



**MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TOPRAK ANABİLİM DALI**

**KURŞUN METALİ İLE KİRLENMİŞ TOPRAKLARIN TRANSGENİK BİTKİ  
KULLANILARAK TEMİZLENME OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

**ABDULLAH EREN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Antakya/HATAY**  
**Ocak - 2010**

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KURŞUN METALİ İLE KİRLENMİŞ TOPRAKLARIN TRANSGENİK BİTKİ  
KULLANILARAK TEMİZLENME OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

ABDULLAH EREN  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
TOPRAK ANABİLİM DALI

Yrd. Doç. Dr. Hatice DAGHAN danışmanlığında hazırlanan bu tez 13/01/2010 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Hatice DAĞHAN Yrd. Doç. Dr. Veli UYGUR Doç. Dr. Mehmet ARSLAN  
Başkan Üye Üye

Bu tez Enstitümüz Toprak Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

**Kod No:**

Prof. Dr. Bünyamin YILDIZ  
Enstitü Müdür Vekili

Bu çalışma, Bilimsel Araştırma Projesi tarafından desteklenmiştir.  
**Proje No:** 08M1103

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	I
ABSTRACT .....	II
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	V
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	3
2.1 Ağır Metaller.....	5
2.2 Kurşun .....	5
2.3 Topraktaki Pb Kaynakları.....	7
2.4 Kurşun Alımına Toprak Özelliklerinin Etkisi .....	8
2.5 Bitkilerde Kurşun.....	9
2.6 Kurşunun İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri.....	13
2.7 Metallerle Kirlenmiş Toprakların Temizlenmesi.....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1 Materyal.....	17
3.1.1 Bitki Materyali .....	17
3.1.1.1 Genetik Yapısı Değiştirilmiş pcV-ChMTIIGFP Tütün Bitkisinin Özellikleri .....	17
3.1.2 Deneme Toprağı.....	18
3.2 Yöntem .....	20
3.2.1 Bitkinin Çimlendirilmesi .....	20
3.2.2 Toprak Hazırlığı .....	20
3.2.3 Deneme Toprağının Fiziksel ve Kimyasal Analizleri .....	20
3.2.3.1 Nem (%).....	20
3.2.3.2 Suya Doygunluk (Saturasyon) (%).....	20
3.2.3.3 Toplam Tuz (%).....	21
3.2.3.4 Toprak Reaksiyonu (pH).....	21
3.2.3.5 Kireç (CaCO <sub>3</sub> ) .....	21
3.2.3.6 Organik Madde (%) .....	21
3.2.3.7 Toplam Karbon (%).....	21
3.2.3.8 Toplam N Analizi .....	21

3.2.3.9 Alınabilir Fosfor (mg/kg).....	21
3.2.3.10 Alınabilir Potasyum .....	22
3.2.3.11 Toplam Metal Analizi .....	22
3.2.3.12 Tekstür (Bünye).....	22
3.2.3.13 Bitki Tarafından Alınabilir Metal Analizi (DTPA Yöntemi).....	22
3.2.3.14 Tarla Kapasitesi .....	22
3.2.4 Saksı Denemesi .....	22
3.2.5 Fenolojik Gözlemler .....	23
3.2.6 Klorofil Analizi .....	23
3.2.7 Bitki Örneklerinin Hazırlanması ve Analizi .....	23
3.2.8 Bitki Örneklerinde Pb, Zn, Cu, Fe, Mn, N, P ve K Analizi ve Ölçümü.....	24
3.2.9 N Analizi.....	24
3.2.10 P Analizi.....	24
3.2.11 İstatistiksel Analiz .....	24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	25
4.1 Fenolojik Gözlemler.....	25
4.2 Klorofil Analizi.....	29
4.3 Yaş ve Kuru Ağırlık Ölçümü.....	34
4.4 Bitki Analizleri.....	37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	56
KAYNAKLAR.....	58
TEŞEKKÜR .....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	64

## ÖZET

**KURŞUN METALİ İLE KİRLLENMİŞ TOPRAKLARIN TRANSGENİK BİTKİ KULLANILARAK TEMİZLENME OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Bu çalışma kurşun ile kirletilmiş toprakların bitki kullanılarak temizlenebilme olanaklarının araştırılması için yapılmıştır. Bu maksatla genetiği değiştirilmiş tütün bitkisi (p-cV-ChMTIIGFP) ile normal bir tütün bitkisi (SR-1, *Nicotiana tabaccum* var. Petit Havana) büyüme kabinde gerçekleştirilen saksı denemesiyle karşılaştırılmıştır. Mahmutlu serisi toprağına Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> kaynağından 0, 25, 50, 100, 200 ve 400 g Pb kg<sup>-1</sup> uygulandıktan sonra 3 hafta bitkisiz inkübasyona bırakılmıştır. Ekimden önce saksılara (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> tan 200 mg kg<sup>-1</sup> N; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ten 100 mg kg<sup>-1</sup> P ve 125 mg kg<sup>-1</sup> K ve Fe-EDTA dan 2.5 mg kg<sup>-1</sup> Fe uygulanmıştır. Daha sonra Murashige-Skoog (MS) ortamında çimlendirilen transgenik bitkiler ve perlit:torf karışımında (1:1) çimlendirilen SR-1 bitkileri saksılara aktarılmıştır. Toprağın nem içeriği tarla kapasitesinin % 60-80 olacak şekilde 6 haftalık büyüme periyodu süresince saf su ile sulanma yapılmıştır. Deneme sonunda bitkilerde klorofil analizi fenolojik gözlemler alındıktan sonra, bitkiler toprak seviyesinden kesilerek hasat edilmiştir. Bitkilerin sürgünlerindeki Pb, Zn, Cu, Mn, Fe, N, P ve K konsantrasyonları belirlenmiştir. Bitkilerin dokularında biriktirdiği Pb konsantrasyonu toksisiteye neden olacak seviyelere ulaşmamıştır. 400 mg kg<sup>-1</sup> Pb uygulamasında transgenik tütünde Pb konsantrasyonu 5.26 mg kg<sup>-1</sup> iken, SR-1 de 3.36 mg kg<sup>-1</sup> olduğu belirlenmiştir. Ancak, transgenik tütün bitkisi kurşunla kirletilmiş toprakların temizlenmesinde kullanılma potansiyeline sahiptir.

2010, 64sayfa

**Anahtar kelimeler:** Transgenik tütün, kurşun, fitoremediation, kirlilik

## ABSTRACT

**RECLAMATION POSSIBILITY OF LEAD CONTAMINATED SOIL BY USING  
TRANSGENIC TOBACCO**

The possibility of the reclamation of polluted soils with lead by phytoremediation was investigated. For this purpose, the performance of transgenic tobacco (p-cV-ChMTIIIGFP) and SR-1 tobacco cultivar (*Nicotiana tabaccum* var. Petit Havana) grown in the growth chamber was compared. Triplicates of 0, 25, 50, 100, 200 and 400 mg Pb kg<sup>-1</sup> were applied as Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> to Mahmutlu series soil and incubated without plant at growth chamber for 3 weeks. Before transplantation, 200 mg kg<sup>-1</sup> N as (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 100 mg kg<sup>-1</sup> P and 125 mg kg<sup>-1</sup> K as KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, and 2.5 mg kg<sup>-1</sup> Fe as Fe-EDTA were applied to each pot. Then the plantlets of transgenic plant germinated in the Murashige-Skoog (MS) media and SR-1 germinated in the perlite:torf mixture (1:1) was transplanted into the pots. Moisture content of the soil was kept in the range of 60-80% of field capacity by irrigating de-ionised water during the entire growing period (6 weeks). Before the harvest, chlorophyll content was determined by means of Spad-502 and the phenological observations were taken. Then the plants were harvested by cutting just above the soil surface. Shoot concentration of Pb, Zn, Cu, Mn, Fe, N, P and K were determined. The Pb accumulation in shoots did not reach to a toxic level. Shoot Pb concentration for transgenic tobacco was 5.26 mg kg<sup>-1</sup> whereas it was 3.36 mg kg<sup>-1</sup> for SR-1 cultivar. However, the transgenic tobacco has a potential for phytoremediating the polluted soils with lead.

2010, 64 pages

**Key words:** Transgenic tobacco, lead, phytoremediation, pollution

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil.2.1.Çevreyi kirleten Pb kaynakları.....	6
Şekil.2.2.Kurşun toksisitesinin bitki metabolizması üzerine etkisi .....	11
Şekil.3.1.ChMTII geninin PCR’la çoğaltılması ve klonlanması.....	18
Şekil.3.2. <i>Chinese hamster</i> Metalloiyonin II geninin pTRA-kc bitki ekspresyon vektöründeki aktarılmış durumu.....	18
Şekil.4.1.Farklı dozda Pb uygulamalarının transgenik olmayan SR-1 bitkisi üzerine etkileri.....	27
Şekil.4.2.Farklı dozda Pb uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP bitkisi üzerine etkileri.....	28
Şekil.4.3.Farklı Pb uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri alt yapraklarının klorofil düzeyleri üzerine çeşit doz interaksyonu .....	32
Şekil.4.4.Farklı Pb uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri üst yapraklarının klorofil düzeyleri üzerine çeşit doz interaksyonu .....	33
Şekil.4.5.Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının yaş ağırlıkları üzerine çeşit doz interaksyonu .....	36
Şekil.4.6.Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının kuru ağırlıkları üzerine çeşit doz interaksyonu .....	37
Şekil.4.7.Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının Pb konsantrasyonu üzerine çeşit doz interaksyonu .....	40
Şekil.4.8.Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının Pb içeriği üzerine çeşit doz interaksyonu.....	41
Şekil.4.9.Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının Cu konsantrasyonu üzerine çeşit doz interaksyonu .....	45

Şekil.4.10.Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının Fe konsantrasyonu üzerine çeşit doz interaksyonu .....	46
Şekil.4.11.Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının Zn konsantrasyonu üzerine çeşit doz interaksyonu .....	48
Şekil.4.12.Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının Mn konsantrasyonu üzerine çeşit doz interaksyonu .....	49
Şekil.4.13.Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının (%) N içerikleri üzerine çeşit doz interaksyonu .....	52
Şekil.4.14. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının (%) P içerikleri üzerine çeşit doz interaksyonu .....	53
Şekil.4.15.Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının (%) K içerikleri üzerine çeşit doz interaksyonu .....	54



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.Araştırmada kullanılan Mahmutlu serisi toprağının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri .....	19
Çizelge 4.1.Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde alt ve üst yaprak klorofil içerikleri değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (% D.K.) .....	30
Çizelge 4.2.Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin klorofil düzeylerine etkileri (LSD % 5). 30	
Çizelge 4.3.Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) klorofil düzeylerine etkileri .....	31
Çizelge 4.4.Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde yaş ve kuru ağırlık değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.).....	34
Çizelge 4.5.Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkileri .....	34
Çizelge 4.6.Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkileri.....	35
Çizelge 4.7.Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde Pb konsantrasyonu ve Pb içeriği değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.) .....	38
Çizelge 4.8.Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin Pb konsantrasyonu ve Pb içeriğine etkileri .....	38
Çizelge 4.9.Farklı Pb dozlarının araştırmada kullanılan tütün bitkilerinde (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) Pb element konsantrasyonlarına ve Pb içeriği etkileri .....	39
Çizelge 4.10.Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde Cu ve Fe konsantrasyonu değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.) .....	43
Çizelge 4.11.Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin Cu ve Fe konsantrasyonlarına etkileri...	43

Çizelge 4.12.Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) Cu ve Fe konsantrasyonlarına etkileri .....	44
Çizelge 4.13.Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde Zn ve Mn konsantrasyonu değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.) .....	46
Çizelge 4.14.Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 ( <i>Nicotiana tobaccum</i> Petit Havana) tütün bitkilerinin Zn ve Mn konsantrasyonlarına etkileri.....	47
Çizelge 4.15.Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) Zn ve Mn konsantrasyonlarına etkileri.....	47
Çizelge 4.16.Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde (%) N , P ve K konsantrasyonları değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.) .....	50
Çizelge 4.17.Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin N, P ve K içeriklerine etkileri.....	51
Çizelge 4.18.Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) N, P ve K içeriklerine etkileri .....	51

## 1. GİRİŞ

Topraklardaki ağır metal kirliliği, endüstrinin ve madencilik aktivitelerinin gelişmesi ve yaygınlaşmasıyla global bir problem halini almaktadır. Ağır metallerle kirlenmiş toprakları temizleme çalışmaları günümüzün en zor ve en önemli konulardan biridir. Toprakta meydana gelen ağır metal kirliliği sadece verim ve ürün kalitesi üzerinde değil, atmosferik ve sucul (aquatik) çevre kalitesini bozmakta, hatta besin zinciri yoluyla insan sağlığı üzerinde de çok önemli etkiler yaratmaktadır. Bu nedenle, insan sağlığı için ciddi tehditler oluşturan ağır metallerce kirletilmiş alanların temizlenmesi için, etkin ve uygulanabilir bir teknolojik çözüme ihtiyaç duyulmaktadır. Kirlenmiş toprakların ıslahı çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler ile mümkün olabilmektedir. Biyolojik temizleme yöntemleri içinde yer alan fitoremediasyon, diğer yöntemlere göre en ucuz ve ekolojik açıdan en uygun yaklaşımdır. Bitki yetiştirilerek toprağın temizlenmesi fitoremediasyon olarak tanımlanmaktadır. Fitoremediasyon teknolojilerini fitostabilizasyon (bitki kullanılarak topraktaki metallerin mobiliteilerinin ve yararlılıklarının sınırlanması), rizofiltrasyon (kirlenmiş suyun bitki kullanılarak temizlenmesi) ve fitoekstraksiyon (toprakta kirliliğe neden olan metalin, bitki kökleri yolu ile alınarak bitkinin yeşil aksamına taşınması ve biriktirilmesi) olmak üzere üç sınıfta incelemek mümkündür.

Fitoekstraksiyonda kullanılacak bitkinin; hasat edilebilir aksamında yüksek oranda metal biriktirebilmesi, biriken ağır metale toleranslı, hızlı büyüeyebilen, derin köklü, kolayca hasat edilebilir ve yüksek biyomas üretiyor olması gerekmektedir. Yüksek miktarda ağır metal biriktirme özelliğine sahip olan hiperakümülatör bitkiler, kuru ağırlık esasına göre % 0,1 den fazla krom, kobalt ve nikel, %1 çinko ve manganez içerebilmektedir. Ancak, bu bitkilerin fitoekstraksiyon amacıyla kullanılmasını sınırlandıran yavaş büyüme ve az yeşil aksam üretme gibi istenmeyen durumlar söz konusudur. Ayrıca, bu tip bitkiler bir kaç elementi değil, yalnızca özel bir elementi bünyelerine alarak biriktirebilmektedirler. Fakat gen mühendisliğindeki gelişmelerle; fazla yeşil aksam üretebilen, çok sayıda ağır metali aynı anda absorbe edebilen, absorbe ettikleri ağır metalleri biriktirebilen ve biriken ağır metali tolere edebilen transgenik bitkiler geliştirilerek bu sorun ortadan kaldırılabilir (Dağhan, 2004).

