistiksel bir farklılık bulunmasa da, hacimli Zn uygulamalarında görülen iyon sızıntısı veya hücre membran hasar düzeylerinde artışa karşılık, *P.major* türünde fenolik madde miktarının yükselmesi; köklerle temas haline geçen nanopartiküller düzeyde Zn'un daha kolay emildiğini ve antioksidant sistemi daha hızlı bir şekilde indüklediği ihtimalini taşımaktadır. Bitki içinde nanopartiküller çinkonun köklerden toprak üstü organlara daha yüksek seviyede iletilmesi bu durumu destekleyici bir unsurdur. Bitki içeriğinde artan nanopartiküllerin neden olduğu ROS üretimine karşılık artan fenolik maddelerinde içinde bulunduğu antioksidantlar, bitkiyi oksidatif stresin toksik etkilerinden arındırır (Kumari, 2011). *Fagopyrum esculentum* üzerinde yapılan bir çalışmada ZnO NP uygulamalarının tetiklediği reaktif oksijen türlerinin neden olduğu zararlı etkilere karşılık bazı antioksidantların üretiminin indüklenmesinin nanotoksitenin öngörücü bir biyolojik belirleyicisi olabileceği öne sürülmüştür (Lee ve diğ., 2012). Amooaghaie ve diğ. (2017) tarafından yürütülen bir çalışmada, farklı

konsantrasyonlarda (50, 100 mg/L) nanopartiküler Zn uyguladıkları domates ve buğday bitkilerinde antioksidan aktiviteleri incelenmiş ve sonuç olarak; 100 mg/L'den sonra antioksidan enzimlerin etkinliğinin yükseldiği kaydedilmiştir. *Lupinus termis* üzerinde yapılan bir başka çalışmada, farklı ZnO konsantrasyonlarının (20, 40 ve 60 mg/L) tuzluluk stresi üzerindeki etkilerini incelemişler ve sonuç olarak fenolik maddenin 40 mg/L düzeyinden sonra yüksek oranda artış gösterdiği rapor edilmiştir (Latef ve diğ., 2016).

Çalışmamızda, iki bitki türünün de toplam klorofil ve karotenoid ölçümlerinde gruplar arası istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görülmemiştir. *P.lanceolata* türünde ise kontrol grupları ile diğer uygulama grupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmadığı ancak nanopartiküler Zn uygulamaları, hacimsel Zn uygulamalarına kıyasla klorofil a seviyesini azalttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, *P. lanceolata* türünde klorofil b ve toplam klorofil seviyelerinde ki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Yine Mohsenzadeh ve Moosavian'ın (2017) *Rosmarinus officinalis* türü üzerinde yaptığı bir çalışmada yüksek düzeyde uygulanan nanopartiküler çinko konsantrasyonlarının, klorofil miktarını azalttığı ancak karotenoid düzeyine etki etmediğini kaydetmişlerdir. Wang ve diğ. (2016) tarafından yürütülen bir çalışmada, *Arabidopsis* bitkisine 50 ile 300 mg/L arasında değişen konsantrasyonlarda NP-ZnO uygulanmış ve sonuç olarak; karotenoid miktarlarında önemli bir farklılık olmadığı ancak 300 mg/L konsantrasyonda Klorofil a, Klorofil b ve ikisinin toplamlarında büyük ölçüde azalma olduğu görülmüştür. Gübreleme ile ilgili yapılan başka bir araştırmada ise, 15 ve 25 günlük olmak üzere bezelye bitkisine farklı konsantrasyonlarda hacimsel ve nanopartiküler ZnO uygulanmış (125, 250, 500 mg/kg), ve sonuç olarak hacimsel ve nanopartiküler uygulamalarda klorofil miktarının önemli ölçüde inhibe edildiği rapor edilmiştir (Mukherjee ve diğ., 2014). Bitkilerin toplam klorofil ve karotenoid içerikleri ile PSII aktiviteleri arasında benzerlikler mevcuttur. PSII mekanizmasının maksimum kuantum verimliliği (Fv/Fm), fotokimyasal enerji dönüşümünün etkili kuantum verimi (Φ PSII), düzenlenmiş ve fotokimyasal olmayan enerji kaybının kuantum etkisi (Φ NPQ), düzenlenmemiş enerji kaybının quantum etkisi (Φ NO), PSII de ilk elektron yakalayıcı reseptör olan QA (Quinone A)'nın redox durumu (qP), kapalı redox merkezlerinin seviyesi (1-qP), PSII göreceli elektron taşıma oranı (ETR) ve enerji çıkışının ısı olarak yayılımına neden olan fotokimyasal olmayan sonüm (NPQ) parametrelerine bakıldığında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır.

Shaw ve diğ. (2014) tarafından yürütülen bir araştırmada buğday bitkilerine 10 ve 20 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda NP-CuO uygulanmış, 20. günün sonunda büyüme veriminin yüksek oranda azaldığı, buna karşın azalan klorofil seviyesinin PSII parametrelerini etkilemediği, bilakis en yüksek konsantrasyonda Φ PSII aktivitesinin arttığı kaydedilmiştir. Sagardoy ve diğ. (2009), farklı konsantrasyonlarda (50, 100, 300 μ M) ZnO nanopartiküllerine maruz kalan *Beta vulgaris* türleri üzerinde oluşan toksik etkileri incelemişler ve sonuç olarak demir gibi birçok elementin alımının inhibe olduğu görülmüştür. Bunun dışında 50 ve 100 μ m ZnO konsantrasyonlarında artan demir eksikliği ile tipik olarak klorofil karotenoid seviyelerinde azalma kaydedilmiş ancak Fv/Fm, Φ PSII ve qP parametrelerinde bir değişim görülmemiştir. Sadece NPQ değerinin 100 μ m de arttığı saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da artan Zn emilimi ile demir absorpsiyonunun azaldığı görülmüş ancak bu durum toplam klorofil miktarı ve PSII aktivitesinde istatistiksel bir değişikliğe neden olmamıştır. Sadece *P. lanceolata* türünde NP-ZnO uygulamasında ölçülen klorofil a miktarı, H-ZnO uygulamasına göre azalmıştır. *Beta vulgaris* stoma aktiviteleri üzerinde Zn toksisitesinin etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada artan konsantrasyonlarda ZnO uygulamalarına maruz kalan bitkilerin Fv/Fm ve Φ PSII değerlerinde önemli bir değişim görülmediği kaydedilmiştir (Sagardoy ve diğ., 2010). Tripathi ve diğ. (2017) tarafından yürütülen bir deneyde, buğday fidelerine ZnO uygulamaları yapılmış ve sonuç olarak; toplam klorofil, Fv/Fm düzeylerinde azalma, NPQ seviyesinde ise artış görülmüştür. Bizim çalışmamızda iki türün gruplar arası PSII parametrelerinde görülen farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Fv/Fm ile ilgili yapılan araştırmalarda optimum değerler 0,79 ile 0,84 arasında kabul edilir, daha düşük değerler ise bitkilerin stres altında olduğunu belirtir (Kitajima ve Butler, 1975; Maxwell ve Johnson, 2000). *P. major* türünün uygulama gruplarında Fv/Fm değerleri 0,79'un altına düşmüştür, bu durum deney gruplarımızda stres meydana geldiğinin bir göstergesi olarak düşünülebilir.

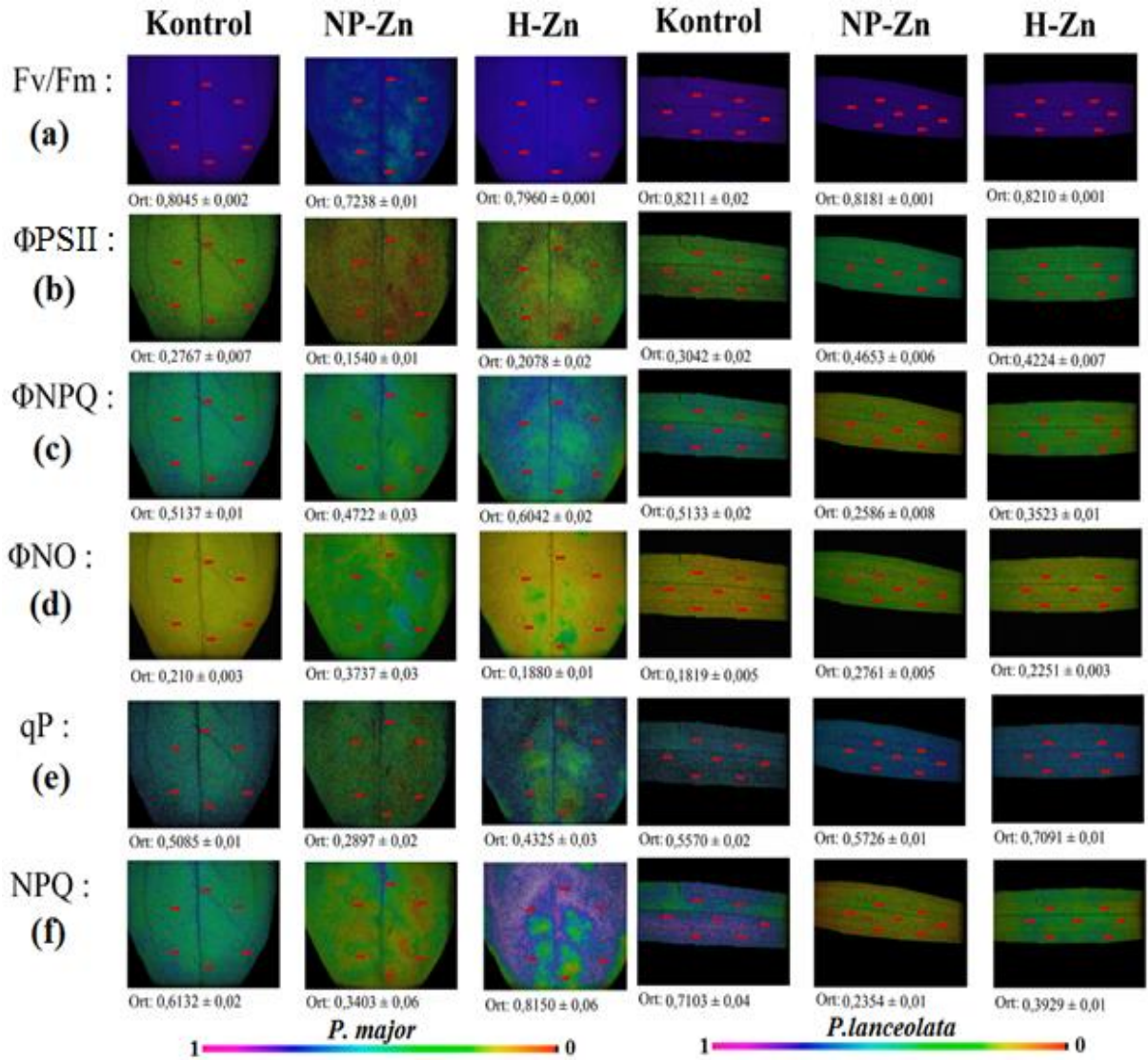
Türler arası bir değerlendirme yapılacak olursa; *P. lanceolata* türünün toplam karotenoid, Fv/Fm, qP, Φ PSII ve ETR değerlerinin daha yüksek; Φ NPQ, Φ NO ve NPQ değerlerinin ise *P. major* türüne kıyasla daha düşük düzeyde olduğu kaydedilmiştir. Bu parametreler dikkate alındığında, *P. major* türünün ZnO uygulamalarına karşı daha hassas olduğu görülmüştür.

Stres uygulamalarının etkisini yorumlamak için kullanılan parametrelerden biri de PSII aktivitesinin sayısal sonuçlarını belli bir renk skalası ile görsel olarak ifade edilmesini sağlayan klorofil floresans görüntüleridir. Bu görüntüler üzerinde spatiotemporal heterojenite olarak adlandırdığımız; zaman ve mekan unsurlarına göre kaydedilen renksel farklılıklar yaprak fotosentezi üzerindeki abiyotik stres etkilerinin görsel olarak sunulmasına olanak sağlamasıyla birlikte, PSII verimliliğini her hangi bir işlem olmaksızın değerlendirilmesine olanak tanır (Sperdouli ve Moustakas, 2011; Bresson ve diğ., 2015; Moustaka ve Moustakas, 2014; Antonoglou ve diğ., 2018).

PSII' de performans kaybı veya çeşitli nedenlerden ötürü oluşan bir takım yapısal hasarlar ile bağlantılı olarak moleküler seviyede bozunuma uğramasıyla yaprak üzerinde ışık emilim sırasında meydana gelen kompleksler ve bununla birlikte tetiklenen spatiotemporal heterojenik farklılaşmaların stres faktörünün daha iyi anlaşılması ve yorumlanmasında anahtar rolü olduğunu gösterir (Moustaka, ve Moustakas 2014; Antonoglou ve diğ., 2018; Bayçu ve diğ., 2018). Bu heterojenlik PSII parametrelerinde meydana gelen bir takım değişkenliklerin görüntüsel yansımasıdır.

Bayçu ve diğ. (2018) tarafından yürütülen bir çalışmada, hiperakümülatör olan *Noccaea caerulea* bitkisi farklı konsantrasyonlarda Cd stresine maruz bırakılmış ve sonuç olarak, 40 µM Cd uygulanan bitkilerde PSII'nin fotokimyasal quantum veriminin (Φ PSII) 3. günde azalmaya başladığı, 4. günde ise yüksek seviyede spatiotemporal heterojenite gösterdiği kaydedilmiştir.