Ađır metallerce kirlenmiř toprakları ıřlah etmek amacı ile farklı kaynaklardan metallothionein (MT) genleri bitkilere aktarılabilmektedir. Metallothionein, metal bađlayan sisteince zengin ve dūřuk molekūl ađırlıklı (6-7 kDa) bir proteindir. Bu protein, hūcreyi ađır metal toksisitesine karřı korumaktadır. Bu çalıřmada amaç; Çin hamsterinden (kobay faresinden) izole edilen MT geni aktarılmıř transgenik tūtūn bitkisi (p-cV-ChMTIIIGFP) ve kontrol tūtūn bitkisinin (SR-1) kurřun (Pb)'a tolerans ve birikim dūzeyleri ve tolerans mekanizmalarına gōre kıyaslanarak gen aktarılmıř bitkilerin ađır metallere kirlenmiř toprakların temizlenmesinde kullanım potansiyellerini arařtırmaktır. Transgenik tūtūn bitkisinin kurřun (Pb) ađır metalinin hangi dūzeyde tolere ettiđi belirlenerek, kirli alanların tekrar tarımsal kullanıma geri kazandırılabilme olanakları arařtırılmıřtır.

Bu alıřma; endūstri, sanayi, madencilik ve gūbreleme gibi yollarla kirlenmiř toprakların en uygun ve en ucuz teknolojiyle ıřlah edilmesi açısından būyūk ōnem tařımaktadır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Günümüzde topraklar; tarımsal (gübreler, pestisitler, herbisitler, bitkisel ve hayvansal atıklar), endüstriyel (fosil yakıtlar, madenler, sıvı ve gaz formundaki atıklar), kentsel (kâğıt, yiyecek atıkları, metaller, cam, seramik, plastik vb.) ve nükleer kökenli atıklarla hızlı bir şekilde kirlenmektedir (Dağhan, 2004).

Özellikle 1900'lü yıllardan sonra gelişen sanayinin kötü bir mirası olarak bu gün sahip olduğumuz kirlenmiş kaynaklar içerisinde en önemlilerinden biri olan ve hayatın devamlılığı için vazgeçilmez unsurlardan birisi olan topraktır. Topraklar fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak kirlenmektedir. Bu kirlenici etmenlerden en tehlikeli olanları biyolojik ve kimyasal kirlenmedir. Bu etmenlerle kirlenmiş alanların geri kazanımı son derece zor ve yüksek maliyet gerektirmektedir. Kimyasal kirlenmelerle ilgili olarak ağır metal kirliliği bu kirlilik etmenlerinden en yaygın olanlardan bir tanesidir.

Dünyada binlerce hektarlık fiziksel, kimyasal veya biyolojik olarak kirlenmiş alan bulunmaktadır. Amerika'da 1000'den fazla farklı noktada bulunan kirlenmiş alanlar gelecekte temizlenmeyi beklemektedir. Son yıllarda endüstrisi hızla gelişen Çin'in bazı bölgelerinde toprak kirliliği ciddi boyutlara ulaşmıştır. Çin'de işlenen 100000 km<sup>2</sup> toprağın 21670 km<sup>2</sup> lik alanı kirlenmiş suların sulama suyu olarak kullanması nedeniyle; 1300 km<sup>2</sup> lik alanı ise katı atıklarla kirlenmiş bulunmaktadır. Batı Avrupa'da yaklaşık olarak 400000 farklı alanın kirlenmiş bulunduğu bildirilmiştir. Yine Orta ve Doğu Avrupa ülkelerinde de birçok kirlenmiş alan bulunmaktadır (Robinson, 1997). Ülkemizde ise, özellikle sanayinin ve tarımın iç içe olduğu bölgelerde tarım toprakları belirgin bir şekilde sanayi atıkları tarafından kirlenmektedir. İstanbul, İzmir, Bursa ve Adana gibi iller bu tür kirlenmeye verebilecek örneklerin başında yer almaktadır. Özellikle Balıkesir, Kepsut, Susurluk, Karacabey Ovaları'nda 81 312 ha arazi bu yolla kirlenmiştir. Yine Afşin-Elbistan, Yatağan ve Kangal termik santralleri ile Aliağa ve Tüpraş rafinerileri gibi kuruluşlar, doğal kaynakların (toprak, su ve hava gibi) kirlenerek bozulmasında veya kullanılamaz hale dönüşmesinde en önemli noktasal kirlilik kaynaklarını oluşturmaktadır (Ceritli, 1997).

Ülkemiz, tarıma açılabilir toprak kaynağı kalmamış 19 ülkeden biridir. Tarımda ürün ve kaliteyi artırmak için kullanılan kimyasallar (gübre, hormon, pestisit, vb.) toprak ve suların kirlenmesine neden olmaktadır. Ülkemizde toprak kirliliğinin önem

ve boyutları ile bunun çevre ve insan sağlığı üzerine etkisi konusunda kapsamlı bir çalışma henüz yapılmamıştır. Toprağa girmiş bulunan ağır metallerin en tehlikeli yanı; bunların bitki yapısına girmeleri, buradan besin zinciriyle diğer canlılara geçmeleridir.

Ayrıca bu ağır metallerin toprak çözeltilisindeki konsantrasyonu arttığında taban suyuna kadar sızarak, buradan elde edilecek kullanma ve içme sularının niteliğini bozmaktadır. Bunun dışında, bu metaller toprak canlılarının aktivitelerini etkileyerek, işlevlerine engel olur, dolayısıyla ekolojik döngüleri olumsuz yönde etkilerler (Çepel, 2003).

Delibacak ve ark. (2002), sanayi ve endüstriyel atıklarla kirlenmiş olan Gediz Irmağı ile sulanan tarım alanlarındaki toprağın kirlilik düzeyini, iz elementler ve ağır metal içerikleri ve toprakların verimlilik durumlarını araştırmışlardır. Bu amaçla Gediz nehrinin kaynağı ile denize döküldüğü bölgeler arasında 12 farklı alandan toprak örnekleri alınmıştır. Toprakların % 33 oranında bor (B) ve kükürt (S) düzeyinin yüksek olduğu, ayrıca total Fe, Zn, Mn, Cd, Ni, B, Cr ve Co konsantrasyonlarının oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Yılmaz ve ark. (2003), İzmit Körfezinde endüstrinin yoğun olduğu bölge, kentsel alanlar ve kırsal alan yüzey topraklarının metal konsantrasyonları ölçülmüştür. Üç farklı bölge topraklarının Cd düzeyleri düşük bulunmuştur. Ancak, Co, Cu, Mn, Pb ve Zn konsantrasyonlarının, endüstriyel ve kentsel alan topraklarında yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Genel olarak, körfez bölgesindeki toprakların metal içeriklerinin kırsal alan topraklarının metal içeriklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. İzmit körfezi yoğun endüstriyel faaliyetlerin ve trafiğin yoğun olduğu bir bölge olması nedeniyle bu bölge topraklarının hızla kirlendiği gözlenmiştir.

Topraklarımızın ağır metallerce kirlenmesine, endüstriyel faaliyetler, metal madenciliğinin yanı sıra fosforlu gübre uygulamaları da neden olmaktadır. Ham kaya fosfatının içindeki Cd, fosforlu gübrelerle toprağa karışmaktadır. Özellikle Orta Anadolu'da dekara 20 ile 50 kg civarında saf fosfor kullanılmaktadır. Bu bölge topraklarının % 60'ında Cd, bazı yerler de Ar, Pb ve Cr kirliliği olduğu bildirilmiştir. Bu topraklarda yetiştirilen patates, buğday ve diğer bitkiler topraktaki ağır metalleri de aldıkları için bu bitkilerle beslenen insanlarda ciddi sağlık problemleri görülebilmektedir (Gezgin, 2005).

## 2.1 Ağır Metaller

Toprak kirliliğine neden olan en önemli kirleticilerden biri ağır metallerdir. Bu metaller, yer kabuğunda doğal olarak bulunan, yoğunluğu  $5.6 \text{ g/cm}^3$ 'den daha fazla olan kurşun (Pb), alüminyum (Al), kadmiyum (Cd), krom (Cr), bakır (Cu), civa (Hg), nikel (Ni), çinko (Zn), mangan (Mn) vb. elementlerdir. Bazı ağır metaller (Zn, Cu, Mn gibi) bitki, hayvan ve insanlar için gerekli veya faydalı besin elementi olmalarına rağmen, yüksek konsantrasyonlarda insan, hayvan ve bitki sağlığı için oldukça tehlikelidirler (Dağhan, 2004).

Topraklardaki ağır metal kirliliği, endüstrinin ve madencilik aktivitelerinin gelişmesiyle ve yaygınlaşmasıyla global bir problem halini almaktadır. Ağır metallerle kirlenmiş toprakları temizleme çalışmaları günümüzün en zor ve en önemli konulardan biridir. Toprakta meydana gelen ağır metal kirliliği sadece verim ve ürün kalitesi üzerinde değil, atmosferik ve sucul (aquatik) çevre kalitesini bozmakta, hatta besin zinciri yoluyla insan sağlığı üzerinde de çok önemli etkiler yaratmaktadır.

Tarımsal ekosistemlere çeşitli kaynaklardan giren ağır metaller ciddi kirlilik sorunlarına neden olurlar. Ağır metaller, su kaynaklarına endüstriyel atıklar veya asit yağmurlarının toprağı ve dolayısı ile bileşimde bulunan ağır metalleri çözmesi ve çözünen ağır metallerin ırmak, göl ve yeraltı sularına ulaşmasıyla geçerler. Ağır metallerin ekolojik sistemde yayınımları dikkate alındığında, doğal çevrimlerden daha çok insanın neden olduğu etkiler nedeniyle çevreye yayınımları söz konusu olduğu görülmektedir (Haktanır ve Arcak, 1998).

## 2.2 Kurşun

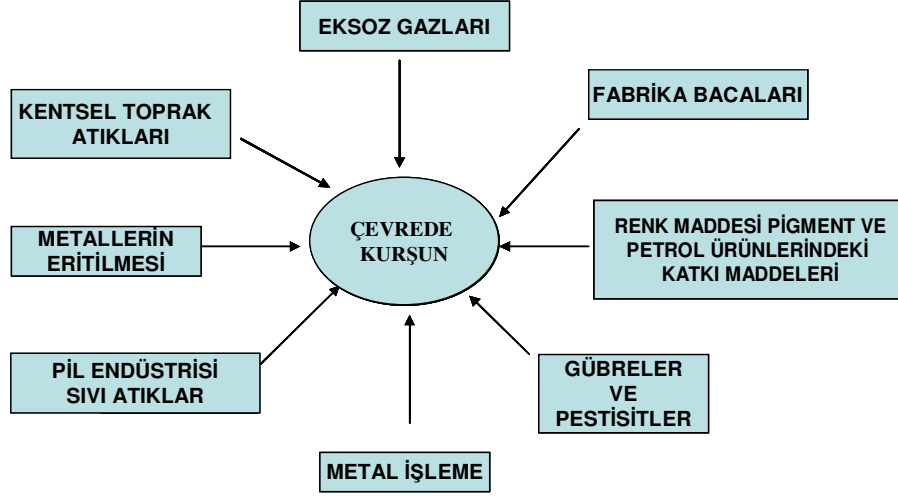
Ağır metaller içinde yer alan Pb kullanılmakta olan en eski metallere aittir. Düşük erime noktasına ( $326^\circ\text{C}$ ) sahip, yumuşak ve işlenebilen bir metaldir. Kolayca çeşitli şekillere dönüştürülebilir ve diğer metallerle alaşım oluşturabilir. Önemli sanayi ürünlerinden borular, boyalar, lehimler, cam, çömlek sırası, plastik ve insektisitler de Pb içerirler (Landis ve Yu, 2004 ; Keser, 2005'den).

Biyosfere insan faaliyetlerine bağlı olarak önemli oranda yayılan kurşun, günümüzden 4000-5000 yıl öncesinde, antik uygarlıklar tarafından gümüş üretimi esnasında yan ürün olarak keşfedilmiş ve tarih boyunca kurşun üretimi ve kullanımı giderek artış göstermiştir. Kurşun, Roma İmparatorluğunda su borularında, su saklama

haznelerinde kullanılmıştır ve günümüz bilim adamları ve tarihçiler bu kullanım şeklinin Roma İmparatorluğunun sonunu hazırladığı görüşünü ortaya atmaktadırlar. Kurşun zehirlenmesi sonucu, yönetici sınıfının düşünme kapasitesinin düşmesi, doğum oranlarındaki azalış ve kısalan yaşam süresinin bu çöküşün temelini oluşturduğu iddia edilmektedir (Anonim, 2009a).

Landis ve Yu, (2004), tarafından bildirildiğine göre, insanlar tarafından binlerce yıldan beri kullanılan kurşun, dünyadaki bütün sanayileşmiş ülkelerin ekonomisinde büyük rol oynamıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde kurşunun endüstriyel tüketimi her yıl için 1.3 milyon ton olduğu tahmin edilmekte ve kirleticiler ile çevreye 600.000 ton Pb yayılımı olmaktadır (Keser, 2005).

Çevre kirliliğine neden olan kurşun kaynakları Şekil 2.1'de gösterilmiştir (Sharma ve Dubey, 2005).



Şekil.2.1. Çevreyi kirleten Pb kaynakları

Kurşun, hava, su ve toprakların taşıyıcı etkisiyle, solunumla ve besinlere karışarak biyolojik sistemlere giren son derece zehirleyici özelliklere sahip bir metaldir. Yüz binlerce ton Pb, kurşunlu petrolden elde edilen ve kurşun tetraetil ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>Pb) eklenerek oktan sayısı artırılan yakıtlarla çalışan içten yanmalı motorlardan çıkan gazlarla dünya atmosferine verilmektedir. Atmosferden kurşun (büyük oranda metal oksitleri ve tuzları şeklinde) yağmurla tekrar yeryüzüne inerek çevremize her geçen gün daha fazla yayılmaktadır. Kurşun madenleri ve metal endüstrileri, akü ve pil fabrikaları,



petrol rafinerileri, boya endüstrisi ve patlayıcı sanayi atık sularında da istenmeyen konsantrasyonlarda kurşun kirliliğine rastlanır. Pil fabrikası atık sularında 5,66 mg/L, asidik maden drenajlarında 0,02–2,5 mg/L, tetraetil kurşun üreten fabrika atık sularında 125-150 mg/L organik, 66-85 mg/L inorganik kurşun kirliliğine rastlanmıştır (Anonim, 2009b).

### 2.3 Topraktaki Pb Kaynakları

Kurşun doğal olarak tüm topraklarda bulunur. Topraklarda Pb, 1-200 µg/g arasında değişir ve ortalama miktar 15 µg/g'dır (Swaine, 1955 ). Aubert ve Pinte (1977) Pb miktarının yer kabuğunda 16 µg/g olduğunu tarım topraklarında da genelde 15-25 µg/g arasında değiştiğini bildirmiştir (Kacar, 1995).

Yüksek Pb içeriği, özellikle insanların kirlettiği topraklarda görülür. Kurşun işletilen endüstriyel kuruluşların yakınlarında yer alan topraklarda 3000 mg/kg dolayında Pb saptanmıştır. Trafiğin yoğun olduğu yollara yakın yörelerde ise 700 mg/kg Pb saptanmıştır. Kontamine olmuş akarsu sedimentlerinde de önemli miktarda Pb birikimi olduğu bildirilmiştir. Kurşun özellikle hava hareketi ile toprağa ulaşmaktadır. Toz hareketi ve volkanik aktivite ile meydana gelen doğal emisyonun yıllık miktarının yaklaşık 19000 t olduğu tahmin edilmektedir. Kurşun içeren toz partikülleri ve aerosoller rüzgarla oldukça uzak mesafelere taşınırlar ve böylece endüstriden uzak bölgelerde yüksek Pb birikimi meydana gelebilir (Özbek ve ark, 1993).

Kurşun içeriği fazla olan yerler, Almanya'nın Kuzey Harz bölgesinin nehir vadileri gibi ender bölgelerdir. Bu bölgede toprağın üst katmanında Pb değeri 3000 mg/kg ve bu değer üzerinde bir değere ulaşabilmektedir. Aşırı derecede kurşun içeren topraklar üzerinde yetişen bitkilerde bitki büyümesi bozulmaktadır (Özbek ve ark, 1993).

Sönmez ve ark.(2007)'nin bildirdiğine göre Üre ve Berrow (1982) yaptıkları bir çalışmada, topraklarda toplam Pb konsantrasyonu 1-888 mg kg<sup>-1</sup> arasında değişmesine rağmen, ortalama olarak 29,2 mg kg<sup>-1</sup> olduğunu tespit etmişlerdir.

Genel olarak Pb konsantrasyonları bazik kayalardan asit püskürük kayalara doğru bir artış eğilimi göstermektedir. Kurşunun sülfid ile çok güçlü bir ilişkisi vardır ve böylece Pb sülfidin fazları içerisinde konsantre olmaktadır. Başlıca Pb içeren minerallerden galena ağırlıkça %87'ye kadar Pb içerebilmektedir. Galena indirgenen ve

oksijensiz sistemlerde en stabil kurşun formu iken, oksitlenmiş (yükseltgenmiş) sistemlerde anglesit ( $PbSO_4$ ), serusite ( $PbCO_3$ ) ve piromorfiter ( $Pb_5(PO_4)_3 X; X=Cl, F, OH$ ) kurşunun en yaygın genel formlarıdır (Alloway, 1990).

Kurşun etkili bir ağır metal kirleticisi olarak çevre üzerine büyüyen antropojenik baskıdan dolayı dikkat çekici bir önem kazanmıştır. Kurşunla kirlenmiş topraklarda ürün veriminde keskin bir azalma görülmektedir. Kurşun çoğunlukla kök sistemi yoluyla, az miktarda da yapraklar yoluyla bitki tarafından alınmaktadır. Bitki içinde ise Pb köklerde birikme eğilimi göstermektedir, ancak köklere giren Pb'nin çok az bir kısmı yeşil aksama taşınmaktadır (Sharma ve Dubey, 2005). Bu durum kök endodermisinin engelleme fonksiyonundan dolayı kurşunun, kökten bitkinin diğer organlarına taşınmasından ortaya çıkmaktadır.

#### **2.4 Kurşun Alımına Toprak Özelliklerinin Etkisi**

Aşırı miktardaki Pb, gerek bitki ve hayvanlar gerekse de toprak için toksik etki yapmaktadır. Çevreyi kirleten en önemli Pb kaynağı ise hava ile taşınan kurşundur. Bitki kökleri ve stomalar aracılığıyla alınan Pb, bitkinin değişik kısımlarında birikir ve besin zincirine girerek dolaylı olarak ya da solunum yoluyla doğrudan insan sağlığını etkileyebilir.

Kurşunun topraktaki yayılmasını etkileyen etmenler ile ilgili bilinenler sınırlı olmakla beraber, toprak pH'sı, toprak tekstürü, kil minerallerinin cins ve miktarları, organik madde miktarı, katyon ve anyonların cins ve miktarları ile toprak drenajı gibi faktörlerin kurşunun yayılmasını üzerine etkili olduğu bildirilmektedir (Özbek ve ark, 1993).

Toprak pH'sı, toprak parçacıkların büyüklüğü, katyon değişim kapasitesi ve bunların yanı sıra kök yüzey alanı, kök salgıları ve mikorizal taşınma oranı gibi bitki faktörleri Pb'un yararlanılabilirliği ve alımını etkilemektedir (Sharma ve Dubey, 2005).

Farklı toprak bileşenlerince bağlanır ve/veya farklı katı fazlarda çökelir. Bu arada kurşunun çözünürlüğü ortamın pH'sı, toplam kurşun içeriği, topraktaki diğer kirleticilerin durumu ve redoks koşulları tarafından etkilenmektedir.

Kadmiyum, çinko ve nikelin aksine kurşun topraklarda son derece hareketsiz bir elementtir ve  $pH > 5$ 'te çözünürlüğü çok düşüktür. Ancak  $pH 4-4,5$ 'ta kurşunun çözünürlüğü ve buna bağlı olarak da bitki tarafından alınabilirliği artmaktadır.

Ayrıca organik madde içeriği yüksek topraklarda, organik madde içeriği düşük olan topraklara oranla daha düşük Pb çözünürlüğü ölçülmektedir. Topraklardaki organik madde, mineral komponentlere oranla asidik ortamda Pb çözünürlüğünü önemli ölçüde azaltmaktadır (Özbek ve ark, 1993).

Kurşun, Fe, Al ve Mn oksitlerce spesifik olarak adsorbe edilir ve diğer metallere oranla daha güçlü tutulurlar. Özellikle yüksek pH'larda ( $Pb > 4,5-5$ ) Pb'nin yüzeylere bağlanma enerjisinde büyük bir artış olduğundan alkali ve toprak alkali elementlerle iyon değişimi reaksiyonlarına girmektedir. Ayrıca, kurşun ve fosfor içeriği yüksek topraklarda Pb bileşikleri çözünürlüğü çok düşük kurşun fosfatlar  $[Pb_3(PO_4)_2; Pb_4O(PO_4)_2; Pb_5(PO_4)_3OH]$  şeklinde çökelirler (Özbek ve ark, 1993).

Topraklarda P içeriği gerek gübreleme gerekse diğer tarımsal işlemlerle gereğinden fazla yükseltildiğinde Pb ile oluşturduğu çözünmeyen Pb fosfatlar hem kurşunun bitkilere alınabilirliğini azaltmakta hem de Pb nedeniyle oluşabilecek P noksanlığı giderilebilir.

## 2.5 Bitkilerde Kurşun

Bitkiler büyüme ve gelişmeleri için gerekli olan ağır metalleri topraktan ve sudan alıp biriktirebilme yeteneğine sahiptirler. Bu metaller Fe, Mn, Zn, Cu, Mg, Mo ve Ni'dir. Bazı bitkilerin de biyolojik fonksiyonları bilinmeyen Cd, Cr, Pb, Cu, As, Se ve Hg gibi elementleri biriktirdikleri yapılan araştırmalarda gösterilmiştir (Baker ve Brooks, 1989; Raskin ve ark., 1994; Keser, 2005' den).

Metal akümüasyonu bitki türüne, organlarına, toprak çözeltisindeki metal iyonlarına, metal kontamine partiküllerin geçişine, pH ve sıcaklık gibi abiyotik faktörlere bağlıdır (Lewis, 1995; Lewander ve ark., 1996).

Kurşun toksisitesinin enzim aktivitelerini engeller, mineral beslenmeyi ve su dengesini bozar, hormonal durumu değiştirir ve membran geçirgenliğini azaltır (Sharma ve Dubey, 2005). Mısır fidelerinde Pb toksisitesi K iyonlarının kök hücresinden sızmasına neden olduğu bildirilmiştir (Malkowski ve ark., 2002).

Pb toksisitesi makro ve mikro elementlerin alımını 2 farklı mekanizma ile azalttığı öne sürülmüştür: i) fiziki olarak adlandırılan ve metal iyonlarının yarıçaplarının etkisi ii) kimyasal mekanizma olarak tanımlanan ve Pb metalinin membran strüktürüne ve enzim aktivitelerinin değişmesine yol açarak hücre metabolizmasının bozulmasıdır.

Kurşun birçok iyonun kökler tarafından absorbe edilmesini bloke etmektedir. Kurşuna maruz kalmış köklerin ucunda Ca, Fe, Zn düzeyleri azalmaktadır. Örneğin iğne yapraklı Norveç ladinin Ca ve Mn düzeyleri Pb uygulaması ile azalmıştır. Bu durum, kök ve kök uçlarının zarar görmesi ve buna bağlı olarak besin elementlerinin alımının azalmasından kaynaklanabilir (Sharma ve Dubey, 2005). Benzer şekilde Sieghardt, (1988) *Picea abies* bitkisinin iğne yapraklarının Mn düzeyi Pb uygulaması ile azalmıştır (Sieghardt, (1988); Sharma ve Dubey, 2005'den).

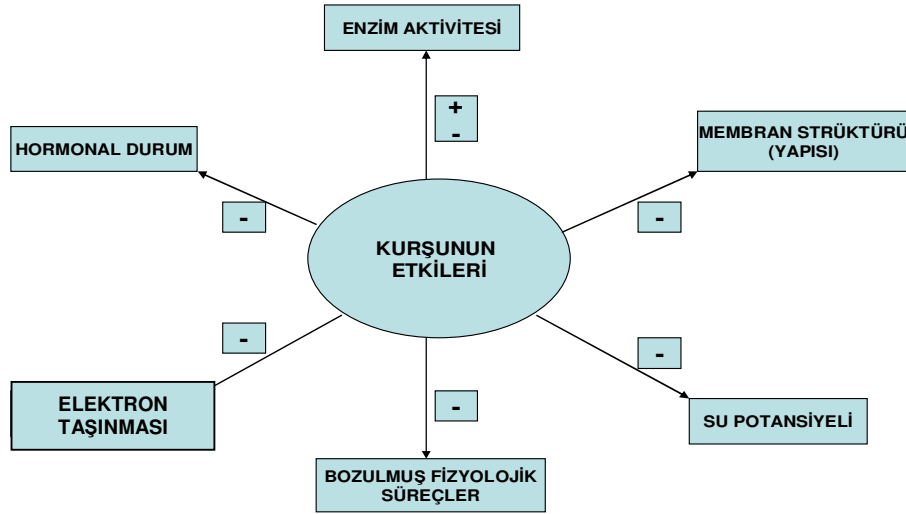
*Cucumis sativus* fidelerinde Pb uygulaması, K, Ca, Mg, Fe ve NO<sub>3</sub> alımını; Mısır bitkisinde ise Ca, Mg, K, P alımını azaltmıştır (Walker ve ark., 1997).

Kurşun besin elementlerin farklı bitki organlarındaki genel dağılımını da etkilemektedir. Kurşun toksisitesi altında Mn ve S'ün genel dağılım oranı kök ve yeşil aksamda değişmektedir.

Kök N içeriği, Pb toksisitesi altında önemli bir oranda daha azdır. Kurşundan dolayı nitrat alımının azalması, Pb'nin tetiklediği nem stresinin sonucu olabileceği bildirilmektedir.

Toprakta yüksek konsantrasyonlarda Pb bulunması bitkilerin mineral beslenmesinde dengesizliğe neden olmaktadır. Birçok araştırmada yüksek Pb'un dolaylı olarak hücre içindeki mineral dengesizliğe neden olduğu görülmüştür (Sharma ve Dubey, 2005). Şekil 2.2'de de görüldüğü gibi, Pb'nin bitki ve toprakta neden olduğu etkileri görülmektedir.

Kabata-Pendias (1992), Pb toksisitesi altında bitkilerin mineral besin içeriklerinde ve besin elementlerinin oranlarında önemli değişiklikler meydana geldiğini bildirmiştir. Birçok durumda Pb bazı katyonların (K, Ca, Mg, Mn, Zn, Cu, Fe) ve anyonların (NO<sub>3</sub>) kök sistemine girişini engeller (Sharma ve Dubey, 2005).



Şekil.2.2. Kurşun toksisitesinin bitki metabolizması üzerine etkisi

Kontamine olmamış topraklarda bitkilerin Pb içeriği genellikle <10 mg/kg kuru maddedir. Besin çözültisi ve toprak ile yapılan saksı denemelerinde, ortamdaki kurşun artışına bağlı olarak bitkinin kurşun içeriğinin de arttığı bulunmuştur (kg kuru maddede birkaç yüz mg'a kadar). Kurşun önce bitkinin kök yüzeyinde ya da içinde birikmekte ve daha yüksek Pb uygulamalarında üst organlara doğru taşınmaktadır. Genel bir kural olarak çeşitli bitki dokularının (aksamlarının) Pb içeriği şu sıraya göre artış göstermektedir: Dane < meyve < yumru < gövde < yapraklar < kök. Yüksek Pb içeriğine sahip topraklarda yetişen bitkilerde de ekstrem derecede yüksek kurşun değerlerine rastlanılmıştır. Örneğin pancar yaprağında 100 mg/kg kuru maddenin üzerinde, Pb içeriği yüksek topraklarda yetişen bitkilerin gövdelerinde (saplarında) 480 mg/kg kuru madde ve köklerinde 720 mg/kg kuru madde Pb ölçülmüştür (Özbek ve ark., 1993).

Kurşunun farklı bitkilerde gelişmeye, biyokimyasal olaylara ve fotosenteze etkileri konusunda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bir çalışmada *Azadiracha indica*, *Guaiaacum officinale* ve *Eucalyptus sp.* de motorlu araç kirliliğinin tohum ağırlığı ve dal uzunluğu üzerine olumsuz etki yaptığı belirlenmiştir. Bir başka çalışmada ise yüksek konsantrasyonda kurşun ile muamele edilen tahıllarda kök gelişimlerinin olumsuz etkilendiği gösterilmiştir. Kurşunun ayrıca bitkilerde pek çok yapısal hasara yol açtığı da belirlenmiştir. Bu hasarlara yapraktaki epidermis, epistomal odalar ve kutikula

tabakasının bozulması, stoma sayısının artması ve stomaların yaprağın daha derinlerine yerleşmesi örnek olarak verilebilir (Çavuşoğlu ve Çavuşoğlu, 2005).

Bitki büyümesi üzerine Pb'nun etkisi konusunda yapılmış bir çalışmada, besin içeriğinde 104 µg Pb bulunan ortamda bırakılan *Picea abies* fidelerinin kök uzunluğunun kontrol grubuna göre %30 azaldığı tespit edilmiştir. Kurşun konsantrasyonunun 4 kat artırılması durumunda kök uzunluğu kontrol bitkilerinin yarısı kadar olmuştur. Çeşitli ağır metallere (Se, Cd, Pb, Cu ve Zn) maruz bırakılan *Sorghum bicolor* L. bitkilerinde çimlenmenin azaldığı, kök ve gövde gelişiminin engellendiği tespit edilmiştir (Zengin ve Munzuroğlu, 2004).

Keser (2005) tarafından bildirildiğine göre, havada ve topraklarda bulunan kurşunun yüksek düzeylerinin etkisi altında kalan bitkiler metali biriktirebilirler ve sonuç olarak toksisite gösterebilirler. Kurşun toksisitesinin büyüklüğü; metalin absorpsiyonuna, hareketliliğine ve hücredeki bölgesel birikime bağlıdır. Kurşun yönünden zengin ortamlarda büyüyen dayanıklı bitki türleri, organlarında çok fazla kurşun biriktirebilirler (Singh ve ark., 1997).