Noccaea caerulea türü üzerinde yapılan başka bir araştırmada, Zn stresine maruz kalan bitkilerde K, Mn, Cu, Ca ve Mg gibi elementlerin emilimlerinin büyük ölçüde inhibe olduğu görülmüş ve bu durumla paralel olarak, 300 ve 1000 µmol foton m⁻² s⁻¹ aktinik ışık düzeylerinde yapılan fotosistem II aktiviteleriyle ilgili analizlerde 3. gün sonunda Φ PSII, Φ NPQ, Φ NO ve qP parametrelerinin yüksek seviyede spatiotemporal heterojenite gösterdiği rapor edilmiştir (Moustakas ve diğ., 2019). Özellikle Φ NO ve qP parametreleri incelendiğinde 3. ve 4. gün uygulamalar arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamasına karşın spatiotemporal heterojenite düzeylerinde ise yüksek oranda değişkenlikler içerdiği kaydedilmiştir. Bu açıdan spatiotemporal heterojenite oluşumları fotosistem II aktiviteleriyle ilgili olarak daha hassas ve ayrıntılı veriler elde etmemize olanak tanır.



Şekil 5.3 PSII mekanizmasının (a) Fv/Fm, (b) ΦPSII, (c) ΦNPQ, (d) ΦNO, (e) qP ve (f) NPQ parametrelerinin, 330 µmol foton m⁻²s⁻¹ aktinik aydınlanma düzeyinde fotokimyasal verilerini yansıtan temsili klorofil floresans görüntüleri (Sayısal değerler renk skalasına göre verilmiştir. Her fotosentetik parametrenin ortalama değeri resimlerin alt kısmında gösterilmiştir (Standart Hata: ±), resimlerde ki daireler belirlenmiş aktinik aydınlatma seviyesinde ölçülen alanlardır (AOI)).

Deney sonunda nanopartiküler ve hacimsel ZnO stresine maruz kalan *Plantago* türlerinin yapraklarında, klorofil floresans parametrelerinin renk kodlu görüntülerinde spatiotemporal heterojenlik belirlenmiştir. İncelenen klorofil floresans parametreleri arasında, en yüksek spatiotemporal heterojenite, enerji çıkışının ısı olarak yayılımına neden olan fotokimyasal olmayan sonüm (NPQ) değerlerinde görülmüştür (Şekil 5.3). Stres faktörü nedeniyle aşırı

uyarılmaya neden olan fazla enerjinin dışarıya ısı formunda dağıtılarak PSII aktivitesinin korunmasını sağlayan bir gösterge olan NPQ parametresi (Moustaka ve diğ., 2015), *P.major* türünde, kontrol grubundan sonra en yüksek H-Zn uygulama grubunda görülmekle birlikte (Şekil 5.3), en yüksek heterojeniteye sahip olan gruptur. NP-Zn uygulamasında ise NPQ değeri varyans ölçümlerinde kontrole kıyasla daha düşük olmasına karşın, spatiotemporal heterojenite artmıştır. *P. lanceolata* türünde ise kontrole kıyasla uygulama gruplarında NPQ parametrelerinde azalma görülmekle birlikte (Şekil 5.3), ağırlıklı renkler tamamen değişmiş ve orta damar etrafında renk homojenliği azalmıştır. Bu durum stres uygulamasının koruma parametrelerini bir şekilde inhibe edilmesine yol açtığı şeklinde yorumlanabilir. Ancak tüm yaprakların ortalama değerlerinin varyans hesaplamalarına bakıldığında gruplar arası farklılıkların $P < 0,05$ seviyesinde önemli olmadığı tespit edilmiştir. Yine de iki tür için NPQ floresans görüntülerinin stres faktörünü belirtmede iyi bir indikatör olabileceği görülmüştür.

PSII maksimum kuantum verimini temsil eden Fv/Fm parametresinin görselleri *P. lanceolata* türünde herhangi bir farklılaşma sergilemezken; *P.major* türünde ise azalan Fv/Fm değerleriyle birlikte özellikle nanopartiküler Zn uygulanan yaprak örneğinde yüksek oranda gelişen spatiotemporal heterojenite kaydedilmiştir (Şekil 5.3). Fv/Fm floresans görüntüleri istatistiksel bir farklılık içermemesine rağmen varyans hesaplamalarıyla paralelik göstermesi, bu parametrenin özellikle *P.major* türü için keskin bir indikatör olduğunu göstermektedir.

Türler arası PSII'nin fotokimyasal kuantum veriminin (Φ PSII) değerlerine bakıldığında; *P.major* türünün uygulama grupları, *P.lanceolata* türünün uygulama gruplarına kıyasla yüksek oranda renksel heterojenlik göstermiştir (Şekil 5.3). Özellikle NP-Zn uygulama grubu başta olmak üzere, uygulama gruplarında spatiotemporal heterojenite seviyesinde artış meydana gelmiştir. Ancak floresans görüntülerinde bulunan renksel değişkenliklere rağmen tüm yaprakların ortalama değerlerinin varyans hesaplamalarına bakıldığında ölçümlerin birbirlerine çok yakın olduğu ve Φ PSII parametrelerinde gruplar arası farklılıkların istatistiksel açıdan önemli olmadığı kaydedilmiştir. Bu duruma rağmen Φ PSII floresans görüntüleri nanopartiküler ve hacimsel ZnO uygulamalarının etkilerini anlamada iyi bir indikatör olarak işlev görebilir.

Işık kaynaklı fotokimyasal olmayan düzenlenmiş ve düzenlenmemiş kuantum sönü etkisi Φ NPQ ve Φ NO parametrelerine bakıldığında yine en yüksek spatiotemporal heterojenite değerleri *P.major* türünde görülmektedir. NPQ ile bağlantılı olarak radikal oluşumunu

önlemek amacıyla aşırı enerjinin regüle edilerek dışarı ısı olarak aktarılmasının kuantum aktivitesini belirten Φ NPQ parametresinde (Moustakas ve diğ., 2016; Moustaka ve diğ., 2015) bulunan değerlerine göre *P.major* ortalama varyans hesaplarına bakıldığında uygulama gruplarında istatistiksel olmayan bir azalma görülmesine karşın, spatiotemporal heterojenite seviyeleri kontrol grubuna göre oldukça yüksektir. Φ NO parametrelerinde ise ortalama varyans değerleri yine istatistiksel bir farklılık içermemekle birlikte, Φ NO düzeylerine göre Kontrol < H-Zn < NP-Zn şeklinde sıralanmıştır. Bu dizilime paralel olarak *P. major* türünde en yüksek düzeyde spatiotemporal heterojenite NP-Zn uygulanan grupta görülmekle birlikte, en düşük düzeyde ise kontrol grubunda olduğu kaydedilmiştir (Şekil 5.3). Bu durum Φ NO floresans görüntülerinde meydana gelen heterojenitenin *P. major* bitkisi üzerinde hacimsel ve nanopartiküler Zn uygulamalarının etkisini göstermede iyi bir indikatör olabileceğini gösterir.

P. lanceolata kontrol ve uygulama grupları Φ NPQ parametresine göre istatistiksel bir farklılık içermeyen ortalama varyans analizleri H-Zn < NP-Zn < Kontrol şeklinde dizilim gösterirken; Φ NO seviyeleri dikkate alındığında ise Kontrol < H-Zn < NP-Zn dizilimi sergilemektedir. *P.lanceolata* türünde Φ NPQ floresans görüntülerine bakıldığında her üç grupta spatiotemporal heterojenite mevcut olmakla birlikte; uygulama gruplarında kontrole kıyasla azalma göstermiş, renk yoğunluğu ve kombinasyonları büyük oranda değişmiştir. Φ NO görüntülerinde ise sayısal anlamda en yüksek seviyeye sahip olan NP-Zn uygulamasının floresans görüntüsünde bulunan heterojeniteler iki gruba kıyasla oldukça artmıştır (Şekil 5.3). Absorbe edilen ışığın büyük bir kısmının Φ NO tahsis edilmesiyle artan Φ NO seviyesi, koruyucu ve düzenleyici mekanizmaların yetersizliğinin bir göstergesi olarak; fotokimyasal enerji dönüşümünün inhibisyonuyla bağlantılı, radikal olmayan ancak ROS üretimine yatkın reaktif oksijen molekülü singlet oksijen (O_2) oluşumunu tetikler (Bayçu ve diğ. 2018; Moustakas ve diğ., 2016; Moustaka ve diğ., 2015). Moustaka ve diğ. (2015) tarafından yürütülen bir araştırmada, *Arabidopsis thaliana* bitkisi üzerinde bir herbisit etkileri incelenmiş; artan herbisit uygulamasının yapraklarda H_2O_2 seviyesinin yükselmesine neden olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber, PSII ölçümleri incelendiğinde Φ PSII seviyesinin azalarak Φ NO değerlerinin değişmeden Φ NPQ seviyesinin artış göstermesinin bitkilerde antioksidan koruyucu mekanizmaların devreye girdiğinin bir göstergesi olduğu kabul edilmiştir.

Moustaka ve Moustakas (2014), yürüttükleri benzer bir çalışmada *Arabidopsis thaliana* bitkisinin herbisit etkisine karşı geliştirdiği korunma mekanizmaları üzerine çalışılmış, elde edilen benzer sonuçlar ile birlikte bitkinin NPQ seviyesini artırarak herbisit toksisitesine karşı kendini korumaya aldığını belirtmişlerdir. Bu çalışmalar doğrultusunda, floresans görüntüleri ile istatistiksel bir farklılık içermeyen varyans ölçümlerine bakıldığında, *P. major* H-Zn uygulama grubunda azalan Φ PSII ve Φ NPQ seviyeleri ile birlikte, yükseliş gösteren Φ NO düzeyinin; oluşan toksisiteye karşı bitkinin korunma ve antioksidant mekanizmalarının etkinliklerinin sınırlı düzeyde kaldığını söyleyebiliriz. Φ NO seviyesinin artış gösterdiği ve Φ NPQ ve NPQ parametrelerinin azaldığı NP-Zn uygulamalarında oluşan toksik etki karşısında benzer bir durum söz konusudur. *P.lanceolata* türünde ise uygulama gruplarında Φ PSII ve Φ NO seviyesi artış göstermekle birlikte, Φ NPQ ile NPQ değerleri azalma sergilemiştir. Başka bir çalışmada buna benzer bir durumun, antioksidant mekanizmanın inhibe olmasıyla birlikte PSII'de gerçekleşen redox tepkimelerinin oksitlenmeye daha meyilli hale gelmesine neden olduğu ileri sürülmüştür (Moustaka ve Moustakas, 2014). Her iki türün Φ NPQ ve Φ NO parametrelerinin ortalama varyansları arasında farklılıkların istatistiksel açıdan önemsiz bulunması ve floresans görüntülerindeki renksel değişimleri desteklememesine rağmen bu veriler anlık olarak bitkilerin tepkisel hareketleri hakkında yorumlanabilir bilgiler sunabilir.

P. major qP değerlerine bakıldığında ortalama varyansları istatistiksel açıdan herhangi bir farklılık içermemekle birlikte, klorofil floresans görüntüleri incelendiğinde ise en yüksek spatiotemporal heterojeniteyi H-Zn grubu göstermiştir. NP-Zn uygulamalarında da oldukça yüksek bir heterojenite mevcut olmakla birlikte renk kombinasyonları diğer gruplara göre farklılık içermektedir. *P. lanceolata* türünün grupları arasında ise belirgin bir heterojenite yoktur. Görülen heterojenliklerin Φ PSII gibi diğer parametrelerde bulunan farklılıkların da tetikleyebileceği durumunu hesaba katarsak, qP parametresinin klorofil floresans görüntülerinin *P. major* için stres düzeyini belirlemede iyi bir indikatör olma potansiyeline sahip olduğunu söyleyebiliriz. Ancak bununla beraber *P. lanceolata* için aynı yorumu yapamayız.

İki türde klorofil floresans görüntülerinde kaydedilen spatiotemporal heterojenite oranları farklılık göstermektedir. *P. major* türü için Fv/Fm, Φ PSII, qP ve floresans görüntüleri; *P. lanceolata* türünde ise NPQ parametresinin floresans görüntülerinin nanopartiküler ve hacimsel ZnO uygulamalarının etkilerini yorumlamamızda iyi birer unsur olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Φ NPQ ve Φ NO parametrelerinde bulunan spatiotemporal heterojenite oluşumları iki türde oluşan stres düzeylerinin değerlendirilmesinde kullanılabilir.

Floresans görüntülerinde oluşan tüm bu değişkenliklerin yanı sıra, parametrelerin ortalama varyans hesaplamalarından elde edilen sonuçlarda istatistiksel açıdan herhangi bir farklılık içermeyen bazı değişkenlikler göstermesi, hormetik etki olarak yorumlanabilir. Hormesis, düşük dozda uygulanan toksik madde uygulamalarının canlı metabolizmasında bifazik (olumlu ve olumsuz) etkiye neden olması durumudur (Kisim ve Uzunoglu, 2012). Cedergreen ve diğ. (2007) tarafından yürütülen bir araştırmada, bazı bitki ve alg türlerinde kullanılan herbisitlerin doza bağımlı olarak nispi büyüme yüzdelerinin kontrole kıyasla 10-15% arasında artışına neden olan hormetik bir etki oluşturdukları kaydedilmiştir. Deneyimizde PSII ölçümlerinde stres belirteci olan Φ NO gibi parametreler ile birlikte ETR ölçümleri ve antioksidan aktivitesinin bir belirteci olan NPQ değerlerinde istatistiksel olmayan bifazik değişkenlikler bitkilerde küçük çapta hormesis etkisinin ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

İki türü birbirleriyle kıyasladığımızda, *P. major* türünün *P. lanceolata* türüne göre nanopartiküler ve hacimsel ZnO stresine karşı tolerans düzeyinin daha az olduğunu söyleyebiliriz. *P.lanceolata* türüne kıyasla *P. major* türünün Fv/Fm, qP, toplam klorofil ve karotenoid değerlerinin daha düşük düzeyde olması bu durumu desteklemektedir.