Bitkinin içerdiği kurşun bakımından, bitki düzeyi ya da bitki içinde havadan alınan kurşun yoluyla meydana gelen birikim topraktan alınana oranla çok daha önemlidir. Kurşun işleyen kuruluşların yakınlarında, karayolları yakınlarında ve yoğun yerleşim yerlerine yakın bölgelerde bitkilerin kurşun içeriği, normal değerlerden birkaç kez fazladır. Bitkilerin üst organlarında birikim gösteren kurşun bileşikleri, daha çok dış yüzeye adsorbe olmaktadır ve büyük olasılıkla çok az bir kısmı bitki içerisine nüfuz etmektedir. Bu nedenle bitki türüne bağlı olarak bitkilerdeki toplam Pb'nin %30-70'i yıkanma ile veya endüstriyel gıda maddesi üretimi sırasında çeşitli tekniklerle uzaklaştırılabilirler (Özbek ve ark, 1993).

Kurşun toksisitesi diğer metallerde olduğu gibi bitki türlerine göre değişir. *In vitro* çalışmalarına dayanan toksisite sonuçları birkaç tür için belirlenmiştir. Arpa bitkisinin Pb'ye Cr, Cd, Ni veya Zn'den daha fazla hassas olduğu gösterilmiştir (Oberlander ve Roth, 1978). Yu, 1991 yaptığı çalışmada yüksek düzeyde Pb'nun etkisinde kalan fasulye tohumlarının çimlenmesinin engellendiği tespit etmiştir. (Yu, 1991). Bununla beraber kurşunun çimlenmeye etkisi Cd, As ve Hg gibi birkaç metale göre daha az olduğu bulunmuştur (Koepe, 1977).

Ağır metaller üzerine yapılan bir çalışmada, Pb'nun ve Cd'un domates ve patates bitkilerinde kuru madde ve besin derişimlerine etkisine bakılmış, düşük dozlarda, Pb ve Cd'un olumlu etkisi, yüksek dozlarda toksik etkisi olduğu ayrıca domatesin patatesten ağır metallere karşı daha toleranslı olduğu görülmüştür. Her iki bitki için toksisite sıralaması Cd>Pb şeklinde olmuştur (Khan ve Khan, 1983).

Besin çözeltisi ile çeşitli bitkilerde yapılan deneyler, toksisite başlangıcı için bitkideki 20-35 mg/kg kuru madde kurşun miktarının kritik değer olduğunu ortaya çıkarmıştır (Sauerbeck, 1983).

Toprağın kurşun içeriğinin yüksek olması durumunda bitkide çeşitli klorozlar ve kök ve toprak üstü organlarda büyüme arazları ortaya çıkar. Ayrıca mikrobiyel aktivite olumsuz olarak etkilenir. Ancak diğer ağır metallere oranla kurşun daha az toksisite göstermektedir (Özbek ve ark., 1993).

Bitkilerde Pb konsantrasyonu, yüksek dozda Pb'ye maruz kalmış bitkilerde fizyolojik ve morfolojik değişimler olmaktadır. Kurşun toksisitesinin spesifik olmayan belirtileri; kök büyüme ve gelişmesinin kısıtlanması, cüceleşme ve klorozdur (Burton et al., 1984; Doğan ve Çolak, 2009'dan)'da, araştırma boyunca yapılan gözlemlere göre, özellikle 100 mg/L'lik Pb etkisindeki bitkilerin yapraklarında lokal kahverengileşmeler ve kloroz oluştuğu görülmüştür (Doğan ve Çolak, 2009).

Besin çözeltisi ile çeşitli bitkilerde yapılan denemeler toksisite başlangıç eşik değerini bitkideki 20–35 mgPb/kg kuru madde olduğunu ortaya koymuştur. Bazı denemelerde ise oldukça yüksek konsantrasyondaki Pb alımının fitotoksik bir etkiye yol açmadığı görülmüştür. Çeşitli bitkilerde toksisite başlangıcı için besin çözeltisindeki 5->10 mgPb/L değerinin sınır değer olduğu ortaya konmuştur (Özbek ve ark., 1993).

## **2.6 Kurşunun İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri**

İnsanlar tarafından Pb'nun alınımı ise büyük ölçüde solunum ve beslenme yoluyla olmaktadır. Bu da kan, kemik ve doku örnekleri içinde metal konsantrasyonlarının artmasına yol açmaktadır. Bu metale maruz kalma kan basıncında artışa, çocuklarda zihinsel gelişim bozukluklarına, kalp-damar, böbrek, kemik ve sinir hastalıklarına, insan gelişiminde gerilemeye, böbrek hasarına ve çeşitli kanserlere sebep olmaktadır. Yüksek Pb dozlarına maruziyet ölümlerle bile sonuçlanabilmektedir (Çavuşoğlu ve Çavuşoğlu, 2005).

İnsanlarda kişi başına kurşunun günlük alınımı 20–400 mg kadar olduğu hesaplanmıştır. FAO/WHO uzmanları haftalık tolere edilebilir miktarın 3000 mg olduğunu saptamışlardır. Yalnızca bu miktarın yarısının çocuklar için güvenli olduğu açıklanmıştır. Mideye giren kurşunun % 5-15 kadarı absorblanmaktadır. Bu miktar günlük olarak 15-25 mg/gün'dür ve toplam absorblanan kurşunun üçte ikisi kadardır. Solunum yoluyla alınan kurşunun %20-40 kadarı absorblanır ve bu kurşunun miktarı ise yaklaşık olarak 8 mg/gün'dür veya toplam absorbe edilen kurşunun üçte biri kadardır (Keser, 2005)

Kurşun kirliliği çevreyi ve besin zincirinde birikim yoluyla da insan sağlığını tehdit eden en önemli sorunlardan biridir. Alınacak önlemlerle bu sorunun giderilmesi ya da kontrol altına alınması gelecek nesillerin sağlığı için zorunlu hale gelmiştir.

Bu nedenle, insan sağlığı için ciddi tehditler oluşturan ağır metallerce kirlenmiş alanların temizlenmesi için, etkin ve uygulanabilir bir teknolojik çözüme ihtiyaç duyulmaktadır.

## **2.7 Metallerle Kirlenmiş Toprakların Temizlenmesi**

İnsan sağlığı için ciddi tehditler oluşturan ağır metallerce kirlenmiş alanların temizlenmesi için, etkin ve uygulanabilir bir teknolojik çözümü gerekli kılmaktadır. Kirlenmiş toprakların ıslahı çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler ile mümkün olabilmektedir. Biyolojik temizleme yöntemleri içinde yer alan fitoremediasyon, diğer yöntemlere göre en ucuz, çevre dostu ve yan etkisi çok düşük olan ekolojik yaklaşımdır. Bitkileri kullanılarak toprağın kirlenici etmenlerden temizlenmesi fitoremediasyon olarak tanımlanmaktadır. Fitoremediasyon teknolojilerini bitkilerin kirleniciyi zararsız kılma şekline göre i) fitostabilizasyon (bitki kullanılarak topraktaki metallerin mobiliteilerinin ve yarıyışlılıklarının sınırlandırılması) ii) rizofiltrasyon (kirlenmiş suyun bitki kullanılarak temizlenmesi) ve iii) fitoekstraksiyon (toprakta kirliliğe neden olan metalin, bitki kökleri yolu ile alınarak bitkinin yeşil aksamına taşınması ve biriktirilmesi) olmak üzere üç sınıfta incelemek mümkündür. Bu uygulamalardan ağır metallerin temizlenmesinde en yaygın olarak kullanılanı fitoekstraksiyon yöntemidir.

Bugün dünyada kirli toprak ve suyun temizlenmesi için fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler geliştirilmiştir. Ancak, bu yöntemler oldukça pahalı ve uygulama alanları oldukça sınırlıdır. Glass (1999)'un yaptığı bir ekonomik analizde; kirli bir



alanın toprakla doldurulması için 100-500 \$/ton, kimyasal kullanılarak temizlemesi için 100-500 \$/ton, elektro kinetik yöntemle temizlenmesi için 20-200 \$/ton ve fitoekstraksiyonla (bitki ekstraksiyonu) temizlemek içinse 5-40 \$/ton harcadığını tespit etmiştir. Kidney (1997)'in yaptığı araştırmada; yeraltı suyundan organik atıkların taşınması için yalnızca 2-3 milyon \$, ağır metallerin topraktan temizlenmesi içinse 1-2 milyon \$ harcadığı tespit edilmiştir (EPA, 2000). Aynı çalışmada; 2005 yılı için fitoremediasyon pazarında, yeraltı suyunun organik kirleticilerden arındırılması için 20-45 milyon \$, metallerin topraktan arındırılması için 40-80 milyon \$ ve radionukleidlerin temizlenmesi içinse 25-50 milyon \$ harcanacağı tahmin edilmiştir. Tüm bu sonuçlardan da görüldüğü gibi, bu yöntemlerin içinde en ucuzu bitkilerin kullanıldığı fitoremediasyon yöntemidir.

Bitki kullanılarak toprak ve sudaki kirleticilerin taşınması veya inaktif hale getirilmesi fikrini ilk olarak Utsunomyia (1980) ve Chaney (1983) tarafından ortaya atılmış ve geliştirilmiştir. Son yıllarda fitoremediasyon tekniği büyük bir önem kazanmış ve bu konudaki çalışmalar özellikle ağır metallerin bitki kullanılarak ekstraksiyonu metodu yaygın bir şekilde kullanmaya başlamışlar (Cunningham ve ark., 1995; Salt ve ark., 1995; Raskin 1996; Chaney ve ark., 1997; Raskin ve ark., 1997; Blayblock, 2000; Pilon-Simits ve Pilon, 2000; Kayser, 2000; Kraemer ve Chardonnens, 2001; Dağhan, 2004).

Fitoekstraksiyonda kullanılacak bitkinin; hasat edilebilir aksamında yüksek oranda metal biriktirebilmesi, biriken ağır metale toleranslı, hızlı büyüeyebilen, derin köklü, kolayca hasat edilebilir ve yüksek biyomas ürettiyor olması gerekmektedir. Yüksek miktarda ağır metal biriktirme özelliğine sahip olan hiperakümülatör bitkiler, kuru ağırlık esasına göre % 0,1'den fazla Cr, Co, ve Ni, % 1 Zn, ve Mn içerebilmektedir. Ancak, bu bitkilerin fitoekstraksiyon amacıyla kullanılmasını sınırlayan yavaş büyüme ve az yeşil aksam üretme gibi bazı durumlar söz konusudur. Ayrıca, bu tip bitkiler bir kaç elementi değil, yalnızca özel bir elementi bünyelerine alarak biriktirebilmektedirler. Fakat gen mühendisliğindeki gelişmelerle; fazla yeşil aksam üretebilen, çok sayıda ağır metali aynı anda absorbe edebilen, absorbe ettikleri ağır metalleri biriktirebilen ve biriken ağır metali tolere edebilen transgenik bitkiler geliştirilerek bu sorun ortadan kaldırılabilir (Dağhan, 2007).

Kirli toprakları ıslah etmek amacı ile farklı kaynaklardan metallothiyonin (MT) genleri bitkilere aktarılabilmektedir. MT, metal bağlayan sistince zengin ve düşük molekül ağırlıklı (6-7 kDa) bir proteindir. Bu protein, hücreyi ağır metal toksisitesine karşı korumaktadır.

Çeşitli MT genleri (fare MTI, insan MTIA, insan MTII, maya CUPI, bezelye PSMTA) tütüne (*Nicotiana sp.*), kolzaya (*Brassica sp.*) ve *Arabidopsis thaliana*'ya aktarılmıştır. Ancak, bitkilerin ağır metal alımları belirgin olarak artmamıştır: bazen hiçbir değişim olmazken, bazı çalışmalarda normale göre % 60-70'den fazla Cd biriktirdiği tespit edilmiştir (Kraemer ve Chardonens, 2001).

İlk olarak Lefebvre ve ark. (1987), çin faresinden izole ettiği MT-II (ChMTII) genini bitkiye aktararak bitkinin Cd toksitesini önleme çalışmasını yapmıştır. Suh ve ark., (1998), ilk olarak ağır metallerin biyoremediasyonu için bitki orijinli MT genlerinin kullanılabilineceğini bildirmiştir.

Liu ve ark (2000) ve Suh ve ark (1998), *Nicotiana glutinosa* MT cDNA'yı agrobakteri yoluyla tütün bitkisine aktarmışlardır. MT geni aktarılan tütün bitkisinin 200  $\mu\text{M}$  Cd'a tolerans gösterdiği; transgenik olmayan kontrol bitkisinin ise 50  $\mu\text{M}$  CdSO<sub>4</sub> koşullarında yapraklarında sararmalar görüldüğü ve gelişemediği tespit edilmiştir.

Song ve ark. (2003), maya proteini (YCF1) aktardıkları transgenik *Arabidopsis thaliana* bitkilerinde bu genin oldukça aktif olduğunu ve bitkinin önemli miktarlarda Pb ve Cd biriktirerek tolerans gösterdiğini saptamışlardır.

Dağhan (2004), Çin kobayından izole edilen MT-II (MTII) genini tütün bitkisine (SR-1 Petit Havana) agrobakteri yoluyla aktararak su kültürü denemeleri ile test etmiştir. Transgenik tütün bitkisinin kontrol bitkisine göre % 50 daha fazla yeşil aksam ve % 70 daha fazla kök ürettiği saptamıştır. Ayrıca, yeşil aksamın Cd konsantrasyonunun, kontrol bitkisine kıyasla % 70-90 oranında daha fazla olduğunu tespit etmiştir.

Bu amaçla bu çalışmada; Çin kobay faresinden izole edilen MT-II geni aktarılmış transgenik tütün (p-cV-ChMTIIGFP) ve kontrol tütün (SR-1) bitkileri, Pb metalini alma, biriktirme ve tolerans düzeyleri ile mekanizmalarına göre kıyaslanacaktır. Gen aktarılmış bitkilerin ağır metallerle kirlenmiş toprakların temizlenmesinde kullanım potansiyelleri araştırılmıştır.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

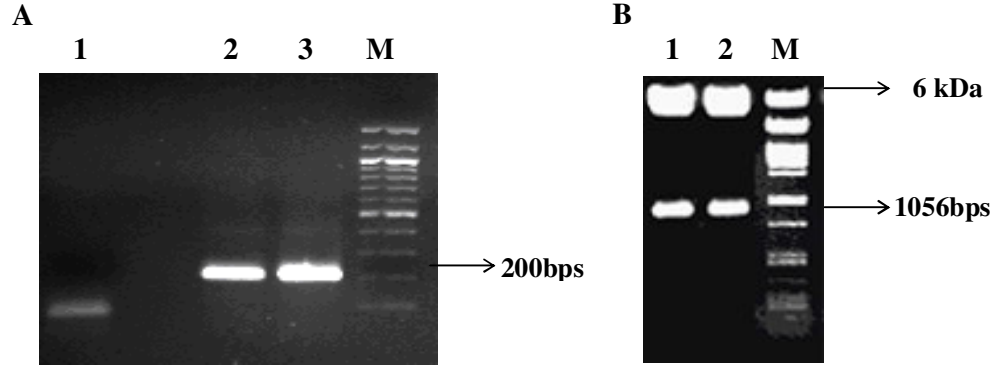
#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Bitki Materyali

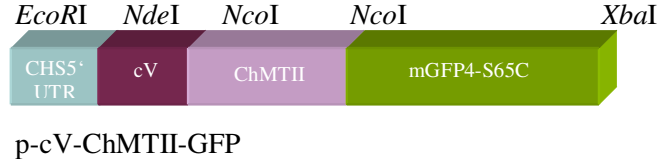
Araştırmada materyal olarak transgenik olmayan SR-1 (*Nicotiana tabaccum* var. Pelit Havana) ve transgenik p-cV-ChMTIIGFP tütün genotipleri kullanılmıştır. p-cV-ChMTIIGFP tütün genotipi bünyesine daha fazla ağır metal absorbe edebilmesi için genetik yapısı değiştirilmiş bir tütündür. Her iki tütün genotipi RWTH-Aachen Üniversitesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Almanya'dan temin edilmiştir.