Nanometallerin fitotoksik etkileri bitki türü, yetiştirme ortamı, uygulanan metal türü, konsantrasyon ve uygulama süresi gibi bir çok etkenden dolayı değişkenlik gösterebilir. Aşağıdaki tabloda (Tablo 5.4) farklı türler üzerinde ZnO uygulamalarının nanotoksik etkileri derlenmiştir.

Tablo 5.4 ZnO nanopartiküllerinin genel fitotoksik etkileri.

Zn Partikül Boyutu ve Konsantrasyonu	Model Bitkiler	Stres Faktörleri	Referanslar
P. B. < 100 ZnO (100 mg/L)	<i>Arabidopsis</i>	Genlerde hasar	Landa ve diğ., (2012)
P. B. < 50nm ZnO (10, 20, 30, 40, 50 mg/L)	<i>Allium sativum</i>	-Mitotik indeksde azalma -Kök büyümesinde inhibisyon	Shaymurat ve diğ., (2011)
100nm ZnO 5 mg/L	Buğday	-Biyokütlede azalma -Bazı antioksidant enzimlerin inhibisyonu	Du ve diğ. (2011)
100nm ZnO (25, 50, 75, 100 mg/L)	<i>Allium cepa</i>	-Mitotik indeksde azalma -Kromozomal anomalilerde yükseliş	Kumari ve diğ., (2011)
P. B. <50nm ZnO (10, 50 mg/L)	Domates	-MDA ve H ₂ O ₂ seviyelerinde artış -Oksidatif stres induksiyonu	Li ve diğ., (2016)
P. B. <20nm ZnO (5, 10, 20, 50, 100 mg/L)	Hücre Kültürü	-MDA artışı -Oksidatif stres	Yang ve diğ., (2009)
P.B. <100nm ZnO (500 mg/L)	Buğday	-MDA artışı -Oksidatif stres -Klorofil seviyesinde düşüş -Antioksidant enzim üretimi	Dimkpa ve diğ., (2012)
P. B. <50nm ZnO (500 mg/L)	Soya fasulyesi	-Oksidatif stres oluşumu -Bazı antioksidant enzimlerin üretimini indükleyen genlerin ekspersyonu	Hossain ve diğ., (2016)
85 nm ZnO (200, 400, 800 mg/L)	<i>Allium cepa</i> , <i>Nicotiana tabacum</i> <i>Vicia faba</i>	-Hücre membran hasarında artış -Kromozomal bozulmalar -ROS üretimi -Lipid peroksidasyonu -Antioksidant enzimlerin sekresyonu	Ghosh ve diğ., (2016)
P. B. <100nm ZnO (0,01 - 1000 mg/L)	<i>Spirodela punctata</i>	-ROS artışı -Oksidatif stresin indüklenmesi	Thwala ve diğ., (2013)
P. B. <100nm ZnO 10, 20, 40, 80, 100 mg/L	<i>Lathyrus sativus</i>	-Hücre Ölümü -ROS artışı -Oksidatif stresin indüklenmesi -DNA hasarı	Panda ve diğ., (2017)

Tablo 5.4. devamı			
P. B. < 50nm ZnO 25, 50, 100 mg/L	<i>Oryza sativa</i>	-Klorofil miktarında azalma -Oksidatif hasar	Chen ve diğ., 2018
P. B. <50 nm ZnO (50, 100, 200, 250, 300 mg/L)	<i>Arabidopsis</i>	- Toplam klorofil seviyelerinde azalma	Wang ve diğ., (2016)

Baker ve Walker (1990), ağır metal kirliliğine karşı tolerasyon mekanizmalarına göre bitkileri, metal dışlayıcılar (excluders), biyoindikatörler ve hiperakümülatörler olmak üzere 3 gruba ayırmışlardır. Akümülyasyon faktörü, yani, bitki bünyesinde ihtiva edilen metal seviyesinin yetiştiği ortamda bulunan metal konsantrasyonuna oranı bitkilerin akümülatör veya dışlayıcı potansiyellerinin belirlenmesinde anahtar faktördür. Bu orana göre, “1 > AF” ise akümülatör, “1 < AF” ise dışlayıcı olarak kabul edilir (Subhashini ve diğ., 2013). Translokasyon faktörüyle birlikte biyoakümülyasyon faktörleri bitkilerin hiperakümülyasyon potansiyelini belirler (Van der Ent ve diğ., 2013). Yoon ve diğ. (2006), biyokonsantrasyon ve translokasyon faktörleri 1’den büyük bitkilerin hiperakümülyasyon potansiyeline sahip olduğunu ve fitoremediasyon yöntemleri arasında özellikle fitoekstraksiyon uygulamalarında kullanılabileceklerini, ancak bu iki faktörün farklı düzeylerde olduğu (BF > 1 ve TF < 1) bitki türlerinin ise fitostabilizasyon uygulamaları için uygun olduklarını rapor etmişlerdir.

Deneylerimiz doğrultusunda, *P. major* ve *P. lanceolata* bitkilerinin, akümülyasyon faktörleri 1’den büyük bulunduğundan dolayı akümülyasyon potansiyellerinin bulunduğu düşünülmektedir. Translokasyon faktörleri 1’den düşük bulunmuştur. Hacimsel uygulamalara kıyasla nanopartiküler uygulamaların TF’ü her iki türde daha yüksek çıkmıştır. Bu durum nanopartiküler çinkonun kökten sürgünlere geçişinin, hacimsel çinkoya oranla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Toprak üstü organlar ve köklerde ölçülen biyoakümülyasyon faktörlerine bakıldığında ise toprak üstü BF’lerin 1’den küçük, Köklerde ise 1’den büyük olduğu görülmüştür. Akümülyasyon, translokasyon ve biyoakümülyasyon değerleri her iki türde benzer düzeydedir. Translokasyon ve toprak üstü organların biyokonsantrasyon faktörlerinin 1’den küçük olmasıyla birlikte, kök biyokonsantrasyon faktörlerinin 1’den büyük olması, hacimsel ve nanopartiküler ZnO’lerin sürgünlere iletilmeyip köklerde biriktirilerek sabitlendiğini göstermektedir. Bu durum üzerinde çalıştığımız türlerin fitostabilizasyon

potansiyellerinin daha yüksek olduğunu ortaya koyar. Her iki türün de özellikle alkali ortamlarda köklerde Zn biriktirmeye meyilli olduğu görülmüştür.

ABD, Kuzey Florida kirletilmiş bölgelerde yetişen 17 tür bitkinin ağır metal içerikleri ölçülmüş ve sonuç olarak bu bitkilerden biri olan *P.major* türünün Pb, Cu ve Zn kirliliğine karşı fitostabilizatör olarak kullanılabilmesi tespit edilmiştir (Yoon ve diğ., 2006). Maden ve metalürjik aktivitelerin yüksek olduğu kirlenmiş alanlarda yapılan bir çalışmada bazı bölgelerde vejetasyon örtüsünde *P. lanceolata* türünün baskın olarak yetiştiği görülmüş ve bu bitkinin Zn, Cd ve Pb kirliliği için fitostabilizatör olarak kullanılabilmesi kaydedilmiştir (Nadgórska-Socha ve diğ., 2013). Bulgaristan'da yapılan bir çalışmada, belli yıllar arasında (2003 – 2005, 2006 – 2008) bakır işletme faaliyetlerinin yapıldığı ve ağır metal kirliliğinin yüksek olduğu alanlardan toplanan *P. major* ve *P. lanceolata* türlerinin ağır metal analizleri yapılmış ve karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir (Kurteva, 2009). Sonuç olarak *P. major* türünün Cu, Fe ve Pb biriktirme düzeyinin daha yüksek olduğu görülmüş ancak belirlenmiş bölgelerde Zn birikimlerine bakıldığında iki türünde akümülyasyon seviyelerinin yıllara göre değişkenlik gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Ağır metal analizlerimiz sonucunda, bitkilerde toplam (kök ve sürgünler) Zn akümülyasyon seviyeleri ele alındığında *P. major* türünde birikim düzeyinin *P. lanceolata* türünden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Karşılaştırmalı olarak *Plantago major* ve *Plantago lanceolata* türlerinin yaprak ve köklerinde metal birikimleriyle ilgili yapılan bir çalışmada benzer bir şekilde *P.major* türünde çinko birikiminin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tinkov ve diğ., 2016). İki tür üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise mevsimlere bağlı olarak, yapraklarında ölçülen Zn miktarının arttığı kaydedilmiştir (Djingova ve Kuleff, 1999). Çinko ve kurşun maden bölgelerinin etrafında toplanılan *P. major* ve *P. arenaria* türlerinin köklerinde yüksek oranda çinko birikimi olduğu görülmüştür (Stefanowicz ve diğ., 2015). Farklı bir çalışmada kontrol olarak seçilmiş temiz bir bölge ile ağır metal kirliliği gösteren, bazik pH derecesine sahip arazilerden toplanan *P.lanceolata* bitkilerinin ağır metal analizleri sonucunda bitkilerde ölçülen Pb, Cd ve Zn akümülyasyon seviyelerinin temiz alanlarda yetişenlere nazaran ciddi derecede yükseliş gösterdiğini kaydetmişlerdir (Szarek-Lukaszewska ve Niklinska 2002). Ayrıca bu araştırmada bizim çalışmamızı destekleyen bir durum olarak, *P. lanceolata* türünün ağır metalleri genellikle köklerde ihtiva ettiği tespit edilmiştir. Kentsel kirlilik ile ilgili yapılan başka bir

çalışmada *P. lanceolata* yapraklarında Pb, Cd ve Zn birikimi gözlenmiş ve yaprakların laminası, stoma sayısı ile boyutlarının değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Dimitrova ve Yurukova, 2005).

Temelde fungal miselyum ve bitki kökleri arasında karşılıklı karbon bazlı organik madde ile mineral besin elementlerinin alışverişine dayanan simbiyotik bir ilişki sonucu oluşan mikorizal kolonizasyonların, ağır metal stresini hafiflettiği çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (Hildebrandt ve diğ., 2007). Bu ilişkide mantar, bitki köklerinden karbon ve diğer temel organik maddeleri kazanır ve karşılığında bitkilerin su, mineral tuzları ile metabolitleri almalarına yardımcı olur. *P.lanceolata* ve *P.major* türlerinin ağır metal biriktirme kapasitelerinin araştırıldığı bir çalışmada bu bitkilerin çinko ile kirlenmiş bölgelerde fitostabilizatör olarak kullanılabilceği ve mikoriza ile aşılansmış bitkilerde bu potansiyelin daha çok güçlendirilebileceği görülmüştür (Gucwa-Przepióra ve diğ., 2015). Ağır metal ile kirlenmiş bölgelerde yapılan bir araştırmada, Cu, As, Pb, Cd ve Zn kirliliğinin yüksek olduğu bazı alanlarda, arbüsküler mikoriza ile aşılansmış *P.lanceolata* türlerinin gelişim gösterebildikleri tespit edilmiştir (Meier ve diğ., 2012). Çinko ve arsenikle kirlenmiş bölgelerde yapılan bir çalışmada, arbüsküler mikoriza ile aşılansmış *P. lanceolata* türlerinde arsenik, kadmiyum, kurşun ve çinko gibi ağır metallerin akümülyasyon seviyelerinin yükseldiği kaydedilmiştir. (Orłowska ve diğ., 2012). Yine bu araştırmada, bizim çalışmamızla paralel olarak Zn translokasyon faktörü 1'den küçük bulunmuştur.

Kirlenmiş arazilerden toplanan bitkilerin metallerin nanopartiküler olarak geri kazanımlarında kullanılabilceği rapor edilmiştir (Al-Akeel ve diğ., 2010). Özellikle NP-ZnO eldesinde kullanılan *Physalis alkekengi* ile yapılan çalışmalar bu durumu destekler niteliktedir (Qu ve diğ., 2011). Nanopartiküler ve hacimli Zn uygulanmış *P. major* ve *P. lanceolata* türlerinde kök biyokonsantrasyon seviyelerinin 1'den büyük olması, kök kısımlarının nanopartiküler çinko eldesinde kullanılabilme potansiyellerinin olduğunu gösterir. Ancak bu konunun netliğe kavuşması için moleküler düzeyde daha ayrıntılı araştırmalar yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak, 100 mg/L nanopartiküler ve hacimsel ZnO uygulamalarının morfolojik ve fizyolojik açılardan bitkilerde çok yüksek düzeyde bir toksisiteye neden olmadığı görülmüş ancak bazı besin elementlerinin emilimini ve toprak üstü organlara iletimini büyük ölçüde inhibe ettiği tespit edilmiştir. Fizyolojik çalışmalar doğrultusunda *P.major* türünün alkali ortamlarda daha düşük oranda gelişim gösterdiği ve bununla birlikte çinko toksisitesine karşı

daha fazla duyarlı olduğu görülmüştür. Çinko akümülayon düzeyi ise *P. lanceolata* türüne nazaran daha yüksek seviyededir. Akümülayon, translokasyon ve biyokonsantrasyon faktörleri doğrultusunda, iki *Plantago* türünün de Zn kirliliği görülen arazilerde toksisite düzeyini en aza indirmek adına fitostabilizatör olarak kullanılabilme potansiyellerin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir.

P. lanceolata ve *P. major* türlerinin, gelecekte mikorizal aşılama gibi çeşitli uygulamalarla bağlantılı bir şekilde, multidisipliner düzeyde araştırılarak diğer bitki veya mikroorganizmalar arasında belirlenen allelopatik etkileşimlerine göre oluşturulabilecek modeller doğrultusunda fitoremediasyon potansiyellerinin daha iyi bir şekilde güçlendirilebileceği ön görülmektedir.