##### 3.1.1.1 Genetik Yapısı Değiştirilmiş p-cV-ChMTIIGFP Tütün Bitkisinin Özellikleri

Bir tür Çin Hamster'ından izole edilmiş olan Metallothionein II (MTII) geni (Şekil 3.1A) agrobakterium yolu ile SR-1 genotipine aktarılmıştır (Şekil 3.1-3.2). Ayrıca SR-1 tütün genotipine ağır metalin bitki bünyesine bağlandıktan sonra hücre vakuolünde depolanmasını sağlayan vakuol hedef sinyal geni ve ChMTII geninin bitki yaprak hücrelerindeki yerini tespit etmek amacı ile Green Florecent Protein (mGFP4-S65C) geni eklenerek transgenik p-cV-ChMTIIGFP tütün genotipi elde edilmiştir (Şekil 3.1-3.2). Bitki önce geçici transforman olarak test edilmiş (F<sub>0</sub>), sonra yapılan analiz ve testler sonucu kalıcı transgenik tütün bitkisi olarak F<sub>3</sub> jenerasyonuna kadar çoğaltılmıştır. Ayrıca p-cV-ChMTIIGFP bitkisinin su kültürü denemeleri ile Cd toksisitesine dayanıklılığı denenmiş ve sonuçlar normal tütün bitkisiyle kıyaslanmıştır (Dağhan, 2004).



Şekil.3.1. ChMTII geninin PCR'la çoğaltılması ve klonlanması. PCR'la çoğaltılan ChMTII geni %1.2 (w/v) agaros jelde moleküler ağırlığına göre ayrılmıştır. A: (1)DNA'sız negatif kontrol; (2-3) 5 µl PCR'la çoğaltılmış ChMTII geni, M: 100 bp markır. B: *EcoRI/XbaI* enzimleri ile kesilmiş p-cV-ChMTII-GFP plasmidi (1 ve 2); M:  $\lambda$  *PstI* markır (Dağhan, 2004).



Şekil.3.2. *Chinese hamster* Metalloiyonin II geninin pTRA-kc bitki ekspresyon vektöründeki aktarılmış durumu. CHS 5: *chalcone synthase 5'* 'in translate edilmeyen bölge; cV: *C. roseus* strictosidine synthase'den izole edilen Vacuolar targeting signal; ChMTII: Chinese Hamster Metalloiyonin II; GFP: green florescent protein (mGFP4-S65C) (Dağhan, 2004).

### 3.1.2 Deneme Toprağı

Toprak denemesi için 0-30 cm derinlikten Jackson (1962) tarafından bildirildiği şekilde alınan Mahmutlu toprak serisi kullanılmıştır. Amik Ovası'nın en yaygın serisi olan Mahmutlu serisi, mollisol toprak ordosunda yer almaktadır (Yalçın, 2004).

Saksı denemesinde kullanılan Mahmutlu serisi toprağının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelgeden de görüleceği gibi araştırmada kullanılan toprak killi tın (CL) bir bünyeye sahiptir. Deneme toprağının kireç içeriği yaklaşık % 11.4 değerle orta kireçli, satürasyon çamurundaki pH 7.60 yani hafif alkalidir. Yüzde doyumluk değerleri ortalama %53.3 olarak belirlenmiştir. Tuzluluk yönünden herhangi bir sorun bulunmamaktadır.

Kontamine olmamış topraklarda DTPA yöntemine göre ekstrakte edilmiş metallerin sınır değerleri; Cd < 0.5 ppm, Cu <0.2 ppm, Zn 0.7-2.4, Mn 14-50 ppm ve Fe 0.2-4.5 ppm olarak belirlenmiştir (Alparlan ve ark., 1998). Bu sınır değerlerine göre deneme toprağında ağır metal toksisitesi bulunmamaktadır. Ancak, Cu ( $0.61 \pm 0.02$  ppm) ve Zn konsantrasyonları ( $0.40 \pm 0.01$  ppm) düşük ve Fe konsantrasyonu ( $0.19 \pm 0.01$  ppm) ise sınırdan yüksek olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan Mahmutlu serisi toprağının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Özellik	Mahmutlu Serisi	Kaynaklar
Tarla Kapasitesi (%)	32.9	Alparlan ve ark.,1998
Nem (%)	5.27	Kacar, 1995
Suya doygunluk (%)	53.3	Richards, 1954;
Tuz (%)	0.026	Soil Survey Staff, 1951
Saturasyon ekstraktında pH	7.60	Richards, 1954
Kum (0.06-2 mm) (%)	43.3	Bouyoucus, 1952
Silt (0.002-0.06 mm) (%)	22.4	Bouyoucus, 1952
Kil (<0.002 mm) (%)	34.3	Bouyoucus, 1952
Tekstür Sınıfı	CL (killi tın)	Bouyoucus, 1952
Kireç (CaCO <sub>3</sub> ) (%)	11.4	Loeppert ve ark., 1996
Organik madde (%)	2.16	Kacar, 1995
Organik C (%)	1.25	Kacar, 1995
Toplam N (%)	0.09	Bremner, 1965
Alınabilir P (mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /kg)	17.63	Olsen ve ark., 1954
Alınabilir K (mg K <sub>2</sub> O/kg)	93.50	Richards, 1954
EPA 3051-Toplam Pb (mg/kg)	3.92	EPA, 1995
EPA 3051-Toplam Cu (mg/kg)	23.86	EPA, 1995
EPA 3051-Toplam Fe (mg/kg)	473	EPA, 1995
EPA 3051-Toplam Mn (mg/kg)	524	EPA, 1995
EPA 3051-Toplam Zn (mg/kg)	59.32	EPA, 1995
DTPA ile ekstrakte edilebilir Pb (mg/kg)	0.29	Lindsay ve Norvell, 1978
DTPA ile ekstrakte edilebilir Cu (mg/kg)	0.61	Lindsay ve Norvell, 1978
DTPA ile ekstrakte edilebilir Fe (mg/kg)	0.19	Lindsay ve Norvell, 1978
DTPA ile ekstrakte edilebilir Mn (mg/kg)	5.30	Lindsay ve Norvell, 1978
DTPA ile ekstrakte edilebilir Zn (mg/kg)	0.40	Lindsay ve Norvell, 1978

## **3.2 Yöntem**

### **3.2.1 Bitkinin Çimlendirilmesi**

Transgenik tütün tohumları antibiyotik içeren (Kanamisin) MS (Murashige-Skoog) besi ortamında (Dağhan, 2004) 16/8 saat ışık/karanlıkta döngüsünde, 25°C sıcaklıkta çimlendirilerek saksı denemelerinde kullanılmıştır. Normal tütün bitkisi (SR-1) ise torf perlit karışımı (1:1) ortamda 2-3 yapraklı hale gelip hafif köklendikten sonra denemelerde kontrol bitkisi olarak kullanılmıştır.

### **3.2.2 Toprak Hazırlığı**

Toprak denemesi için 0-30 cm derinlikten Jackson (1962) tarafından bildirildiği şekilde alınan Mahmutlu toprak serisi kullanılmıştır (Yalçın, 2004).

Saksı denemesi için yaklaşık 100 kg toprak örneği alınmıştır. Laboratuara getirilen toprak örneği, temiz bir naylon üzerine serilmiş, taş ve bitki parçacıkları ayıklanarak, havada kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan toprak ufalanarak 4 mm'lik plastik elekten geçirilmiştir. Elenen toprak örneği bazı fiziksel ve kimyasal toprak analizleri yapılmak üzere temiz polietilen kaba konulmuş ve laboratuarda muhafaza edilmiştir.

### **3.2.3 Deneme Toprağının Fiziksel ve Kimyasal Analizleri**

#### **3.2.3.1 Nem (%)**

Toprak örnekleri kurutma fırınında (etüvde) 105 °C 'de sabit ağırlığa gelinceye kadar 48 saat kurutulmuş nem hesaplanmıştır. Toprak ile ilgili verilerin tümü 105°C'de sabit tartıma getirilen kütle yani fırın kurusu toprak kütlesi olarak ifade edilmiştir (Kacar, 1995).

#### **3.2.3.2 Suya Doymunluk (Saturasyon) (%)**

Richards (1954) tarafından bildirildiği şekilde toprağa doyuncaya kadar saf su ilave edilerek tayin edilmiştir.

### 3.2.3.3 Toplam Tuz (%)

Saturasyon ekstraktındaki iletkenliğin, iletkenlik ölçer aleti ile ölçülerek bulunmuş ve % olarak ifade edilmiştir (Soil Survey Staff, 1951).

### 3.2.3.4 Toprak Reaksiyonu (pH)

Richards (1954) tarafından bildirildiği şekilde hazırlanan suyla doymun toprakta ve Kacar (1995) tarafından bildirildiği şekilde  $\text{CaCl}_2$  metoduna göre cam elektrotlu pH metre ile tayin edilmiştir.

### 3.2.3.5 Kireç ( $\text{CaCO}_3$ )

Loeppert ve ark., (1996) tarafından bildirildiği şekilde volumetrik metoda göre tayin edilerek % olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.3.6 Organik Madde (%)

Kacar (1995) tarafından bildirildiği şekilde modifiye Walkley-Black yöntemine göre tayin edilerek, sonuçlar % olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.3.7 Toplam Karbon (%)

Toplam organik maddenin % 58'inin organik karbondan oluştuğu varsayımıyla, organik maddenin 1,72'ye oranından hesaplanmıştır (Kacar, 1995).

### 3.2.3.8 Toplam N Analizi

5 g toprak örneği üzerine katalizatör tuz karışımı ve 35 mL sülfürik asit eklenerek yakılıp, destilasyona alınan balonlardan ayrılan azot borik asitte tutulmuş ve titre edilen azot, total azot olarak ifade edilmiştir (Kacar, 1995).

### 3.2.3.9 Alınabilir Fosfor (mg/kg)

Olsen ve ark., (1954) tarafından geliştirilen metoda göre (0.5 M sodyum bikarbonat (pH 8.5) ile ekstrakt edilerek) tayin edilmiştir.

### 3.2.3.10 Alınabilir Potasyum

Richards (1954) tarafından bildirildiği gibi ekstrakt çözeltisi olarak 1 N  $\text{NH}_4\text{OAc}$  (pH 7.0) kullanılmış ve çözeltiye geçen potasyum alev fotometresi ile belirlenmiştir.

### 3.2.3.11 Toplam Metal Analizi

Toprağın başlangıç Pb, Cu, Fe, Mn ve Zn konsantrasyonu hem EPA 3050B hem de EPA 3051 mikrodalgada metoduna göre ekstrakte edilip ICP- AES'de belirlenmiştir. Yapılan deneylerin doğruluğunu test etmek için standart sertifikalı bir örnek (CRM-LO-C) kullanılmıştır.

### 3.2.3.12 Tekstür (Bünye)

Toprakların kum, silt ve kil fraksiyonları Bouyoucus (1952) tarafından bildirildiği şekilde hidrometre yöntemi kullanılarak yapılmış ve sonuçlar % olarak ifade edilmiştir. Toprağın tekstür sınıfı, tekstür üçgeninden yararlanarak tespit edilmiştir.

### 3.2.3.13 Bitki Tarafından Alınabilir Metal Analizi (DTPA Yöntemi)

Toprak örneğinin bitkiye yararlı metal analizi, 0.05 M DTPA (pH 7,3) (Lindsay ve Norvell, 1978) ile 10 g toprak: 20 mL ekstrakte edilerek Pb, Cu, Fe, Mn, Ni ve Zn konsantrasyonu ICP-AES'de belirlenmiştir.

### 3.2.3.14 Tarla Kapasitesi

Bozulmuş toprak örneklerinde tarla kapasitesi Alpaslan ve ark., (1998) tarafından bildirildiği şekilde yapılmıştır.

### 3.2.4 Saksı Denemesi

4 mm'lik elekten elenmiş hava kuru toprak örneklerinden 2,5 L'lik saksılara 2 kg fırın kuru toprak doldurulmuştur. Toprakta homojen bir dağılım sağlamak için saksılara ekim öncesinde Pb dozu artan oranlarda (0-25-50-100-200-400 mg  $\text{kg}^{-1}$  ve  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  formunda) çözelti formunda verilmiş ve tarla kapasitesinin % 60-80'ine getirilerek 3 hafta süreyle kontrollü koşullarında inkübasyona bırakılmıştır. Denemede uygulanacak Pb dozu Lindsay (1979) tarafından bildirilen ortalamalar ve üst limitler



göz önünde bulundurularak belirlenmiştir. Ayrıca ekimden önce her saksıya 200 mg  $\text{kg}^{-1}$  N ( $\text{NH}_4\text{SO}_4$ 'tan), 100 mg  $\text{kg}^{-1}$  P ve 125 mg  $\text{kg}^{-1}$  K ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 'tan) ve 2,5 mg  $\text{kg}^{-1}$  Fe (Fe-EDTA'dan) çözelti formunda ilave edilmiştir. Deneme tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme deseninde 3 paralelli olarak kurulmuştur. Tütün genotipleri ana parsellere, ağır metallere ait dozlar ise alt parsellere yerleştirilmiştir.

Tütün tohumları MS besi ortamında ve torf ortamında çimlendirildikten sonra 2-3 yapraklı iken saksılara şaşırtılmıştır. Saksılar tarla kapasitesi % 60-80 olacak şekilde deiyonize su ile sulanmıştır. Bitkiler Pb uygulanmış saksılarda 6 hafta süre ile çiçeklenmeye kadar yetiştirilmiştir. Önceki çalışmalarda, tütün bitkisinin toprak ortamına aktarılmasını takiben 6 haftalık bir gelişme döneminin sonunda çiçeklenmeye başladığı gözlenmiştir (Dağhan, 2004).

### 3.2.5 Fenolojik Gözlemler

Deneme süresince bitkilerin Pb toksisitesi karşısında uğradıkları morfolojik değişimler aşağıdaki skalaya göre değerlendirilmiştir. Ayrıca bu değişimler fotoğraflanarak görselleştirilmiştir.

- 1-Sağlıklı, yeşil bitki
- 2-Çok hafif kloroz
- 3-Orta şiddette kloroz
- 4-Şiddetli kloroz ve nekrozlar
- 5-Ölü bitki

### 3.2.6 Klorofil Analizi

Bitkilere Pb uygulamasının etkisiyle yapraklarda değişen klorofil içerikleri, bitkilerin hasat edildiği gün klorofil ölçüm cihazı (Konica-Minolta SPAD-502) kullanılarak belirlenmiştir.