KAYNAKLAR

- Aart van der P.J.M., Vulto J.C., 1992, General ecology. In: Kuiper PJC, Bos M, eds. *Plantago: a Multidisciplinary Study, Ecological Studies*, 89, 6.
- Adamczyk-Szabela, D., Markiewicz, J., Wolf, W. M., 2015, Heavy Metal Uptake by Herbs. IV. Influence of Soil pH on the Content of Heavy Metals in *Valeriana officinalis* L., *Water, Air, & Soil Pollution*, 226 (4). doi:10.1007/s11270-015-2360-3
- Adams, J., Wright, M., Wagner, H., Valiente, J., Britt, D., Anderson, A., 2017, Cu from dissolution of CuO nanoparticles signals changes in root morphology, *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 108–117. doi:10.1016/j.plaphy.2016.08.005
- Ağba, T., 2013, *Metal Stresindeki Populus tremula L. (Titrek Kavak) X Populus alba L. (Akkavak) 717-1B4' de Ekofizyolojik Araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Aitken, R. J., Chaudhry, M. Q., Boxall, A. B. A., Hull, M., 2006, Manufacture and use of nanomaterials: current status in the UK and global trends, *Occupational Medicine*, 56 (5), 300–306. doi:10.1093/occmed/kql051
- Al-Akeel K., Reynolds A.J., Choudhary A.J., 2010, *Phytoremediation of Waterways using Reed Plants*, Presented in 15th International Conference on Heavy metals in the Environment. Organized on 19th September, 2010 in Gdansk, Poland, by Chemical Faculty of Gdansk University of technology and committee on analytical chemistry of the Polish Academy of Sciences. <http://www.chem.pg.gda.pl/ichmet/programme.pdf>
- Ambler, J. E., Brown, J. C., Gauch, G., 1970, Effect of zinc on translocation of iron in soybean plants, *Plant Physiol.*, 46 (2), 320-3.
- Amooaghaie, R., Norouzi, M., Saeri, M., 2017, Impact of zinc and zinc oxide nanoparticles on the physiological and biochemical processes in tomato and wheat, *Botany*, 95 (5), 441–455. doi:10.1139/cjb-2016-0194
- Anderson, C.W.N., Brooks, R.R., Stewart, R.B., Simcock, R., 1999, Gold uptake by plants, *Gold Bull.* 32, 48–52.
- Andreotti, F., Mucha, A. P., Caetano, C., Rodrigues, P., Rocha Gomes, C., Almeida, C. M. R., 2015, Interactions between salt marsh plants and Cu nanoparticles – Effects on metal uptake and phytoremediation processes, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 120, 303–309. doi:10.1016/j.ecoenv.2015.06.017
- Annesi-Maesano, I., Forastiere, F., Kunzli, N., Brunekref B., 2007, Environment and Health Committee of the European Respiratory Society: particulate matter, science and EU policy, *Eur. Respir. J.*, 29, 428–431. doi: 10.1183/09031936.00129506

- Antonoglou, O., Moustaka, J., Adamakis, I.-D. S., Sperdouli, I., Pantazaki, A. A., Moustakas, M., Dendrinou-Samara, C., 2018, Nanobrass CuZn Nanoparticles as Foliar Spray Nonphytotoxic Fungicides, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10 (5), 4450–4461. doi: 10.1021/acsami.7b17017
- Antonovics, J., Bradshaw, A.D., Turner, R.G., 1971, Heavy metal tolerance in plants, *Adv. Ecol. Res.* 7, 1–85
- Antosiewicz, D. M., 2005, Study of calcium-dependent lead-tolerance on plants differing in their level of Ca-deficiency tolerance, *Environmental Pollution*, 134 (1), 23–34. doi: 10.1016/j.envpol.2004.07.019
- Arif, N., Yadav, V., Singh, S., Tripathi, D. K., Dubey, N. K., Chauhan, D. K., Giorgetti, L., 2018, *Interaction of Copper Oxide Nanoparticles With Plants*. *Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms*, 297–310. doi:10.1016/b978-0-12-811487-2.00013-x
- Arnon, D.I., 1949, Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenol Oxidase in Beta Vulgaris, *Plant Physiology*, 24, 1-15. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.24.1.1>.
- Arora, S., Sharma, P., Kumar, S., Nayan, R., Khanna, P. K., Zaidi, M. G. H. 2012, Gold-nanoparticle induced enhancement in growth and seed yield of Brassica juncea, *Plant Growth Regulation*, 66 (3), 303–310. doi:10.1007/s10725-011-9649-z
- Atha, D. H., Wang, H., Petersen, E. J., Cleveland, D., Holbrook, R. D., Jaruga, P., Dizdaroglu, M., Xing, B., Nelson, B. C., 2012, Copper Oxide Nanoparticle Mediated DNA Damage in Terrestrial Plant Models, *Environmental Science & Technology*, 46 (3), 1819–1827. doi:10.1021/es202660k
- Baker, A. J. M., 1978, The Uptake of Zinc and Calcium from Solution Culture by Zinc-Tolerant and Non-Tolerant *Silene Maritima* with. In Relation to Calcium Supply, *New Phytologist*, 81 (2), 321–330. doi:10.1111/j.1469-8137.1978.tb02637.x
- Baker, A. J. M. ve Brooks, R. R., 1989, Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metal elements: a review of their distribution, ecology, and phytochemistry, *Biorecovery* 1, 81–126.
- Baker, A. J. M. ve Walker, P. L., 1990, *Ecophysiology of Metal Uptake by Tolerant Plants*, Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects, In: Shaw A.J. (ed.), CRC Press, Boca Raton, 155-177.
- Bashri, G., Parihar, P., Singh, R., Patel, A., Prasad, S. M., 2018, *Plant and Nanoparticle Interface at the Molecular Level*, *Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms*, 325–344. doi:10.1016/b978-0-12-811487-2.00015-3
- Barceló, J. ve Poschenrieder, C., 1990, Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review, *Journal of Plant Nutrition*, 13 (1), 1–37. doi:10.1080/01904169009364057
- Bastin, L. ve Thomas, C. D., 1999, The distribution of plant species in urban vegetation fragments, *Landscape Ecology*, 14 (5), 493-507.

- Bayçu, G., Moustaka, J., Gevrek, N., Moustakas, M., 2018, Chlorophyll Fluorescence Imaging Analysis for Elucidating the Mechanism of Photosystem II Acclimation to Cadmium Exposure in the Hyperaccumulating Plant *Noccaea caerulescens*, *Materials (Basel)*, 11 (12), 2580. doi: 10.3390/ma11122580
- Baycu, G., Tolunay, D., Ozden, H., Csatari, I., Karadag, S., Agba, T., Rognes, S. E., 2014, An Abandoned Copper Mining Site in Cyprus and Assessment of Metal Concentrations in Plants and Soil, *International Journal of Phytoremediation*, 17 (7), 622–631. doi:10.1080/15226514.2014.922929
- Bayçu, G., 1995, *Ailanthus altissima*'da Kadmiyum Toleransı ve Fitokelatin Oluşumu, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Becheri, A., Dürr, M., Lo Nostro, P., Baglioni, P., 2007, Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles: application to textiles as UV-absorbers, *Journal of Nanoparticle Research*, 10 (4), 679–689. doi:10.1007/s11051-007-9318-3
- Blackman, J. A., Binns, C., 2009, *Nanoscience and nanotechnology*, Metallic Nanoparticles, Elsevier, 1 (1), 1-17. doi: 10.1016/S1570-002X(08)00201-2
- Bouguerra, S., Gavina, A., Ksibi, M., da Graça Rasteiro, M., Rocha-Santos, T., Pereira, R., 2016, Ecotoxicity of titanium silicon oxide (TiSiO₄) nanomaterial for terrestrial plants and soil invertebrate species, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 129, 291–301. doi:10.1016/j.ecoenv.2016.03.038
- Bresson, J., Vasseur, F., Dauzat, M., Koch, G., Granier, C., Vile, D., 2015, Quantifying spatial heterogeneity of chlorophyll fluorescence during plant growth and in response to water stress, *Plant Methods*, 11, 23. doi:10.1186/s13007-015-0067-5
- Brooks, R. R., Lee, J., Reeves, R. D., Jaffre, T. 1977, Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants, *J Geochem Explor* 7(0): 49–57.
- Burman, U. ve Kumar, P., 2018, *Plant Response to Engineered Nanoparticles*, Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms, 103–118. doi:10.1016/b978-0-12-811487-2.00005-0
- Burman, U., Saini, M., Kumar, P., 2013, Effect of zinc oxide nanoparticles on growth and antioxidant system of chickpea seedlings, *Toxicological & Environmental Chemistry*, 95 (4), 605–612. doi:10.1080/02772248.2013.803796
- Burnell, J. N., 1988, *The Biochemistry of Manganese in Plants*, Manganese in Soils and Plants, 125–137. doi:10.1007/978-94-009-2817-6_10
- Canesi, L. ve Corsi, I., 2016, Effects of nanomaterials on marine invertebrates, *Science of The Total Environment*, 565, 933–940. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.01.085
- Cedergreen, N., Streibig, J. C., Kudsk, P., Mathiassen, S. K., Duke, S. O., 2007, The Occurrence of Hormesis in Plants and Algae, *Dose-Response*, 5(2), 150 - 162. doi:10.2203/dose-response.06-008.cedergreen

- Chae, Y. ve An, Y. J., 2016, Toxicity and transfer of polyvinylpyrrolidone-coated silver nanowires in an aquatic food chain consisting of algae, water fleas, and zebrafish, *Aquatic Toxicology*, 173, 94–104. doi:10.1016/j.aquatox.2016.01.011
- Chaney, R.L., Malik, M., Yin, M. L., Brown, S. L., Brewere E. P., Angle, J. S., Baker, A. J., 1997, Phytoremediation of soil metals, *Curr Opin Biotechnol.* 8, 279– 284.
- Chang, Y.-N., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., Xing, G., 2012, The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles, *Materials*, 5 (12), 2850–2871. doi:10.3390/ma5122850
- Chatterjee, J. ve Chatterjee, C., 2000, Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower, *Environmental Pollution*, 109 (1), 69–74. doi:10.1016/s0269-7491(99)00238-9
- Chen, J., Dou, R., Yang, Z., You, T., Gao, X., Wang, L. 2018, Phytotoxicity and bioaccumulation of zinc oxide nanoparticles in rice (*Oryza sativa* L.), *Plant Physiology and Biochemistry*, 130, 604–612. doi:10.1016/j.plaphy.2018.08.019
- Clapham, A. R., Tutin, T. G., Moore, D. M., 1989, *Flora of the British Isles*, Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Cornelis, G., H.-R., K., Kuhlbusch, T., van den Brink, N., Nickel, C., 2014, Fate and Bioavailability of Engineered Nanoparticles in Soils: A Review, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 44 (24), 2720–2764. doi:10.1080/10643389.2013.829767.
- Çakmak, İ., 2000, Tansley Review No. 111, *New Phytologist*, 146 (2), 185–205. doi:10.1046/j.1469-8137.2000.00630.x
- Çakmak, İ., 2005, The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168 (4), 521–530. doi:10.1002/jpln.200420485
- Çiftçi, A., 2012, *Türkiye'deki Sinirotu (Plantago L.) Taksonlarının Çiçek Durumu ve Tohumları Üzerinde Mikromorfolojik Çalışmalar*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Dan, Y., Zhang, W., Xue, R., Ma, X., Stephan, C., Shi, H., 2015, Characterization of Gold Nanoparticle Uptake by Tomato Plants Using Enzymatic Extraction Followed by Single-Particle Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry Analysis, *Environmental Science & Technology*, 49 (5), 3007–3014. doi:10.1021/es506179e
- Davis-Carter, J. G., Parker, M. B., Gaines, T. P., 1991, *Interaction of soil zinc, calcium, and pH with zinc toxicity in peanuts*, Plant-Soil Interactions at Low pH, 339–347. doi:10.1007/978-94-011-3438-5_39

- Di Lonardo, S., Capuana, M., Arnetoli, M., Gabbrielli, R., Gonnelli, C., 2011, Exploring the metal phytoremediation potential of three *Populus alba* L. clones using an in vitro screening, *Environ Sci Pollut R.* 18, 82–90. doi:10.1007/s11356-010-0354-7.
- Dietz, K.-J. ve Herth, S., 2011, Plant nanotoxicology, *Trends in Plant Science*, 16 (11), 582–589. doi:10.1016/j.tplants.2011.08.003
- Dimitrova, I. ve Yurukova, L., 2005, Bioindication of anthropogenic pollution with *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae): metal accumulation, morphological and stomatal leaf characteristics, *Phytol. Balcan*, 11 (1), 89–96.
- Dimkpa, C. O., Latta, D. E., McLean, J. E., Britt, D. W., Boyanov, M. I., Anderson, A. J., 2013, Fate of CuO and ZnO Nano- and Microparticles in the Plant Environment, *Environmental Science & Technology*, 47 (9), 4734–4742. doi:10.1021/es304736y
- Dimkpa, C. O., McLean, J. E., Latta, D. E., Manangón, E., Britt, D. W., Johnson, W. P., Boyanov, B. I., Anderson, A. J., 2012, CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat, *Journal of Nanoparticle Research*, 14 (9), 1125. doi:10.1007/s11051-012-1125-9
- Djingova, R. ve Kuleff, I., 1999, Seasonal Variations in the Metal Concentration of *Taraxacum officinale*, *Plantago major* and *Plantago lanceolata*, *Chemistry and Ecology*, 16 (2-3), 239–253. doi:10.1080/02757549908037648
- Doucette, W. J., Shunthirasingham, C., Dettenmaier, E. M., Zaleski, R. T., Fantke, P., ve Arnotf, J. A., 2017, A Review of Measured Bioaccumulation Data on Terrestrial Plants for Organic Chemicals: Metrics, Variability, and the Need for Standardized Measurement Protocols, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37 (1), 21–33.
- Du, W., Sun, Y., Ji, R., Zhu, J., Wu, J., Guo, H., 2011, TiO₂ and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil, *Journal of Environmental Monitoring*, 13 (4), 822. doi:10.1039/c0em00611d
- Eryılmaz, F., 2007, *Bakır (Cu) uygulanmış mısır (Zea mays L.) fidelerindeki antioksidan aktivitelerin fizyolojik ve anatomik yönden incelenmesi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Farré, M., Gajda-Schrantz, K., Kantiani, L., Barceló, D., 2008, Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393 (1), 81–95. doi:10.1007/s00216-008-2458-1
- Faisal, M., Saquib, Q., Alatar, A. A., Al-Khedhairi, A. A., Hegazy, A. K., Musarrat, J., 2013, Phytotoxic hazards of NiO-nanoparticles in tomato: A study on mechanism of cell death, *Journal of Hazardous Materials*, 250-251, 318–332. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.01.063
- Fenoglio, I., Greco, G., Livraghi, S., ve Fubini, B., 2009, Non-UV-Induced Radical Reactions at the Surface of TiO₂ Nanoparticles That May Trigger Toxic Responses, *Chemistry - A European Journal*, 15 (18), 4614–4621. doi:10.1002/chem.200802542