### 3.2.7 Bitki Örneklerinin Hazırlanması ve Analizi

Saksı denemelerinden elde edilen bitki örnekleri yeşil aksam (yaprak, gövde ve çiçek) olarak hasat edilip saf suyla yıkanıp, kurulandıktan sonra kurutma dolabında  $65^\circ\text{C}$  de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Daha sonra bitkilerin kuru

ağırlıkları alınarak bitki analizleri için agat taşlı bitki öğütme değirmeninde öğütülmüştür. Deneme sonuçları tüm bitki olarak değerlendirilmiştir.

### **3.2.8 Bitki Örneklerinde Pb, Zn, Cu, Fe, Mn, N, P ve K Analizi ve Ölçümü**

Öğütülen bitki örnekleri HNO<sub>3</sub> ile mikro dalga fırında çözünürleştirilerek toplam metal konsantrasyonları (Pb, Fe, Cu, Zn ve Mn) ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emmission Spectrometry; Varian Series-II)'de belirlenmiştir. Üç paralelli yapılan metal analizlerinin doğruluğu, metal içeriği belli standart sertifikalı bir bitki (Virginia Tobacco Leaves (CTA-VTL-2)) örneğinin aynı yöntemle analiz edilmesi ile kontrol edilmiştir.

### **3.2.9 N Analizi**

Bitki örneklerinde N analizi, Kjeldal yöntemine göre yapılmıştır (Kacar, 1984).

### **3.2.10 P Analizi**

Bitki örneklerinde P analizi, ICP-AES ile yapılmıştır.

### **3.2.11 İstatistiksel Analiz**

Saksı denemesi sonucunda elde edilen veriler SAS istatistiksel analiz programı kullanılarak değerlendirilmiş ve ortalamalar arasındaki fark LSD testi uygulanarak gruplandırılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1 Fenolojik Gözlemler

Deneme süresince artan dozda Pb uygulanmış transgenik p-cV-ChMTII GFP ve transgen olmayan SR-1 tütün bitkilerinin uğradıkları morfolojik değişimler gözlenerek kaydedilmiştir. Ayrıca bu değişimler fotoğraflanarak görselleştirilmiştir. (Şekil 4.1 ve 4.2). Transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde Pb uygulanmış bitkilerin hiçbirinde Pb toksisite simptomsu gözlenmemiştir (Şekil 4.1 ve 4.2). Ancak 0 mg/kg Pb uygulanmış SR-1 bitkilerinin boyunun diğer Pb dozlarına göre daha kısa oldukları tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Bu durum tütün fidelerinin saksılara aktarılması sırasında bitki boylarının homojen olarak seçilememesinden kaynaklanabilir. Yine aynı bitkilerde çiçeklenme az iken 25-50 ve 100 mg Pb/kg dozlarında çiçeklenme artmış, 200 mg Pb/kg dozunda azalmış ve 400 mg Pb/kg dozunda tekrar artmıştır. Benzer durum transgenik p-cV-ChMTIIGFP bitkisinin 0 mg Pb/kg dozundan 100 mg Pb/kg dozuna doğru çiçeklenme artarken 200 ve 400 mg Pb/kg dozlarında ise çiçeklenmenin azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.2).

Kurşunun spesifik olmayan belirtileri; kök ve yeşil aksam gelişiminin engellenmesi ve klorozdur. Bitki tarafından çok düşük miktarda alınan Pb bile fizyolojik süreç üzerine olumsuz etki yapmaktadır (Sharma ve Dubey, 2005).

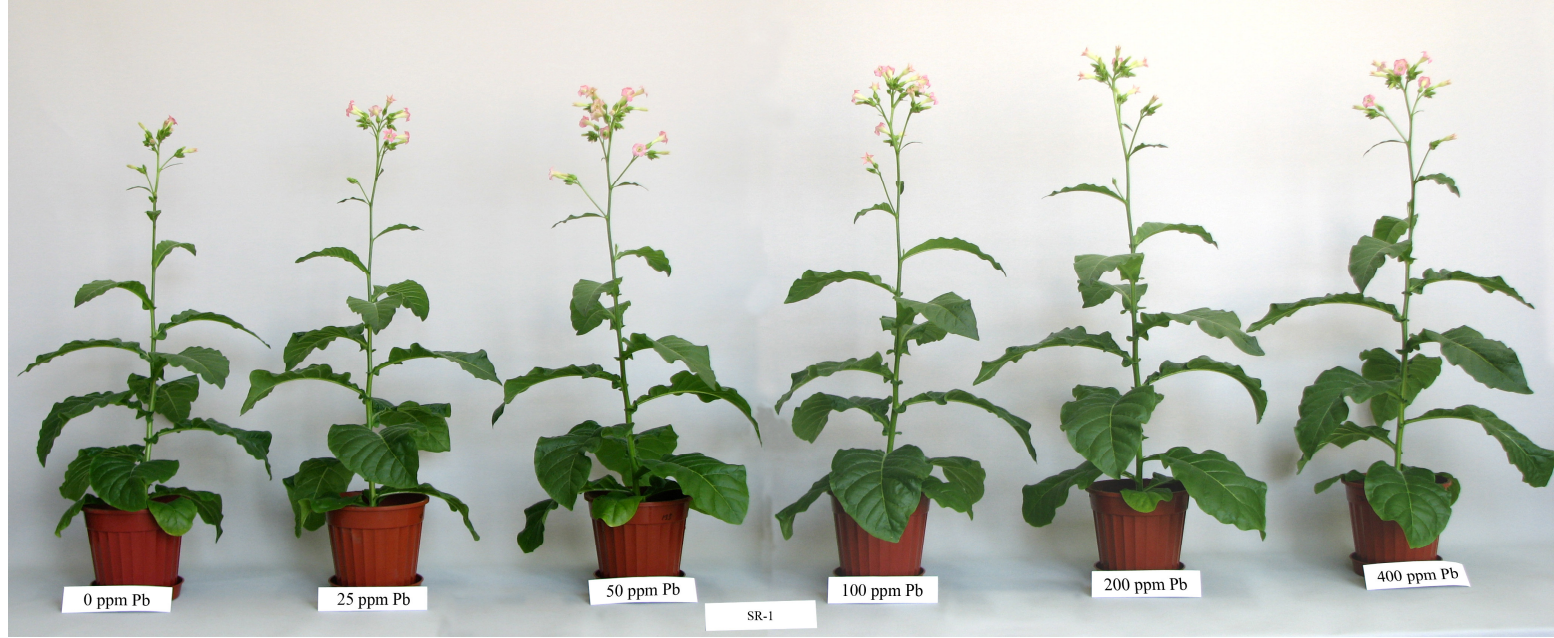
Xiong ve ark., (2005) artan dozlarda Pb uyguladıkları topraklarda yetiştirdikleri *B. pkinensis Rupr.* bitkisi üzerine Pb'un toksik etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacıların elde ettikleri verilere göre, toprakta ve yeşil aksamda Pb konsantrasyonundaki artışla birlikte Pb bitkilerde gözle görülebilir herhangi bir simptome neden olmamıştır (Keser, 2005). Bu sonuç sonuçlarımızı desteklemektedir.

Artan dozlarda Pb uygulanmış her iki tütün bitkisinde de toksisite belirtilerinin görülmemesi bitkilerin 400 mg Pb/kg dozuna kadar Pb uygulamasına toleranslı olduğunu göstermektedir. Bu dozdan daha yüksek dozlarda belirgin toksisite belirtilerine rastlanacağı tahmin edilmektedir. Ayrıca, birçok araştırmacının yaptığı çalışmaya göre, toprak özellikleri bitkinin Pb alımı etkilemekte ve alınan Pb genellikle bitkinin köklerinde birikmekte, yeşil aksama ise çok az miktarı taşınmaktadır. Bu sonuca göre, transgenik ve transgenik olmayan tütün bitkileri yeşil aksamlarında Pb biriktirmelerine rağmen toksisite göstermemelerinin sebepleri;

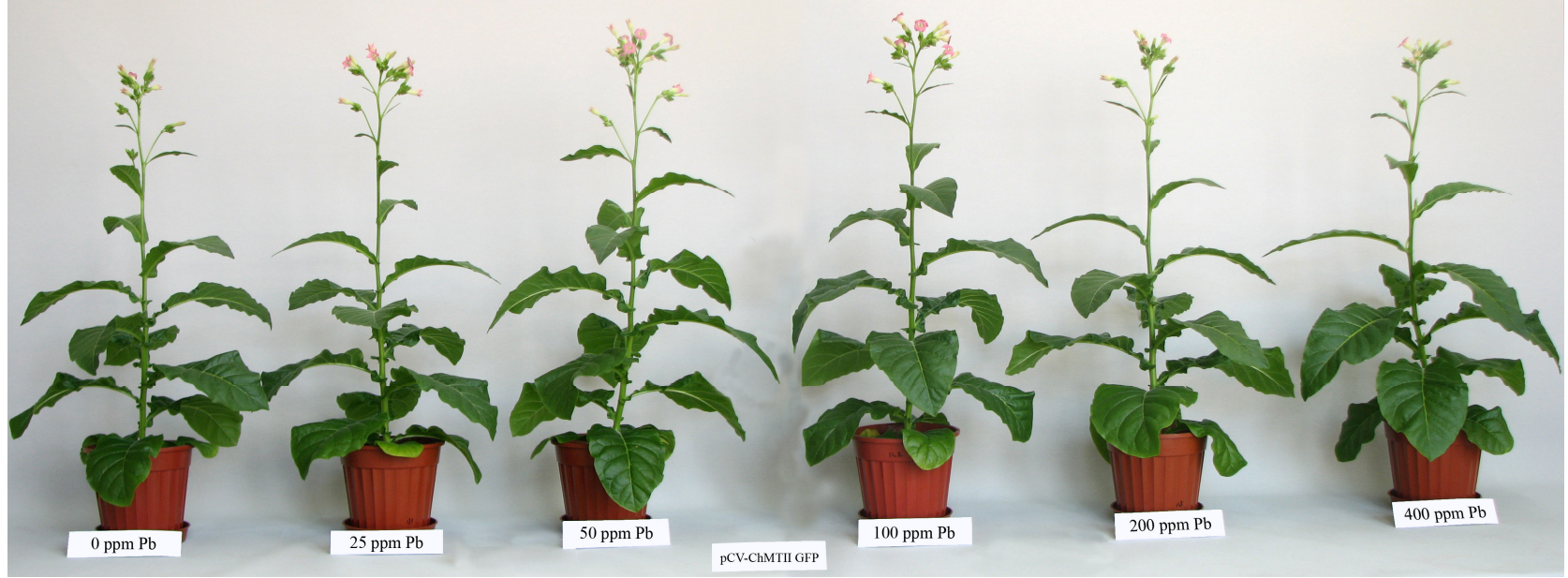
- 1) Toprak özelliklerinin Pb'nun çözünürlüğünü etkilemesi,
- 2) Alınabilen Pb çoğunluğunun köklerde birikmesinden dolayı yeşil aksamda az taşınması olabilir.

Bu sebeplerden dolayı gelecekte yapılacak denemelerde Pb dozlarının arttırılarak kök ve yeşil aksamda biriktirilen Pb miktarlarının belirlenmesi ve toksisite belirtilerinin gözlenmesi gerekmektedir.

Khan ve Khan (1983), ağır metaller üzerine yaptıkları bir çalışmada Pb ve Cd domates ve patates bitkilerinde kuru madde ve besin derişimlerine etkisine bakılmış, düşük dozlarda kurşun ve kadmiyumun olumlu etkisi, yüksek dozlarda toksik etkisi olduğu, ayrıca domatesin patatesten ağır metallere karşı daha toleranslı olduğu görülmüştür. Her iki bitki için toksisite sıralaması Cd>Pb şeklinde olmuştur (Keser, 2005).



Şekil.4.1. Farklı dozda Pb uygulamalarının transgenik olmayan SR-1 bitkisi üzerine etkileri



Şekil.4.2. Farklı dozda Pb uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIIGFP bitkisi üzerine etkileri

#### 4.2 Klorofil Analizi

Bitkilere Pb uygulamasının etkisiyle yapraklarda değişen klorofil içerikleri, bitkilerin hasat edildiği gün klorofil ölçüm cihazı (Konica-Minolta Spad-502) kullanılarak belirlenmiştir.

Bu yöntemle bitkilerdeki klorofil içerikleri daha pratik ve hızlı bir şekilde ölçülebilmektedir. Klorofil-metre (Spad-metre) cihazı ile Spad değerleri ölçülerek tespit edilmiştir.

Birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalar, aşırı Pb'nun bitkilerde klorofil sentezini engellediği ve sonuç olarak klorofil miktarlarında azalmalara neden olduğunu, mineral besinlerin dengesini değiştirdiğini, hormon düzeylerini modifiye ettiği ve plasma membranının permeabilite ve yapısını etkilediğini tespit etmişlerdir (Doğan ve Çolak, 2009; Bekiaroglou ve Karataglis, 2002; Gupta ve ark, 2008)

Güler (2006)'nın bildirdiğine göre, (Xiong) 1997 yaptığı bir çalışmada; farklı dozlarda (0, 800, 1600 ve 3200 mg kg<sup>-1</sup> kuru ağırlık) kurşun asetat uygulanan topraklarda *S. oleraceae* türünde ortaya çıkan bazı etkileri (Pb, biyomas ve klorofil içeriği, peroksidaz aktivitesi ve sürgün uzunluğu) belirlemiştir. Topraktaki kurşun miktarının artması ile klorofil, biyomas ve sürgün uzunluğu azalmış, buna karşın, bitki dokularındaki Pb miktarı ve peroksidaz aktivitesi artmıştır.

Kurşun alımının transgenik ve transgenik olmayan bitki üst yaprakların klorofil içerikleri değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (% D.K.) Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde alt ve üst yaprak klorofil içerikleri değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (% D.K.)

Varyasyon Kaynağı	S.D.	Klorofil Alt Yaprak		Klorofil Üst Yaprak	
		Kareler ortalaması	F Değeri	Kareler Ortalaması	F Değeri
Tekerrür	2	0.53	3.91	0.86	2.66
Çeşitler	1	4.20	31.17**	0.72	2.23
Doz	5	1.75	12.95**	4.16	12.83**
Doz x çeşit	5	1.61	11.94**	44.16	136.20**
Hata	22	0.135		0.32	
Genel	35				
% D.K.		0.98		1.18	

(\*) P < 0.05

(\*\*) P < 0.01

Çizelge 4.1'den de görüleceği gibi farklı dozlarda Pb uygulamasının transgenik p-cV-ChMTII GFP ve transgen olmayan SR-1 bitkilerinin alt yaprakların klorofil içeriği değerleri yönünden doz, çeşitler ve doz x çeşit interaksiyonunun çok önemli olduğu (P<0.01), olduğu (P<0.05) görülmektedir. Üst yaprakların klorofil içeriği değerleri yönünden ise doz ve doz x çeşit interaksiyonunun önemli olduğu görülmektedir (P<0.01).

Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 (*Nicotiana tobaccum* Petit Havana) tütün bitkilerinin klorofil düzeylerine etkileri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin klorofil düzeylerine etkileri (LSD % 5)

Çeşit	Klorofil Alt Yaprak	Klorofil Üst Yaprak
p-cV-ChMTIIGFP	37.86 a	48.30 a
SR-1	37.18 b	48.02 a
LSD 0,05	0.25	Ö.D.