- Feynman, R., 1960, Engineering and Science, *California Institute of Technology* (Caltech), 23 (5), 22-36.
- Feynman, R., 1959, There's plenty of room at the bottom, speech presented at the annual meeting of the American Physical Society, *California Institute of Technology*.
- Franklin, N. M., Rogers, N. J., Apte, S. C., Batley, G. E., Gadd, G. E., Casey, P. S., 2007, Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): The importance of particle solubility, *Environ. Sci. Technol.* 41, 8484–90.
- Fubini, B., Fenoglio, I., Tomatis, M., 2007, *Physicochemical characteristics of nanoparticles that determine potential toxicity*, Nanotoxicology: characterization, dosing, and health effects, Informa Healthcare, New York, 59–70. doi: 10.3109/9781420045154
- García-López, J., Zavala-García, F., Olivares-Sáenz, E., Lira-Saldívar, R. H., Díaz Barriga-Castro, E. D., Ruiz-Torres, N. A., Ramos-Cortez, E., Vázquez-Alvarado, R., Niño-Medina, G., 2018, Zinc Oxide Nanoparticles Boosts Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Capsicum annuum* L. during Germination, *Agronomy*, 8 (10), 215.
- Ghasemi-Fasaei, R., ve Ronaghi, A., 2008, Interaction of Iron with Copper, Zinc, and Manganese in Wheat as Affected by Iron and Manganese in a Calcareous Soil, *Journal of Plant Nutrition*, 31 (5), 839–848. doi:10.1080/01904160802043148
- Ghodake, G., Seo, Y. D., Lee, D. S., 2011, Hazardous phytotoxic nature of cobalt and zinc oxide nanoparticles assessed using *Allium cepa*, *Journal of Hazardous Materials*, 186 (1), 952–955. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.11.018
- Ghosh, M., Bandyopadhyay, M., Mukherjee, A., 2010, Genotoxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles at two trophic levels: Plant and human lymphocytes, *Chemosphere*, 81 (10), 1253–1262. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.09.022
- Ghosh, M., Jana, A., Sinha, S., Jothiramajayam, M., Nag, A., Chakraborty, A., Mukherjee, A., Mukherjee, A., 2016, Effects of ZnO nanoparticles in plants: Cytotoxicity, genotoxicity, deregulation of antioxidant defenses, and cell-cycle arrest, *Mutat. Res. Genet. Toxicol Environ. Mutagen*, 807, 25–32. doi:10.1016/j.mrgentox.2016.07.006
- Godbold, D. L. ve Hüttermann, A., 1985, Effect of zinc, cadmium and mercury on root elongation of *Picea abies* (Karst.) seedlings, and the significance of these metals to forest die-back, *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 38 (4), 375–381. doi:10.1016/0143-1471(85)90108-4
- Gomes, M. A., Hauser-Davis, R. A., de Souza A. N., Vitória A. P., 2016, Metal phytoremediation: General strategies, genetically modified plants and applications in metal nanoparticle contamination, *Ecotoxicol Environ Saf.* 134 (1), 133-147. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.08.024.

- Gucwa-Przepióra, E., Nadgórska-Socha, A., Fojcik, B., Chmura, D., 2015, Enzymatic activities and arbuscular mycorrhizal colonization of *Plantago lanceolata* and *Plantago major* in a soil root zone under heavy metal stress, *Environmental Science and Pollution Research*, 23 (5), 4742–4755. doi:10.1007/s11356-015-5695-9
- Halder, S., Ghosh, S., 2014, Wetland macrophytes in purification of water, *Int. J. Environ. Sci.*, 5, 432–437.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M., 2015, *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, USA
- Hamutoğlu, R., Dinçsoy, A. B., Cansaran-Duman, D. ve Aras, S., 2012, Biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve fitoremediasyon yöntemleri ve uygulamaları, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69 (4), 235-53.
- Hanks, N. A., Caruso, J. A., Zhang, P., 2015, Assessing *Pistia stratiotes* for phytoremediation of silver nanoparticles and Ag(I) contaminated waters, *Journal of Environmental Management*, 164, 41–45. doi:10.1016/j.jenvman.2015.08.026
- Harhaji, L., Isakovic, A., Raicevic, N., Markovic, Z., Todorovic-Markovic, B., Nikolic, N., Markovic, I., Vranjes-Djuric, S., Trajkovic, V., 2007, Multiple mechanisms underlying the anticancer action of nanocrystalline fullerene, *European Journal of Pharmacology*, 568 (1-3), 89–98. doi:10.1016/j.ejphar.2007.04.041
- Harris, A. T., Bali, R., 2008, On the formation and extent of uptake of silver nano- particles by live plants. *J. Nanopart. Res.*, 10, 691–695.
- Hartmann, N. B., Skjolding, L. M., Hansen, S. F., Kjølholt, J., Gottschalck, F., Baun, A., 2014, *Environmental fate and behaviour of nanomaterials*, New knowledge on important transformation processes Environmental Project No: 1594. <https://www2.mst.dk/Udgiv/publications/2014/08/978-87-93178-87-8.pdf>
- Haverkamp, R. G. ve Marshall, A. T., 2008, The mechanism of metal nanoparticle formation in plants: limits on accumulation, *Journal of Nanoparticle Research*, 11 (6), 1453–1463. doi:10.1007/s11051-008-9533-6
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., Ahmad, A., 2012, Role of proline under changing environments, *Plant Signaling & Behavior*, 7 (11), 1456–1466. doi:10.4161/psb.21949
- Heckert, E. G., Karakoti, A. S., Seal, S., Self, W. T., 2008, The role of cerium redox state in the SOD mimetic activity of nanoceria, *Biomaterials*, 29 (18), 2705–2709. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.03.014
- Hedge, K., Goswami, R., Sarma, J. S., Veeranki, V. D., Brar, S. K., 2015, *Nano-Ecotoxicology of Natural and Engineered Nanomaterials for Different Ecosystems*, Nanomaterials in the Environment, 19.
- Hildebrandt, U., Regvar, M., Bothe, H., 2007, Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance, *Phytochemistry*, 68 (1), 139–146. doi:10.1016/j.phytochem.2006.09.023

- Hjelle, K. L., Hufthammer, A. K., Bergsvik, K. A., 2006, Hesitant hunters: a review of the introduction of agriculture in western Norway, *Environmental Archaeology*, 11 (2), 147–170. Doi:10.1179/174963106x123188.
- Hossain, Z., Mustafa, G., Komatsu, S., 2015, Plant Responses to Nanoparticle Stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (11), 26644–26653. doi:10.3390/ijms161125980
- Hossain, Z., Mustafa, G., Sakata, K., Komatsu, S., 2016, Insights into the proteomic response of soybean towards Al₂O₃, ZnO, and Ag nanoparticles stress, *Journal of Hazardous Materials*, 304, 291–305. doi:10.1016/j.jhazmat.2015.10.071
- Höpfner, I., Beyschlag, W., Bartelheimer, M., Werner, C., Unger, S., 2015, Role of mycorrhization and nutrient availability in competitive interactions between the grassland species *Plantago lanceolata* and *Hieracium pilosella*, *Plant Ecology*, 216 (6), 887–899. doi:10.1007/s11258-015-0476-6
- Iravani, S., 2011, Green synthesis of metal nanoparticles using plants, *Green Chemistry* 13, 2638–2650.
- Joh, D. Y., Kinder, J., Herman, L. H., Ju, S.-Y., Segal, M. A., Johnson, J. N., Chan, G., K-L., Park, J., 2010, Single-walled carbon nanotubes as excitonic optical wires, *Nature Nanotechnology*, 6 (1), 51–56. doi:10.1038/nnano.2010.248
- John, D. Y., Kinder, J., Herman, L. H., Ju, S.-Y., Segal, M. A., Johnson, J. N., Garnet, K. L., C., Park, J., 2011, Single-walled carbon nanotubes as excitonic optical wires, *Nat. Nanotechol.* 6, 51–56.
- Joško, I. ve Oleszczuk, P., 2013, Influence of soil type and environmental conditions on ZnO, TiO₂ and Ni nanoparticles phytotoxicity, *Chemosphere*, 92 (1), 91–99. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.02.048
- Judy, J., Kirby, J., McLaughlin, M., Cavagnaro, T., Bertsch, P., 2016, Gold Nanomaterial Uptake from Soil Is Not Increased by Arbuscular Mycorrhizal Colonization of *Solanum lycopersicum* (Tomato), *Nanomaterials*, 6 (4), 68. doi:10.3390/nano6040068
- Kabata-Pendias, A., 2011, *Trace elements in soils and plants*, 4th ed. Taylor & Francis Group, Boca Raton London New York.
- Karadağ, S., 2013, *Sinirli Ot (Plantago lanceolata L.) Bitkilerinde Mikorizanın Kuraklık Toleransına Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kasemets, K., Ivask, A., Dubourguier, H.-C., Kahru, A., 2009, Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO₂ to yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Toxicology in Vitro*, 23: 1116–1122
- Kaya, C. ve Ashraf, M., 2018, The mechanism of hydrogen sulfide mitigation of iron deficiency-induced chlorosis in strawberry (*Fragaria × ananassa*) plants, *Protoplasma*, doi:10.1007/s00709-018-1298-x

- Kisim, A., ve Uzunoglu, S., 2012, HORMESIS: Antecedent phenomena for adaptation to low doses of toxic agents, *Turkish Journal of Forensic Medicine*, 26 (3), 180–190. doi:10.5505/adlitip.2012.96720
- Kiruba, D., Nehru, K., Sivakumar, M., 2012, Rapid Biosynthesis of Silver Nanoparticles using *Eichornia crassipes* and its Antibacterial Activity, *Current Nanoscience*, 8 (1), 125 – 129.
- Kitajima, M., Butler, W. L., 1975, Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone, *Biochim. Biophys. Acta.*, 376, 105-115.
- Kolb, W. ve Schwarz, T., 1983, Plant selections for covering parking lots, *Rasen Grunflachen Begrunungen*, 14 (1), 1-4.
- Koo, Y., Wang, J., Zhang, Q., Zhu, H., Chehab, E. W., Colvin, V. L., Alvarez, P. J., Braam, J., 2014, Fluorescence Reports Intact Quantum Dot Uptake into Roots and Translocation to Leaves of *Arabidopsis thaliana* and Subsequent Ingestion by Insect Herbivores, *Environmental Science & Technology*, 49 (1), 626–632. doi:10.1021/es5050562
- Krämer, U., 2010, Metal hyperaccumulation in plants, *Annu Rev Plant Biol.*, 61, 517-34. doi: 10.1146/annurev-arplant-042809-112156.
- Kramer, D. M., Johnson, G., Kiirats, O., Edwards, G. E., 2004, New fluorescence parameters for determination of QA redox state and excitation energy fluxes, *Photosynth Res.*, 79, 209–218.
- Krishna, R., Fulekar, M. H., Patak, B., 2012, Rhizofiltration: a green technology for remediation of heavy metals, *Inter. J. Innov. Bio-Sciences*, 2 (4), 193-199.
- Kubátová, P., Száková J., Břendová K., Kroulíková-Vondráčková S., Mercl F., Tlustoš P., 2018, Effects of summer and winter harvesting on element phytoextraction efficiency of *Salix* and *Populus* clones planted on contaminated soil, *Int. J. Phytoremediation*, 20 (5), 499–506. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1393393>
- Kumar, P. B. A. N., Dushenkov, V., Motto, H., Raskin, L., 1995, Phytoextraction the use of plants to remove heavy metals from soils, *Environmental Science and Technology*, 29, 1232-1238.
- Kumar, S., Patra, A. K., Datta, S. C., Rosin, K. G., Purakayastha, T. J., 2015, Phytotoxicity of nanoparticles to seed germination of plants, *International Journal of Advanced Research*, 3(3), 854–865.
- Kumar, V. ve Chandra R., 2017, *Phytoremediation: A Green Sustainable Technology for Industrial Waste Management*, Phytoremediation of Environmental Pollutants, 1 – 42.
- Kumar, V., Sharma, M., Khare, T., Wani, S. H., 2018, *Impact of Nanoparticles on Oxidative Stress and Responsive Antioxidative Defense in Plants*, Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms, 393–406. doi:10.1016/b978-0-12-811487-2.00017-7

- Kumari, M., Khan, S. S., Pakrashi, S., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N., 2011, Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*, *Journal of Hazardous Materials*, 190 (1-3), 613–621. doi:10.1016/j.jhazmat.2011.03.095
- Kurepa, J., Paunesku, T., Vogt, S., Arora, H., Rabatic, B. M., Lu, J., Wanzer, M. B., Woloschak, G. E., Smalle, J. A., 2010, Uptake and Distribution of Ultrasmall Anatase TiO₂ Alizarin Red S Nanoconjugates in *Arabidopsis thaliana*, *Nano Letters*, 10 (7), 2296–2302. doi:10.1021/nl903518f
- Kurteva, M. K., 2009, Comparative study on *Plantago major* and *P. lanceolata* (Plantaginaceae) as bioindicators of the pollution in the region of the Asarel Copper Dressing Works, *Phytol. Balcan*, 15, 261–271. www.bio.bas.bg/~phytolbalcan/PDF/15_2/15_2_13_Kurteva.pdf
- Ladislav, S., El-Mufleh, A., Gérente, C., Chazarenc, F., Andrès, Y., Béchet, B., 2012, Potential of aquatic macrophytes as bioindicators of heavy metal pollution in urban stormwater runoff, *Water, Air, & Soil Pollution*, 223 (2), 49–6979.
- Laiine, A. L., 2005, Journal of Evolutionary Biology, *Journal of Evolutionary Biology*, 18, 930–938.
- Landa, P., Vankova, R., Andriova, J., Hodek, J., Marsik, P., Storchova, H., White, J. C., Vanek, T., 2012, Nanoparticle-specific changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression after exposure to ZnO, TiO₂, and fullerene soot, *Journal of Hazardous Materials*, 241–242, 55–62. doi:10.1016/j.jhazmat.2012.08.059
- Latef, A. A. H., Abu Alhmad, M. F., Abdelfattah, K. E., 2016, The Possible Roles of Priming with ZnO Nanoparticles in Mitigation of Salinity Stress in Lupine (*Lupinus termis*) Plants, *Journal of Plant Growth Regulation*, 36 (1), 60–70. doi:10.1007/s00344-016-9618-x
- Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L., Muller, R. N., 2010, Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications, *Chemical Reviews*, 110 (4), 2574–2574. doi:10.1021/cr900197g
- Lebrun, M., Miard, F., Nandillon, R., Hattab-Hambli, N., Scippa, G. S., Bourgerie, S., Morabito, D., 2017, Eco-restoration of a mine technosol according to biochar particle size and dose application: study of soil physico-chemical properties and phytostabilization capacities of *Salix viminalis*, *J. Soils Sediments*, 18 (6), 2188–2202. doi: 10.1007/s11368-017-1763-8
- Lee, C. W., Mahendra, S., Zodrow, K., Li, D., Tsai, Y.-C., Braam, J., Alvarez, P. J. J., 2010, Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29 (3), 669–675. doi:10.1002/etc.58
- Lee, S., Kim, S., Kim, S., Lee, I., 2012, Assessment of phytotoxicity of ZnO NPs on a medicinal plant, *Fagopyrum esculentum*, *Environmental Science and Pollution Research*, 20 (2), 848–854. doi:10.1007/s11356-012-1069-8

- Lei, Z., Mingyu, S., Xiao, W., Chao, L., Chunxiang, Q., Liang, C., Hao H., Xiaoqing L., Fashui, H., 2007a, Antioxidant Stress is Promoted by Nano-anatase in Spinach Chloroplasts Under UV-B Radiation, *Biological Trace Element Research*, 121 (1), 69–79. doi:10.1007/s12011-007-8028-0
- Lei, Z., Mingyu, S., Xiao, W., Chao, L., Chunxiang, Q., Liang, C., Hao H., Xiaoqing L., Fashui, H., 2007b, Effects of Nano-anatase on Spectral Characteristics and Distribution of LHCII on the Thylakoid Membranes of Spinach, *Biological Trace Element Research*, 120 (1-3), 273–283. doi:10.1007/s12011-007-8025-3
- Li, M., Ahammed, G. J., Li, C., Bao, X., Yu, J., Huang, C., Yin H., Zhou, J., 2016, Brassinosteroid Ameliorates Zinc Oxide Nanoparticles-Induced Oxidative Stress by Improving Antioxidant Potential and Redox Homeostasis in Tomato Seedling, *Frontiers in Plant Science*, 7, 615. doi:10.3389/fpls.2016.00615
- Li, Y.Q., Fu, S.-Y., Mai, Y.-W., 2006, Preparation and characterization of transparent ZnO/epoxy nanocomposites with high-UV shielding efficiency, *Polymer*, 47 (6), 2127–2132. doi:10.1016/j.polymer.2006.01.071
- Lichtenthaler, H. K., 1987, Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes, *Plant Cell Membranes*, 350–382. doi:10.1016/0076-6879(87)48036-1
- Lin, D. ve Xing, B., 2007, Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth, *Environmental Pollution*, 150 (2), 243–250. doi:10.1016/j.envpol.2007.01.016
- Lin, D. ve Xing, B., 2008, Root Uptake and Phytotoxicity of ZnO Nanoparticles, *Environmental Science & Technology*, 42 (15), 5580–5585. doi:10.1021/es800422x
- Liu, Z., Chen, K., Davis, C., Sherlock, S., Cao, Q., Chen, X., Dai, H., 2008a, Drug Delivery with Carbon Nanotubes for In vivo Cancer Treatment, *Cancer Research*, 68 (16), 6652–6660. doi:10.1158/0008-5472.can-08-1468
- Liu, Z., Robinson, J. T., Sun, X., Dai, H., 2008b, PEGylated Nanographene Oxide for Delivery of Water-Insoluble Cancer Drugs, *Journal of the American Chemical Society*, 130 (33), 10876–10877. doi:10.1021/ja803688x
- Loneragan, J. F., Grunes, D. L., Welch, R. M., Aduayi, E. A., Tengah, A., Lazar, V. A., Cary, E. E., 1982, Phosphorus Accumulation and Toxicity in Leaves in Relation to Zinc Supply¹, *Soil Science Society of America Journal*, 46 (2), 345. doi:10.2136/sssaj1982.03615995004600020027x
- López-Moreno, M. L., de la Rosa, G., Hernández-Viezcas, J. A., Castillo-Michel, H., Botez, C. E., Peralta-Videa, J. R., Gardea-Torresdey, J. L., 2010, Evidence of the Differential Biotransformation and Genotoxicity of ZnO and CeO₂ Nanoparticles on Soybean (*Glycine max*) Plants, *Environmental Science & Technology*, 44 (19), 7315–7320. doi:10.1021/es903891g

- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., Kolmakov, A., 2010, Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation, *Science of The Total Environment*, 408 (16), 3053–3061. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.03.031
- Macek, T., Mackova, M., Kas, K., 2000, Exploitation of Plants for the Removal of Organics in Environmental Remediation, *Biotechnol. Adv.*, 18, 23–34.
- Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awasthi, M. K., Lahori, A. H., Wang, Q., Li, R., Zhang, Z., 2016, Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 126, 111–121. doi:10.1016/j.ecoenv.2015.12.023
- Mahmood, T., Malik, S. A., Hussain, S. T., Aamir, S., 2012, Metallic phytoremediation and extraction of nanoparticles, *International Journal of Physical Sciences*, 7 (46), 6105–6116, doi: 10.5897/IJPS12.605
- Maiti, S. K. ve Kumar, A., 2016, *Energy Plantations, Medicinal and Aromatic Plants on Contaminated Soil*, Bioremediation and Bioeconomy, 29–47. doi:10.1016/b978-0-12-802830-8.00002-2
- Masarovičová, E. ve Kráľová, K., 2012, *Plant-Heavy Metal Interaction: Phytoremediation, Biofortification and Nanoparticles*, Advances in Selected Plant Physiology Aspects. 75 – 102. doi: 10.5772/33722
- Masarovičová, E. ve Kráľová, K., 2013, Metal Nanoparticles and Plants / Nanocząstki Metaliczne I Rośliny, *Ecological Chemistry and Engineering S.*, 20 (1), 9–22. doi:10.2478/eces-2013-0001
- Massa, N., Andreucci, F., Poli, M., Aceto, M., Barbato, R., Berta, G., 2010, Screening for heavy metal accumulators amongst autochthonous plants in a polluted site in Italy, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73 (8), 1988–1997. doi:10.1016/j.ecoenv.2010.08.032
- Marschner, P., 2012, *Marschner's mineral nutrition of higher plants*, 3rd ed. Academic Press, London. doi: 10.1016/C2009-0-63043-9
- Mattsson, M., Johansson, E., Lundborg, T., Larsson, M., Larsson, C.-M., 1991, Nitrogen Utilization in N-limited Barley during Vegetative and Generative Growth, *Journal of Experimental Botany*, 42 (2). 197–205. doi:10.1093/jxb/42.2.197
- Maxwell, K., ve Johnson, G. N., 2000, Chlorophyll fluorescence - a practical guide, *Journal of Experimental Botany*, 51 (345), 659–668. doi:10.1093/jxb/51.345.659
- McCue, P., Zheng, Z., Pinkham, J. L., Shetty, K., 2000, A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments, *Process Biochemistry*, 35 (6), 603–613. doi:10.1016/s0032-9592(99)00111-9
- Mclaren, A., Valdes-Solis, T., Li, G., Tsang, S. C., 2009, Shape and Size Effects of ZnO Nanocrystals on Photocatalytic Activity, *Journal of the American Chemical Society*, 131 (35), 12540–12541. doi:10.1021/ja9052703

- McWilliams, A., 2016, *The Maturing Nanotechnology Market: Products and Applications*, BCC report highlights. <http://www.bccresearch.com/report/NAN031G.html>.
- Meier, S., Borie, F., Bolan, N., Cornejo, P., 2012, Phytoremediation of Metal-Polluted Soils by Arbuscular Mycorrhizal Fungi, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 42 (7), 741–775. doi:10.1080/10643389.2010.528518
- Mohsenzadeh, S. ve Moosavian, S., 2017, Zinc Sulphate and Nano-Zinc Oxide Effects on Some Physiological Parameters of *Rosmarinus officinalis*, *American Journal of Plant Sciences*, 8, 2635-2649. doi: 10.4236/ajps.2017.811178.
- Moustaka, J. ve Moustakas, M., 2014, Photoprotective mechanism of the non-target organism *Arabidopsis thaliana* to paraquat exposure, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 111, 1–6. doi:10.1016/j.pestbp.2014.04.006
- Moustaka, J., Tanou, G., Adamakis, I.-D., Eleftheriou, E., Moustakas, M., 2015, Leaf Age-Dependent Photoprotective and Antioxidative Response Mechanisms to Paraquat-Induced Oxidative Stress in *Arabidopsis thaliana*, *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (12), 13989–14006. doi:10.3390/ijms160613989
- Moustakas, M., Malea, P., Zafeirakoglou, A., Sperdoulis, I., 2016, Photochemical changes and oxidative damage in the aquatic macrophyte *Cymodocea nodosa* exposed to paraquat-induced oxidative stress, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 126, 28–34. doi:10.1016/j.pestbp.2015.07.003
- Moustakas, M., Bayçu, G., Gevrek, N., Moustaka, J., Csatári, I., Rognes, S. E., 2019, Spatiotemporal heterogeneity of photosystem II function during acclimation to zinc exposure and mineral nutrition changes in the hyperaccumulator *Noccaea caerulea*, *Environmental Science and Pollution Research*, 1-12. doi:10.1007/s11356-019-04126-0
- Mukherjee, A., Peralta-Videa, J. R., Bandyopadhyay, S., Rico, C. M., Zhao, L., Gardea-Torresdey, J. L., 2014, Physiological effects of nanoparticulate ZnO in green peas (*Pisum sativum* L.) cultivated in soil, *Metallomics*, 6 (1), 132–138. doi:10.1039/c3mt00064h
- Nadgórska-Socha, A., Ptasiński, B., Kita, A., 2013, Heavy metal bioaccumulation and antioxidative responses in *Cardaminopsis arenosa* and *Plantago lanceolata* leaves from metalliferous and non-metalliferous sites: a field study, *Ecotoxicology*, 22 (9), 1422–1434. doi:10.1007/s10646-013-1129-y
- Nair, P. M. G. ve Chung, I. M., 2014, A Mechanistic Study on the Toxic Effect of Copper Oxide Nanoparticles in Soybean (*Glycine max* L.) Root Development and Lignification of Root Cells, *Biological Trace Element Research*, 162 (1-3), 342–352. doi:10.1007/s12011-014-0106-5
- National nanotechnology initiative strategic plan, 2016, *National Science and Technology Council Committee on Technology Subcommittee on Nanoscale Science, Engineering, and Technology*, United States of America. https://www.nano.gov/sites/default/files/2016_nni_strategic_plan_public_comment_draft.pdf