Ö.D.=Önemli Değil

Kurşun uygulamalarının p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1 tütün bitkilerinin alt yaprak klorofil düzeylerine etkileri LSD %5 oranında önemli bulunurken üst yaprak klorofil düzeylerine etkisi önemsiz bulunmuştur.



Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) klorofil düzeylerine etkileri Çizelge 4.3’de verilmiştir.

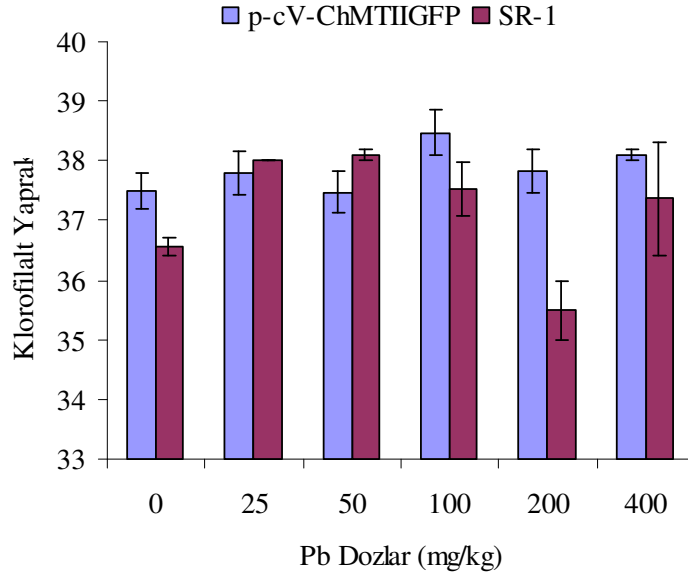
Çizelge 4.3. Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) klorofil düzeylerine etkileri

Doz (mg/L)	Klorofil Alt Yaprak	Klorofil Üst Yaprak
0	37.03 b	48.42 b
25	37.90 a	47.73 cd
50	37.78 a	47.45 d
100	38.00 a	48.13 cb
200	36.67 b	49.68 a
400	37.73 a	47.53 cd
LSD 0.05	0.44	0.68

Alt yaprak klorofil düzeylerine farklı dozda Pb uygulamalarının etkisi en yüksek 25–50–100 ve 400 mg/kg Pb dozlarında en düşük ise 0 ve 200 mg/kg Pb doz uygulamalarında görülmüştür (Çizelge 4.3). Farklı dozda Pb uygulamalarının üst yaprakların klorofil düzeylerine etkisi ise, en yüksek 200 mg/kg Pb dozunda görülürken en düşük düzey 50 mg/kg Pb dozunda görülmüştür.

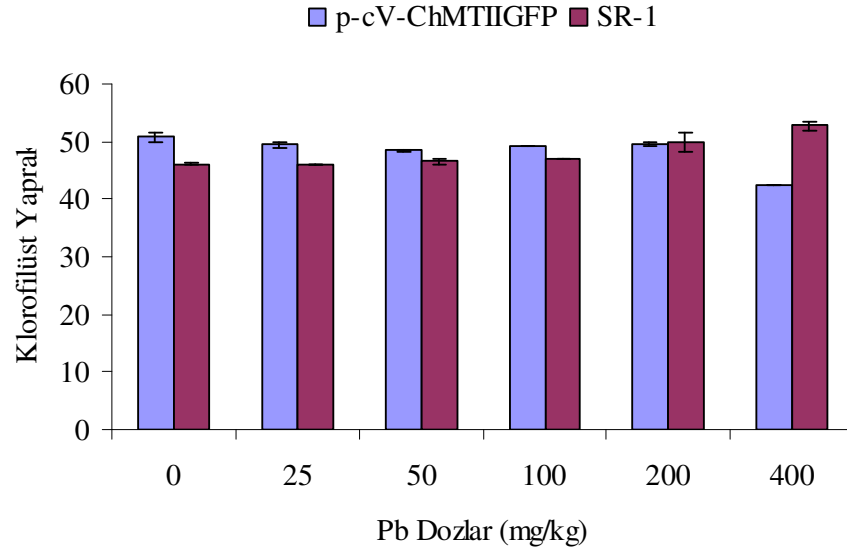
Çizelge 4.3’de alt yaprakların klorofil içerikleri üst yapraklardan daha az olduğu görülmektedir. Bu durum daha yaşlı olan alt yaprakların Pb toksisitesine üst yapraklardan daha önce ve uzun süre maruz kalmasından kaynaklanmış olabilir. Benzer sonucu Bekiaroglou ve Karataglis (2002) su kültüründe artan dozlarda Pb ve Zn uygulamalarının (*Mentha spicata*) bitkisine etkileri üzerine yaptıkları çalışmada elde etmişlerdir. Aynı araştırmacılar Zn ve Pb’nun bitkinin klorofil konsantrasyonunu azalttığını tespit etmişlerdir. Bitkilerin alt yapraklarının klorofil konsantrasyonlarının üst yapraklara göre yüksek olmasının, bitkilerin fide olarak su kültürüne aktarılması ve 2 hafta süre ile Zn ve Pb uygulamasına maruz bırakılmalarından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Dolayısıyla alt yaprakların su kültürüne aktarılmadan şekil ve yapılarını geliştirmiş ve daha sonra uygulanan metalden daha az etkilenmiş, üst yapraklar ise, daha genç ve uzun süre metale maruz kaldığı için klorofil konsantrasyonunun azalmış olduğunu tespit etmişlerdir.

Farklı Pb uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 (*Nicotiana tabaccum* Petit Havana) tütün bitkileri alt ve üst yapraklarının klorofil düzeyleri üzerine çeşit doz interaksyonu Şekil 4.3 ve 4.4'te verilmiştir.



Şekil.4.3. Farklı Pb uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri alt yapraklarının klorofil düzeyleri üzerine çeşit doz interaksyonu

Şekil 4.3'de de görüldüğü gibi Pb dozlarındaki artışla birlikte p-cV-ChMTIIGFP bitkisinin alt yaprak klorofil içeriği SR-1 tütün bitkisine oranla artış göstermiş. Alt yaprak klorofil içeriği her iki tütün çeşidinde 100 mg Pb/kg dozuna kadar artış göstermiş sonra azalmıştır.



Şekil.4.4. Farklı Pb uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri üst yapraklarının klorofil düzeyleri üzerine çeşit doz interaksyonu

Kurşun dozlarındaki artışla birlikte p-cV-ChMTIIGFP bitkisinin üst yaprak klorofil içeriği SR-1 tütün bitkisine oranla 400 mg/kg Pb dozuna kadar daha yüksek değerlere sahip olmuştur (Şekil 4.4). Ancak 400 mg/kg Pb dozunda SR-1 bitkilerinden daha az klorofil içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. SR-1 tütün bitkilerinin üst yaprak klorofil içeriği 200 mg/kg Pb uygulamasına kadar değişmezken 200 ve 400 mg/kg Pb dozlarında ise artış gözlenmiştir.

Güler (2006)'nın bildirdiğine göre, Bayçu ve ark. (1999) İstanbul ilinde Cd ve Pb elementlerinin fıstık çamı ibreleri ile topraktaki birikim değerleri, yapraklardaki klorofil içeriği ve peroksidaz aktivitesine etkisi araştırılmışlardır. Yapılan analizlerde; en yüksek Cd ve Pb değerleri, iki yaşındaki yıkanmamış ibreler ve kent merkezinde trafiğin yoğun olduğu bölgelerden alınan toprak örneklerinde saptanmışlar. Genel olarak iki yıllık yapraklarda bir yıllık olanlara göre daha yüksek klorofil olduğu, ancak kirlilik yoğunluğunun artmasına bağlı olarak tüm yaprak örneklerinde azaldığı, peroksidaz aktivitesinin ise kirlilikle paralellik göstererek arttığı, kirliliğe daha uzun süre maruz kalmaları nedeniyle özellikle iki yıllık ibrelerde bu artışın daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur.

### 4.3 Yaş ve Kuru Ağırlık Ölçümü

Farklı dozda kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerin yaş ve kuru ağırlık değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.) Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde yaş ve kuru ağırlık değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.)

Varyasyon Kaynağı	S.D.	Yaş Ağırlık		Kuru Ağırlık	
		Kareler ortalaması	F Değeri	Kareler Ortalaması	F Değeri
Tekerrür	2	2.32	1.53	0.048	1.25
Çeşitler	1	106	70.03**	15.47	406.27**
Doz	5	110	72.63**	2.97	78.04**
Doz x çeşit	5	56.39	37.22**	3.84	100.71**
Hata	22	1.515		0.038	
Genel	35				
% D.K.		1.198		1.73	

(\*\*) P< 0.01

Çizelge 4.4'te görüleceği gibi yaş ve kuru ağırlık değerleri yönünden çeşitler, doz ve doz x çeşit interaksyonunun çok önemli olduğu görülmektedir (P< 0.01).

Çizelge 4.5. Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkileri

Çeşit	Yaş Ağırlık (g/bitki)	Kuru Ağırlık (g/bitki)
p-cV-ChMTIIGFP	101.02 b	10.64 b
SR-1	104.46 a	11.95 a
LSD 0.05	0.85	0.13

Kurşun uygulamalarının p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1 tütün bitkilerinin yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkileri LSD %5'e göre önemli bulunmuştur. Yaş ağırlık değerleri 101.02-104.46 g/bitki arasında değişim göstermiş, kuru ağırlık değerleri ise 11.95 ve 10.64 arasında değişim göstermiş olup yaş ve kuru ağırlık yönünden en yüksek değerler SR-1 bitkilerinde elde edilmiştir.

Farklı dozda Pb uygulamalarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkileri Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkileri

Doz (mg/kg)	Yaş Ağırlık (g/bitki)	Kuru Ağırlık (g/bitki)
0	95.17 d	9.90 c
25	101.17 c	11.62 b
50	106.57 a	11.45 b
100	106.37 a	11.88 a
200	102.43 c	11.50 b
400	104.17 b	11.42 b
LSD 0.05	1.47	0.23

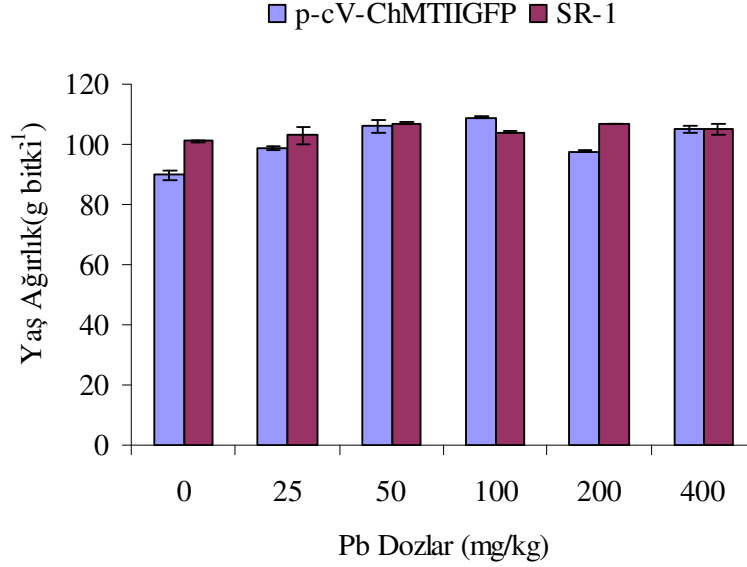
Tütün bitkilerinin yaş ağırlıkları dozlara göre farklılık göstermektedir (Çizelge 4.6). En fazla yaş ağırlık 50 ve 100 mg Pb/kg uygulamalarında (106.57–106.37), en düşük ağırlık (95.17 g/bitki) 0 mg Pb /kg uygulamasında görülmüştür. Benzer şekilde kuru ağırlık sonuçlarında da tespit edilmiştir. En yüksek kuru ağırlık (11.88 gr) 100 mg Pb/kg doz uygulamasında görülürken, en düşük kuru ağırlık (9.90 gr/bitki) 0 mgPb/kg uygulamasında görülmüştür. Bu durum bitkilerin çimlendirilip fidelerin saksıya alınması sırasında bitkilerin büyüklüklerinin heterojenliğinden kaynaklanmaktadır.

Romero ve ark. (2006)'da bildirdiğine göre; Labri ve ark. (2002)'nin Pb uygulanmış su kültüründe yetiştirdikleri turp (*Beta vulgaris* var. *Saccharifera*) bitkisinin kök kuru ağırlığı artarken, yeşil aksam kuru ağırlığında bir değişim olmadığını tespit etmişlerdir. Araştırmada elde ettiğimiz sonuçlar Labri ve ark, (2002)'nin bulguları ile uyum içerisindedir.

Gupta ve ark., (2008) Pb uygulanmış toprakta yetiştirdikleri *Vigna mungo* bitkisinin yaş ve kuru ağırlıklarında artan Pb dozu ile birlikte azalma tespit etmişlerdir. Yaş ağırlıktaki azalmanın bitkinin çok fazla nem kaybından, kuru ağırlıktaki azalmanın ise bitkinin bazı elementleri biriktirmesinden, fotosentezdeki ve klorofil a sentezindeki azalmadan kaynaklanmış olabileceğini belirtmişlerdir.

Benzer sonuçlar bazı araştırmacılar (Zengin ve Munzuroğlu, 2004; Sharma ve Dubey, 2005; Romero ve ark., 2006) tarafından da bildirilmiştir

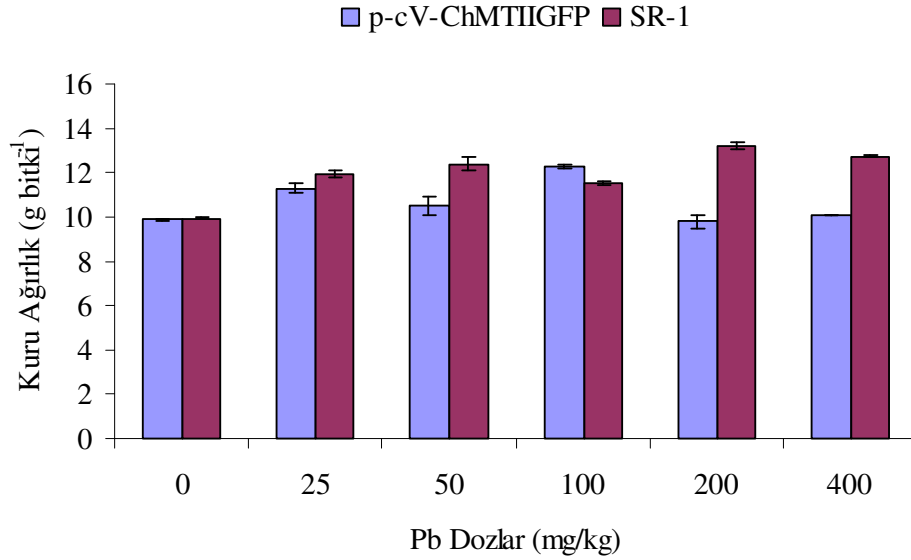
Şekil 4.5'te farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının yaş ağırlıkları üzerine çeşit doz interaksyonunun etkileri verilmiştir.