- Nel, A., Xia, T., Mädler, L., Li, N., 2006, Toxic potential of materials at the nanolevel, *Science*, 311, 622–627.
- Novo, L. A. B. ve González, L., 2014, Germination and Early Growth of *Brassica juncea* in Copper Mine Tailings Amended with Technosol and Compost, *The Scientific World Journal*, 1–9. doi:10.1155/2014/506392
- Nowack, B., 2010, Nanosilver Revisited Downstream, *Science*, 330 (6007), 1054–1055. doi:10.1126/science.1198074
- Nowack, B. ve Bucheli, T. D., 2007, Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment, *Environmental Pollution*, 150 (1), 5–22. doi:10.1016/j.envpol.2007.06.006
- Nwoko, C. O., 2010, Trends in phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants, *Afr. J. Biotechnol.* 9, 6010–6016.
- Oberdörster, G., Stone V., Donaldson, K., 2007, Toxicology of nanoparticles: A historical perspective, *Nanotoxicology*, 1 (1), 2–25. doi:10.1080/17435390701314761
- Ohki, K., 1977, Critical Zinc Levels Related to Early Growth and Development of Determinate Soybeans, *Agronomy Journal*, 69 (6), 969. doi:10.2134/agronj1977.00021962006900060017x
- Olkhovych O., Svetlova N., Konotop Y., Karaushu O., Hrechishkina S., 2016a, Removal of Metal Nanoparticles Colloidal Solutions by Water Plants, *Nanoscale Research Letters*, 11, 518. doi: 10.1186/s11671-016-1742-9
- Olkhovych, O., Volkogon, M., Taran, N., Batsmanova, L., Kravchenko, I., 2016b, The Effect of Copper And Zinc Nanoparticles on the Growth Parameters, Contents of Ascorbic Acid, and Qualitative Composition of Amino Acids and Acylcarnitines in *Pistia stratiotes* L. (Araceae), *Nanoscale Research Letters*, 11 (1). doi:10.1186/s11671-016-1422-9
- Ong, S-T., Keng, P-S., Yip, S-P., Hung, Y-T.. 2012, Papaya (*Carica papaya*) seed as a low-cost sorbent for zinc removal, *Afr. J. Agric. Res.* 7, 810–819.
- Orłowska, E., Godzik, B., Turnau, K., 2012, Effect of different arbuscular mycorrhizal fungal isolates on growth and arsenic accumulation in *Plantago lanceolata* L., *Environmental Pollution*, 168, 121–130. doi:10.1016/j.envpol.2012.04.026
- Padmavathiamma, P. K. ve Li, L. Y., 2007, Phytoremediation technology: hyperaccumulation metals in plants, *Water, Air, and Soil Pollution*, 184 (1-4), 105-126.
- Panda, K. K., Golari, D., Venugopal, A., Achary, V. M. M., Phaomei, G., Parinandi, N. L., Sahu, H. K., Panda, B. B., 2017, Green Synthesized Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles Induce Oxidative Stress and DNA Damage in *Lathyrus sativus* L., *Root Bioassay System. Antioxidants*, 6 (2), 35. doi:10.3390/antiox6020035

- Pandey, N. ve Sharma, C.P., 2002, Effect of heavy metals Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage, *Plant Sci.*, 163, 753-758.
- Park, S., Kim, K.S., Kim, J. T., Kang, D., Sung, K., 2011, Effects of humic acid on phytodegradation of petroleum hydrocarbons in soil simultaneously contaminated with heavy metals, *Journal of Environmental Sciences*, 23 (12), 2034-2041.
- Parker, M. B., Gaines, T. P., Walker, M. E., Plank, C. O., Davis-Carter, J. G., 1990, Soil zinc and pH effects on leaf zinc and the interaction of leaf calcium and zinc on zinc toxicity of peanuts, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 21 (19-20), 2319–2332. doi:10.1080/00103629009368383
- Parsons, T. R., Strickland, J. D. H., 1963, Discussion of spectrophotometric determination of marine-plant pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids, *J. Mar. Res.*, 21 (3), 155-163. *Journal of Marine Research*. Sears Foundation for Marine Research, Yale University: New Haven, Conn.. ISSN 0022-2402
- Peralta-Videa, J. R., Hernandez-Viezcas, J. A., Zhao, L., Diaz, B. C., Ge, Y., Priester, J. H., Holden, P. A., Gardea-Torresdey, J. L., 2014, Cerium dioxide and zinc oxide nanoparticles alter the nutritional value of soil cultivated soybean plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 128–135. doi:10.1016/j.plaphy.2014.03.028
- Pilbeam, D. J., 2018, The Utilization of Nitrogen by Plants: A Whole Plant Perspective, *Annual Plant Reviews*, 42, 305–351. doi:10.1002/9781119312994.apr0460
- Pisanic, T. R., Jin, S., Shubayev, V. I., 2009, *Iron Oxide Magnetic Nanoparticle Nanotoxicity: Incidence and Mechanisms*, *Nanotoxicity*, 397–425. doi:10.1002/9780470747803.ch20
- Pokhrel, L. R. ve Dubey, B., 2013, Evaluation of developmental responses of two crop plants exposed to silver and zinc oxide nanoparticles, *Science of The Total Environment*, 452-453, 321–332. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.02.059
- Pošćić, F., Mattiello, A., Fellet, G., Miceli, F., Marchiol, L., 2016, Effects of Cerium and Titanium Oxide Nanoparticles in Soil on the Nutrient Composition of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Kernels, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13 (6), 577. doi:10.3390/ijerph13060577
- Prasad M. N. V., 2003, Phytoremediation of Metal-Polluted Ecosystems: Hype for Commercialization, *Russian Journal of Plant Physiology*, 50 (5), 686–700.
- Prasad, M. N. V. ve Freitas, H. M. D. O., 2003, Metal hyperaccumulation in plants biodiversity prospecting for phytoremediation technology, *Electron. J. Biotechnol.*, 6 (3), 275–321.
- Prasad, R., Shivay Y. S., Kumar, D., 2016, Interactions of Zinc with Other Nutrients in Soils and Plants - A Review, *Indian Journal of Fertilisers*, 12 (5), 16-26.
- Premachandra, G. S., Saneoka, H., Ogata, S., 1990, Cell membrane stability, an indicator of drought tolerance, as affected by applied nitrogen in soyabean, *The journal of agricultural science*, 115 (1), 63-66.

- Qu J., Yuan X., Wang X., Shao P., 2011, Zinc accumulation and synthesis of ZnO nanoparticles using *Physalis alkekengi* L., *Environmental Pollution*, 159 (7), 1783–1788. doi:10.1016/j.envpol.2011.04.016
- Rana T. Y. ve Al-Salih H. S., 2014, Uptake of Zinc Nanoparticles by *Prosopis farcta* L. Plants Callus Cultures, *Eng. & Tech. Journal*, 32 (3), 615-622.
- Ranalde-Malvi, U., 2011, Interaction of micronutrients with major nutrients with special reference to potassium, *Karnataka J. Agric., Sci.*, 24 (1), 106-109.
- Rascio, A., Russo, M., Mazzucco, L., Platani, C., Nicastrò, G., Di Fonzo, N., 2001, Enhanced osmotolerance of a wheat mutant selected for potassium accumulation, *Plant Science*, 160 (3), 441–448. doi:10.1016/s0168-9452(00)00404-0
- Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, H. M., He, X., Mbarki, S., Brestic, M., 2017, Impact of Metal and Metal Oxide Nanoparticles on Plant: A Critical Review, *Frontiers in Chemistry*, 5 (78). doi:10.3389/fchem.2017.00078
- Razzaq, R., 2017, Phytoremediation: An Environmental Friendly Technique - A Review, *Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 4 (2). doi:10.4172/2380-2391.1000195
- Ravikumar, K. ve Sheeja, A. K., 2013, Heavy metal removal from water using *Moringa oleifera* seed coagulant and double filtration, *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 4 (5).
- Read, D. S., Matzke, M., Gweon, H. S., Newbold, L. K., Heggelund, L., Ortiz, M. D., Lahivel, E., Spurgeon, D., Svendsen, C., 2015, Soil pH effects on the interactions between dissolved zinc, non-nano- and nano-ZnO with soil bacterial communities, *Environmental Science and Pollution Research*, 23 (5), 4120–4128. doi:10.1007/s11356-015-4538-z
- Rosell, R. A. ve Ulrich, A., 1964, Critical zinc concentration and leaf minerals of sugarbeet plants, *Soil Sci.*, 97, 152–167.
- Rout, G. R. ve Das, P., 2003, Effect of Metal Toxicity on Plant Growth and Metabolism: I. Zinc, *Agronomie*, 23 (1), 3–11. doi:10.1051/agro:2002073
- Ruffini-Castiglione, M. ve Cremonini, R., 2009, Nanoparticles and higher plants, *Caryologia*, 62 (2), 161-165.
- Sabo-Attwood, T., Unrine, J. M., Stone, J. W., Murphy, C. J., Ghoshroy, S., Blom, D., Bertsch, P. M., Newman, L. A., 2011, Uptake, distribution and toxicity of gold nanoparticles in tobacco (*Nicotiana xanthi*) seedlings, *Nanotoxicology*, 6 (4), 353–360. doi:10.3109/17435390.2011.579631
- Sagardoy, R., Morales, F., López-Millán, A.-F., Abadía, A., Abadía, J., 2009, Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics, *Plant Biology*, 11 (3), 339–350. doi:10.1111/j.1438-8677.2008.00153.x

- Sagardoy, R., Vázquez, S., Florez-Sarasa, I. D., Albacete, A., Ribas-Carbó, M., Flexas, J., Abadía, J., Morales, F., 2010, Stomatal and mesophyll conductances to CO₂ are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) plants grown with excess zinc, *New Phytologist*, 187 (1), 145–158. doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03241.x
- Sairam, R. K., 1994, Effects of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisture-stress conditions of two wheat varieties, *Plant growth regulation*, 14 (2), 173-181.
- Salt, D. E., Blaylock, M., Kumar, N. P. B. A., Dushenkov, V., Ensley, B. D., Chet, I., Raskin, I., 1995, Phytoremediation: A Novel Strategy for the Removal of Toxic Metals from the Environment Using Plants, *Nature Biotechnology*, 13 (5), 468–474. doi:10.1038/nbt0595-468
- Samoli, E., Stafoggia, M., Rodopoulou, S., Ostro, B., Alessandrini, E., Basagaña, X., Díaz, J., Faustini, A., Gandini, M., Karanasiou, A., Kelessis, A. G., Le Tertre, A., Linares, C., Ranzi, A., Scarinzi, C., Katsouyanni, K., Forastiere, F., MED-PARTICLES Study group 2014, Which specific causes of death are associated with short term exposure to fine and coarse particles in Southern Europe? Results from the MED-PARTICLES Project, *Environment International*, 67, 54–61. doi:10.1016/j.envint.2014.02.013
- Sawidis, T., Breuste, J., Mitrovic, M., Pavlovic, P., Tsigaridas, K., 2011, Trees as bioindicator of heavy metal pollution in three European cities, *Environmental Pollution*, 159 (12), 3560–3570. doi:10.1016/j.envpol.2011.08.008
- Sawidis, T., Papadopoulou, A., Voulgaropoulou, M., 2013, Effect of zinc on nectar secretion of *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Protoplasma*, 251 (3), 575–589. doi:10.1007/s00709-013-0557-0
- Sayes, C. M., Reed, K. L., Warheit, D. B., 2007, Assessing Toxicity of Fine and Nanoparticles: Comparing In Vitro Measurements to In Vivo Pulmonary Toxicity Profiles, *Toxicological Sciences*, 97 (1), 163–180. doi:10.1093/toxsci/kfm018
- Schutzendubel, A. ve Polle, A., 2002, Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization, *Journal of Experimental Botany*, 53 (372), 1351–1365. doi:10.1093/jexbot/53.372.1351
- Schwabe, F., Tanner, S., Schulin, R., Rotzetter, A., Stark, W., von Quadt, A., Nowack, B., 2015, Dissolved cerium contributes to uptake of Ce in the presence of differently sized CeO₂-nanoparticles by three crop plants, *Metallomics*, 7 (3), 466–477. doi:10.1039/c4mt00343h
- Serrano, H. C., Cotrim, H., Pinto, M. J., Martins-Loução, M. A., Branquinho, C., 2017, Metal hyperaccumulation patterns within *Plantago* phylogeny (Plantaginaceae), *Plant and Soil*, 411 (1), 227-241. doi:10.1007/s11104-016-3024-9
- Shalaby, S. ve Horwitz, B. A., 2014, Plant phenolic compounds and oxidative stress: integrated signals in fungal–plant interactions, *Current Genetics*, 61 (3), 347–357. doi:10.1007/s00294-014-0458-6

- Sharma, S. S. ve Dietz, K.-J., 2009, The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance, *Trends in Plant Science*, 14 (1), 43–50. doi:10.1016/j.tplants.2008.10.007
- Shaw, A. K., Ghosh, S., Kalaji, H. M., Bosa, K., Brestic, M., Zivcak, M., Hossain, Z., 2014, Nano-CuO stress induced modulation of antioxidative defense and photosynthetic performance of Syrian barley (*Hordeum vulgare* L.), *Environmental and Experimental Botany*, 102, 37–47. doi:10.1016/j.envexpbot.2014.02.016
- Shaymurat, T., Gu, J., Xu, C., Yang, Z., Zhao, Q., Liu, Y., Liu, Y., 2011, Phytotoxic and genotoxic effects of ZnO nanoparticles on garlic (*Allium sativum* L.): A morphological study, *Nanotoxicology*, 6 (3), 241–248. doi:10.3109/17435390.2011.570462
- Shi, J., Peng, C., Yang, Y., Yang, J., Zhang, H., Yuan, X., Chen, Y., Hu, T., 2013, Phytotoxicity and accumulation of copper oxide nanoparticles to the Cu-tolerant plant *Elsholtzia splendens*, *Nanotoxicology*, 8 (2), 179–188. doi:10.3109/17435390.2013.766768
- Shibli, R. A., Kushad, M., Yousef, G. G., Lila, M. A., 2007, Physiological and biochemical responses of tomato microshoots to induced salinity stress with associated ethylene accumulation, *Plant Growth Regul.*, 51, 159–169.
- Shukla, U. C. ve Mukhi, A. K., 1980, Ameliorative Role of Zn, K, and Gypsum on Maize Growth under Alkali Soil Conditions, *Agronomy Journal*, 72 (1), 85. doi:10.2134/agronj1980.00021962007200010017x
- Shukla, U. C. ve Prasad, K. G., 1974, Ameliorative Role of Zinc on Maize Growth Under Alkali Soil Condition, *Agronomy Journal*, 66 (6), 804. doi:10.2134/agronj1974.00021962006600060026x
- Shukla, U. C. ve Mukhi, A. K., 1985, Ameliorative role of zinc on maize growth (*Zea mays* L.) under salt-affected soil conditions, *Plant and Soil*, 87 (3), 423–432. doi:10.1007/bf02181909
- Singh, A. ve Prasad, S. M., 2011, Reduction of heavy metal load in food chain: technology assessment, *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 10 (3), 199–214. doi:10.1007/s11157-011-9241-z
- Singh, A., Singh, N. B., Afzal, S., Singh, T., Hussain, I., 2017, Zinc oxide nanoparticles: a review of their biological synthesis, antimicrobial activity, uptake, translocation and biotransformation in plants, *Journal of Materials Science*, 53 (1), 185–201. doi:10.1007/s10853-017-1544-1
- Singh, N. B., Amist, N., Yadav, K., Singh, D., Pandey, J. K., Singh, S. C., 2013, Zinc Oxide Nanoparticles as Fertilizer for the Germination, Growth and Metabolism of Vegetable Crops, *Journal of Nanoengineering and Nanomanufacturing*, 3 (4), 353–364. doi:10.1166/jnan.2013.1156

- Sperdoui, I. ve Moustakas, M., 2011, Spatio-temporal heterogeneity in *Arabidopsis thaliana* leaves under drought stress, *Plant Biology*, 14, 118–128. doi:10.1111/j.1438-8677.2011.00473.x
- Stampoulis, D., Sinha, S. K., White, J. C., 2009, Assay-Dependent Phytotoxicity of Nanoparticles to Plants, *Environmental Science & Technology*, 43 (24), 9473–9479. doi:10.1021/es901695c
- Steinbach, C., Bohmer, N., Krug, H. F., Kühnel, D., Nau, K., Paul, F., Reithel, S., Marquardt, C., 2016, DaNa 2.0 - verlässliche Informationen zur Sicherheit von marktüblichen Nanomaterialien, *Chemie Ingenieur Technik*, 89 (3), 232–238. doi:10.1002/cite.201600074
- Stefanowicz, A. M., Stanek, M., Woch, M. W., Kapusta, P., 2015, The accumulation of elements in plants growing spontaneously on small heaps left by the historical Zn-Pb ore mining, *Environmental Science and Pollution Research*, 23 (7), 6524–6534. doi:10.1007/s11356-015-5859-7
- Stone, V., Hankin, S., Aitken, R., Aschberger, K., Baun, A., Christensen, F., Fernandes, T., Hansen, S. F., Hartmann, N. B., Hutchinson, G., Johnston, H., Micheletti, C., Peters, S., Ross, B., Sokull-Kluettgen, B., Stark, D. Tran, L., 2010a, *Engineered Nanoparticles: Review of Health and Environmental Safety (ENHRES)*, European Commission Joint Research Centre. <http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/whats-new/enhres-final-report>
- Stone, V., Nowack, B., Baun, A., van den Brink, N., von der Kammer, F., Dusinska, M., Handy, R., Hankin, S., Hasselov, M., Joner, E., Fernandes, T. F., 2010b, Nanomaterials for environmental studies: Classification, reference material issues, and strategies for physico-chemical characterisation, *Science of the Total Environment*, 408, 1745–1754. doi: 10.1016/j.scitotenv.2009.10.035.
- Stoutjesdijk, P., 1992, *Micrometeorological characterization of Plantago sites*. Plantago: a multidisciplinary study (edited by Kuiper, P. J. C. & Bos, M.), Berlin, Germany; Springer-Verlag, 48-52.
- Stuiver, C. E. E., Posthumus, F. S., Parmar, S., Shahbaz, M., Hawkesford, M. J., Kok, L. J. D., 2014, Zinc exposure has differential effects on uptake and metabolism of sulfur and nitrogen in Chinese cabbage, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 177 (5), 748–757. doi:10.1002/jpln.201300369
- Subhashini, V., Swamy, A. V. V. S., Hema, K. R., 2013, Phytoremediation: Emerging and green technology for the uptake of cadmium from the contaminated soil by plant species, *International Journal of Environmental Sciences*, 4 (2): 193-204. doi: 10.6088/ijes.2013040200008
- Sun, X., Liu, Z., Welsher, K., Robinson, J. T., Goodwin, A., Zaric, S., Dai, H., 2008, Nanographene oxide for cellular imaging and drug delivery, *Nano Research*, 1 (3), 203–212. doi:10.1007/s12274-008-8021-8

- Szarek-Lukaszewska, G., Niklinska, M., 2002, Concentration of alkaline and heavy metals in *Biscutella laevigata* L. and *Plantago lanceolata* L. growing on calamine spoils (S. Poland), *Acta. Biol. Cracov. Bot.*, 44, 29–38.
- Tang, F., Li, L., Chen, D., 2012, Mesoporous Silica Nanoparticles: Synthesis, Biocompatibility and Drug Delivery, *Advanced Materials*, 24 (12), 1504–1534. doi:10.1002/adma.201104763
- Taran, N., Batsmanova, L., Konotop, Y., Okanencko, A., 2014, Redistribution of elements of metals in plant tissues under treatment by non-ionic colloidal solution of biogenic metal nanoparticles, *Nanoscale Research Letters*, 9 (1), 354. doi:10.1186/1556-276x-9-354
- Taran, N., Storozhenko, V., Svetlova, N., Batsmanova, L., Shvartau, V., Kovalenko, M., 2017, Effect of Zinc and Copper Nanoparticles on Drought Resistance of Wheat Seedlings, *Nanoscale Research Letters*, 12 (60). doi:10.1186/s11671-017-1839-9
- Thwala, M., Musee, N., Sikhwivhilu, L., Wepener, V., 2013, The oxidative toxicity of Ag and ZnO nanoparticles towards the aquatic plant *Spirodela punctata* and the role of testing media parameters, *Environmental Science: Processes & Impacts*, 15 (10), 1830. doi:10.1039/c3em00235g
- Tinkov, A. A., Nemereshina, O. N., Suliburska, J., Gatiatulina, E. R., Regula, J., Nikonorov, A. A., Skalny, A. V., 2016, Comparative Analysis of the Trace Element Content of the Leaves and Roots of Three *Plantago* Species, *Biological Trace Element Research*, 173 (1), 225–230. doi:10.1007/s12011-016-0626-2
- Toduka, Y., Toyooka, T., Ibuki, Y., 2012, Flow Cytometric Evaluation of Nanoparticles Using Side-Scattered Light and Reactive Oxygen Species-Mediated Fluorescence–Correlation with Genotoxicity, *Environmental Science & Technology*, 46 (14), 7629–7636. doi:10.1021/es300433x
- Tripathi, D. K., Mishra, R. K., Singh, S., Singh, S., Vishwakarma, K., Sharma, S., Singh, V. P., Singh, P. K., Prasad, S. M., Dubey, N. K., Pandey, A. C., Sahi, S., Chauhan, D. K., 2017, Nitric Oxide Ameliorates Zinc Oxide Nanoparticles Phytotoxicity in Wheat Seedlings: Implication of the Ascorbate–Glutathione Cycle. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1 – 8. doi:10.3389/fpls.2017.00001
- Uikey, P. ve Vishwakarma, K., 2016, Review of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles Applications and Properties, *International Journal of Emerging Technology in Computer Science & Electronics (IJETCSE)*, 21 (2), 0976 -1353.
- Van der Ent A., Baker A. J. M., Reeves R. D., Pollard A. J., Schat H., 2013, Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: facts and fiction, *Plant Soil*. 362 (1–2), 319–334. doi: 10.1007/s11104-012-1287-3.
- Vance, M. E., Kuiken, T., Vejerano, E. P., McGinnis, S. P., Hochella, M. F., Rejeski, D., Hull, M. S., 2015, Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory, *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 6, 1769–1780. doi:10.3762/bjnano.6.181

- Verbruggen, N., Hermans, C., Schat, H., 2009, Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants, *New Phytologist*, 181 (4), 759–776. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02748.x
- Waalewijn-Kool, P. L., Rupp, S., Lofts, S., Svendsen, C., van Gestel, C. A. M., 2014, Effect of soil organic matter content and pH on the toxicity of ZnO nanoparticles to *Folsomia candida*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 108, 9–15. doi:10.1016/j.ecoenv.2014.06.031
- Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., Guo, S., 2013, The Critical Role of Potassium in Plant Stress Response, *International Journal of Molecular Sciences*, 14 (4), 7370–7390. doi:10.3390/ijms14047370
- Wang, H., Kou, X., Pei, Z., Xiao, J. Q., Shan, X., Xing, B., 2010, Physiological effects of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and pumpkin (*Cucurbita mixta*) plants, *Nanotoxicology*, 5 (1), 30–42. doi:10.3109/17435390.2010.489206
- Wang, X., Yang, X., Chen, S., Li, Q., Wang, W., Hou, C., Gao, X., Wang, L., Wang, S., 2016, Zinc Oxide Nanoparticles Affect Biomass Accumulation and Photosynthesis in Arabidopsis, *Frontiers in Plant Science*, 6 (1243). doi:10.3389/fpls.2015.01243
- Wiesner, M. R. ve Bottero., J.-Y., 2007, Environmental Nanotechnology: Applications and Impacts of Nanomaterials. doi: 10.1036/0071477500
- Wilner, J., 1955, Results of laboratory tests for winter hardiness of woody plants by electrolytic methods, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 66, 93-99.
- World Health Organisation, 2018, Global Ambient Air Quality Database (update 2018) ENHIS, *World Health Organization*. <https://www.who.int/airpollution/data/cities/en/>
- Wu, S. G., Huang, L., Head, J., Chen, D. R., Kong, I. C., Yinjie, J., Tang, Y. G., 2012, Phytotoxicity of metal oxide nanoparticles is related to both dissolved metals ions and adsorption of particles on seed surfaces, *J. Pet. Environ. Biotechnol*, 3, 1–6.
- Xiong, M., Gu, G., You, B., Wu, L., 2003, Preparation and characterization of poly (styrene butylacrylate) latex/nano-ZnO nanocomposites, *Journal of Applied Polymer Science*, 90 (7), 1923–1931. doi:10.1002/app.12869
- Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, H., Xi, Z., 2009, Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition, *Journal of Applied Toxicology*, 29 (1), 69–78. doi:10.1002/jat.1385
- Yang, J., Cao, W., Rui, Y., 2017, Interactions between nanoparticles and plants: phytotoxicity and defense mechanisms, *Journal of Plant Interactions*, 12 (1), 158–169. doi:10.1080/17429145.2017.1310944

- Yang, K., Zhang, S., Zhang, G., Sun, X., Lee, S.-T., Liu, Z., 2010, Graphene in Mice: Ultrahigh In Vivo Tumor Uptake and Efficient Photothermal Therapy, *Nano Letters*, 10 (9), 3318–3323. doi:10.1021/nl100996u
- Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q., Ma, L. Q., 2006, Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site, *Science of The Total Environment*, 368 (2-3), 456–464. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.01.016
- Zhai, G., 2013, Phytoremediation: Green Weapon to Fight Pollution, *J. Bioremed Biodeg*, 7. doi: 10.4172/2155-6199.S7-e001
- Zhao, L., Hernandez-Viezcas, J. A., Peralta-Videa, J. R., Bandyopadhyay, S., Peng, B., Munoz, B., Keller, A. A., Gardea-Torresdey, J. L., 2013a, ZnO nanoparticle fate in soil and zinc bioaccumulation in corn plants (*Zea mays*) influenced by alginate, *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 15 (1), 260–266. doi:10.1039/c2em30610g
- Zhao, L., Sun, Y., Hernandez-Viezcas, J. A., Servin, A. D., Hong, J., Niu, G., Peralta-Videa, J. R., Duarte-Gardea, M., Gardea-Torresdey, J. L., 2013b, Influence of CeO₂ and ZnO Nanoparticles on Cucumber Physiological Markers and Bioaccumulation of Ce and Zn: A Life Cycle Study, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (49), 11945–11951. doi:10.1021/jf404328e
- Zhao, L. J., Peralta-Videa, J. R., Rico, C. M., Hernandez-Viezcas, J. A., Sun, Y., Niu, G., Servin, A., Nunez, J. E., Duarte-Gardea, M., Gardea-Torresdey, J. L., 2014, CeO₂ and ZnO Nanoparticles Change the Nutritional Qualities of Cucumber (*Cucumis sativus*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (13), 2752–2759. doi:10.1021/jf405476u
- Zia-ur-Rehman, M., Qayyum, M. F., Akmal, F., Maqsood, M. A., Rizwan, M., Waqar, M., Azhar, M., 2018, *Recent Progress of Nanotoxicology in Plants. Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms*, 143–174. doi:10.1016/b978-0-12-811487-2.00007-4

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Hilal Eroğlu
Doğum Yeri	İSTANBUL
Doğum Tarihi	21.07.1987
Uyruğu	T.C.
Telefon	+905373108868
E-Posta Adresi	hilarella87@gmail.com
E-Posta Adresi 2	hilal.eroglu@ogr.iu.edu.tr
Web Adresi	-



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ege Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	2012

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji
Programı	Botanik

Makale ve Bildiriler
<p>INOCULATION OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI ON SOME PLANTAGO SPECIES: A COMPARATIVE STUDY OF GROWTH, Hilal Eroğlu, Wolfram Beyschlag, Gülriz Bayçu, Tom Steinlein and Stephan Unger., 1st International Symposium on Graduate Research in Science: Focus on Entrepreneurship and Innovation, October 4-6, 2018, Istanbul, (Sözlü sunum).</p>