Şekil.4.5. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının yaş ağırlıkları üzerine çeşit doz interaksyonu

Kurşun uygulamaları bitkilerin yaş ağırlıklarında çok büyük farklılıklar yaratmamıştır (Şekil 4.5). p-cV-ChMTIIGFP tütün bitkileri SR-1 bitkilerinden nispeten fazla yaş yeşil aksam üretmişlerdir.

Şekil 4.6'te farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının kuru ağırlıkları üzerine çeşit x doz interaksyonunun etkileri verilmiştir.



Şekil.4.6. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının kuru ağırlıkları üzerine çeşit doz interaksyonu

Şekil 4.6.'da SR-1 tütün bitkilerinin p-cV-ChMTIIGFP tütün bitkilerine oranla daha fazla kuru ağırlığa sahip olduğu, bu farkın 200 ve 400 mgPb/kg dozlarında daha fazla olduğu görülmektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre p-cV-ChMTIIGFP bitkisi SR-1'e göre daha fazla yaş ağırlık üretirken, kuru ağırlıklarda tam tersine fazla nem kaybından dolayı (Gupta ve ark, 2008) SR-1 bitkisinin daha fazla kuru ağırlığa sahip olduğu görülmüştür.

#### 4.4 Bitki Analizleri

Mikro dalga fırında HNO<sub>3</sub> ile çözünürleştirilen bitki örneklerinin toplam metal konsantrasyonları (Pb, Fe, Cu; Zn ve Mn) ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emmission Spectrometry; Varian Series-II)'de belirlenmiştir. Bitki analizine ait sonuçlar aşağıda da verilmiştir.

Çizelge 4.7. Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde Pb konsantrasyonu ve Pb içeriği değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.)

Varyasyon Kaynağı	S.D.	Pb (mg/kg)		Pb (µg/bitki)	
		Kareler ortalaması	F Değeri	Kareler Ortalaması	F Değeri
Tekerrür	2	0.004	0.04	0.035	0
Çeşitler	1	4.48	48.58**	174	13.87**
Doz	5	16.44	178.24**	2114	168.45**
Doz x çeşit	5	0.69	7.46**	56.08	4.47**
Hata	22	0.09		12.55	
Genel	35				
% D.K.		15.27		15.70	

(\*\*) P< 0.01

Çizelge 4.7'den de görüleceği gibi farklı dozlarda Pb uygulamasının transgenik p-cV-ChMTII GFP ve transgenik olmayan SR-1 bitkilerinin Pb konsantrasyon değerleri yönünden çeşitler, doz ve doz x çeşit interaksiyonunun çok önemli olduğu görülmektedir (P< 0.01).

Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 (*Nicotiana tobaccum* Petit Havana) tütün bitkilerinin Pb konsantrasyonu ve Pb içeriğine etkileri Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin Pb konsantrasyonu ve Pb içeriğine etkileri

Çeşit	Pb (mg/kg)	Pb (µg/bitki)
p-cV-ChMTIIGFP	2.34 a	24.76a
SR-1	1.64 b	20.36b
LSD 0.05	0.21	2.45

Kurşun uygulamalarının p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1 tütün bitkilerinin Pb konsantrasyonu ve Pb içeriğine etkileri %5 seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir.

Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) Pb element konsantrasyonlarına ve Pb içeriği etkileri Çizelge 4.9'da verilmiştir.

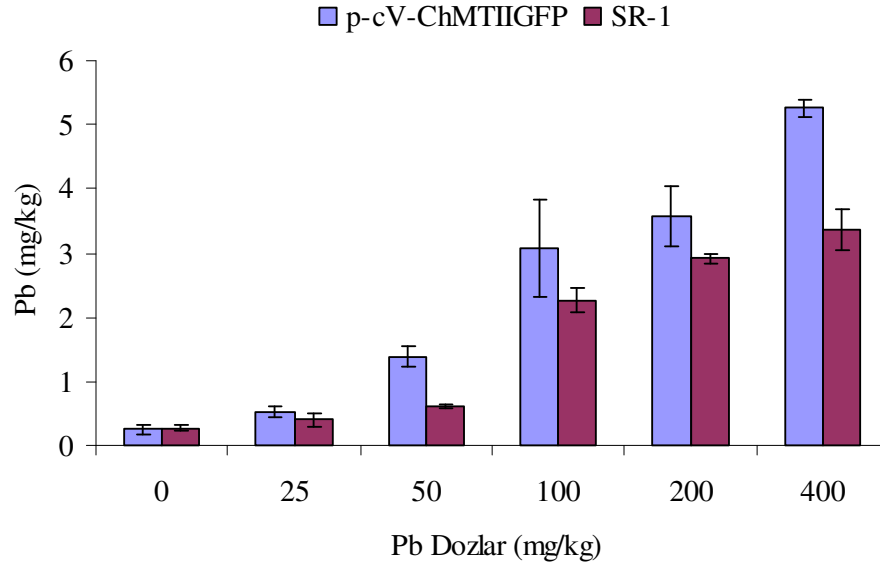


Çizelge 4.9. Farklı Pb dozlarının araştırmada kullanılan tütün bitkilerinde (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) Pb element konsantrasyonlarına ve Pb içeriği etkileri

Doz (mg/L)	Pb (mg/kg)	Pb (µg/bitki)
0	0.26e	2.57e
25	0.46e	5.32e
50	0.997d	11.02d
100	2.66c	31.75c
200	3.24b	36.68b
400	4.31a	48.01a
LSD 0.05	0.36	4.24

Bitkilerin kurşun konsantrasyonuna farklı dozda Pb uygulamalarının etkisi en yüksek (4.31 mg/kg) 400 mg/kg Pb dozunda, en düşük Pb konsantrasyonuna (0.26-0.46 mg/kg) ise 0 ve 25 mg/kg Pb doz uygulamalarında olduğu görölmektedir. (Çizelge 4.9). Benzer şekilde farklı dozda Pb uygulamalarının bitkilerin Pb içeriğine etkisi ise, en yüksek 400 mg/kg Pb dozunda (48.01 µg/bitki) elde edilirken en düşük Pb içeriği ise 0 ve 25 mg/kg Pb doz uygulamalarında (2.57-5.32 µg/bitki) elde edilmiştir.

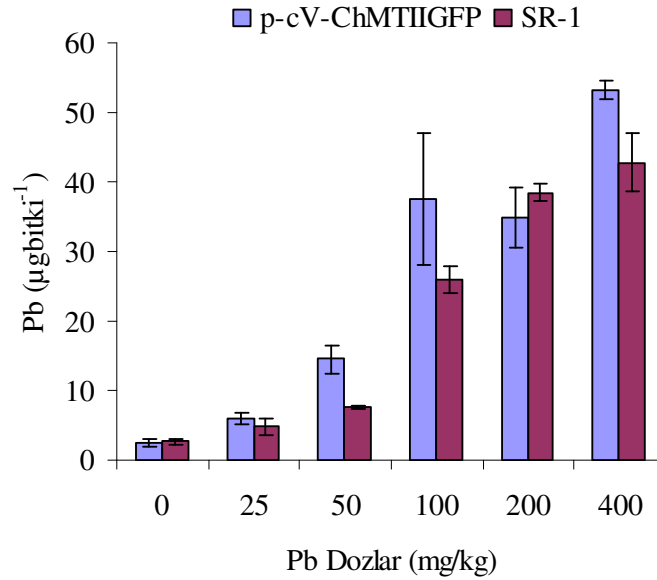
Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP tütün bitkisi ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının Pb konsantrasyonu üzerine çeşit doz interaksyonu Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil.4.7. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının Pb konsantrasyonu üzerine çeşit doz interaksyonu

Kurşun dozlarındaki artışa bağlı olarak transgenik p-cV-ChMTIIGFP tütün bitkisinin transgenik olmayan SR-1 bitkisine göre daha fazla Pb aldığı Şekil 4.7’de görülmektedir. Bu durum transgenik tütün bitkisinin bir ağır metal olan Pb alım ve tolerans yeteneğinin transgenik olmayan SR-1 tütün bitkisinden daha fazla olduğunu göstermektedir. Ayrıca 400 mg Pb/kg dozunda bitkilerin herhangi bir toksisite göstermemiş olması da bitkinin daha yüksek Pb dozlarına karşı toleranslı olabileceğini göstermektedir. Elde edilen sonuç transgenik p-cV-ChMTIIGFP tütün bitkisinin Pb metali ile kirlenmiş toprakların temizlenmesinde kullanılabileceğini göstermiştir.

Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının Pb içeriği üzerine çeşit doz interaksyonu etkileri Şekil 4.8’de verilmiştir.



Şekil.4.8. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının Pb içeriği üzerine çeşit doz interaksyonu

Sauerbeck, (1983), besin çözültisi ile çeşitli bitkilerde yapılan deneyler toksisite başlangıcı için bitkideki 20-35 mg/kg kuru madde kurşun miktarının kritik değer olduğunu ortaya çıkarmıştır (Keser, 2005).

Kurşun dozlarındaki artışla birlikte transgenik p-cV-ChMTIIGFP tütün bitkisinin Pb içeriği transgenik olmayan SR-1 bitkisine oranla daha fazla artmıştır (Şekil 4.8).

Yukarıda da değinildiği gibi bu durum transgenik tütün bitkisinin topraktan kaldırdığı Pb miktarının transgenik olmayan SR-1 tütün bitkisinden daha fazla olması beklenen bir sonuçtur. Fitoekstraksiyon yöntemi için geliştirilen p-cV-ChMTIIGFP bitkisinin 400 mgPb/kg dozuna kadar herhangi bir toksisite göstermemiş olması da bu bitkinin daha yüksek Pb dozlarına karşı toleranslı olabileceğini göstermektedir. Birçok araştırmacının yaptıkları çalışmalar sonuçlarımızı desteklemektedir.

Lee ve ark. (2003), genetiksel olarak modifiye ettikleri *Znt Arabidopsis thaliana* bitkilerini Pb, Cd ve Zn ortamda yetiştirdiklerinde bu bitkilerin kontrol bitkisine göre daha iyi geliştiklerini saptamışlardır.

Song ve ark. (2003), YCF1 geni aktardıkları *Arobidopsis thaliana* bitkisinin yüksek Zn ve Pb içeriğine karşı toleranslı olduğunu tespit etmişlerdir. Transgenik bitkilerinin ağır metallere karşı toleranslı olma yeteneği bitkinin fitoremediasyon yöntemi için kullanılabilceğini göstermektedir.

Bazı bitkiler (çoğunlukla *Brassicaceae*, *Euphorbiaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae* ve *Scrophulariaceae* familyaları) yüksek Pb alım potansiyeline sahip olarak tanımlanmıştır. Farklı dozlarda Pb uygulanmış su kültürü ortamında yetiştirilen *B. juncea* bitkisi önemli miktarda Pb'nu biriktirmiş ancak bu Pb'nun çok az bir miktarını yeşil aksamda biriktirmiştir (Liu ve ark., 2000).

Genetiksel olarak modifiye edilmiş tütün bitkisinin (*Nicotiana glauca* R. Graham) yüksek miktarda Pb'u akümüle etmesi, geniş bir coğrafik dağılımda yetiştirilebilmesi, hızlı büyüme ve bol yeşil aksamaya sahip olması bu bitkinin fitoremediasyon için ideal bitki olduğunu tespit edilmiştir (Gisbert ve ark., 2003).

Çeşitli bitki organlarının Pb içeriği şu sıralamaya göre belirlenmiştir; kök > yaprak > gövde > çiçek > tohumlar. Ancak bu sıralama bitki türlerine göre değişmektedir (Sharma ve Dubey, 2005)

Kurşun bitki tarafından topraktan ve hava kaynağından alınmaktadır. Lane ve Martin (1977), kurşunun bitki tarafından alınması ile ilgili yaptıkları çalışmada kökler önemli miktarda kurşunu alma yeteneğine sahipken aynı zamanda yeşil aksamaya Pb taşınması ise oldukça sınırlı bir şekilde olduğunu saptamışlardır.

Bu fikrin aksini Miller ve Koeppe (1971) yaptıkları çalışmada mısır bitkilerinin konsantrasyonuna bağlı bir şekilde önemli miktarda Pb'un yapraklara taşınıp biriktirebildiğini ispat etmişlerdir.

Cunningham ve ark. (1995), Pb'nun kökteki birikimi yeşil aksamdaki birikiminden ciddi derecede daha yüksek olduğunu, bu durumda kökten yeşil aksamaya Pb taşınımının düşük olmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Yeşil aksam/kök Pb konsantrasyonu yüksek olan bitki türleri Pb'un taşınmasında çok etkilidirler.

Bazı *Brassica juncea* bitki çeşitleri 760 µM Pb uygulanmış su kültürü ortamında yetiştirildiğinde yeşil aksamlarında % 1,5 Pb biriktirmişlerdir (Kumar ve ark 1995).

Huang ve Cunningham (1996), Pb ile kontamine toprakta yetiştirdikleri mısır bitkisinin yeşil aksam Pb konsantrasyonunun en fazla Pb akümüle eden *Brassica Juncea* çeşitlerinden önemli bir şekilde daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

*Thlaspi rotundifolium* bitkilerinin kuru ağırlık üzerinden yeşil aksamalarında 130-8200 mg Pb/kg biriktirdikleri bildirilmiştir (Reeves ve Brooks, 1983). Ancak bitkinin yavaş büyüyen ve az biomass üretmesinden dolayı, Pb'la kirlenmiş toprakların fitoekstraksiyonu için uygun değildir.

Farklı dozda Pb uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerin Cu ve Fe konsantrasyonu değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.) Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde Cu ve Fe konsantrasyonu değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.)

Varyasyon Kaynağı	S.D.	Cu (mg/kg)		Fe (mg/kg)	
		Kareler ortalaması	F Değeri	Kareler Ortalaması	F Değeri
Tekerrür	2	0.11	1.15	224	0.68
Çeşitler	1	3.88	40.03**	7.65	0.02
Doz	5	3.60	37.13**	481	1.47
Doz x çeşit	5	1.15	11.81**	786	2.40
Hata	22	0.097		328	
Genel	35				
% D.K.		9.31		11.36	

Çizelge 4.10'da görüleceği gibi farklı dozlarda Pb uygulamasının transgenik p-cV-ChMTII GFP ve transgen olmayan SR-1 bitkilerinin Cu konsantrasyon değerleri yönünden çeşitler, doz ve doz x çeşit interaksyonunun çok önemli olduğu ( $P < 0.01$ ) ancak Fe konsantrasyonu değerlerinin ise önemsiz olduğu görülmektedir.

Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin Cu ve Fe konsantrasyonlarına etkileri Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin Cu ve Fe konsantrasyonlarına etkileri

Çeşit	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)
p-cV-ChMTIIGFP	3.67 a	159.93
SR-1	3.02 b	159.01
LSD 0.05	0.22	Ö.D.

Kurşun uygulamalarının p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1 tütün bitkilerinin Cu konsantrasyonuna etkisi LSD % 5'e göre önemli bulunurken Fe konsantrasyonuna etkisi önemsiz bulunmuştur. Araştırmada en yüksek Cu değerleri 3.67 mg/kg ile p-cV-ChMTIIGFP tütün çeşidinden elde edilmiştir.

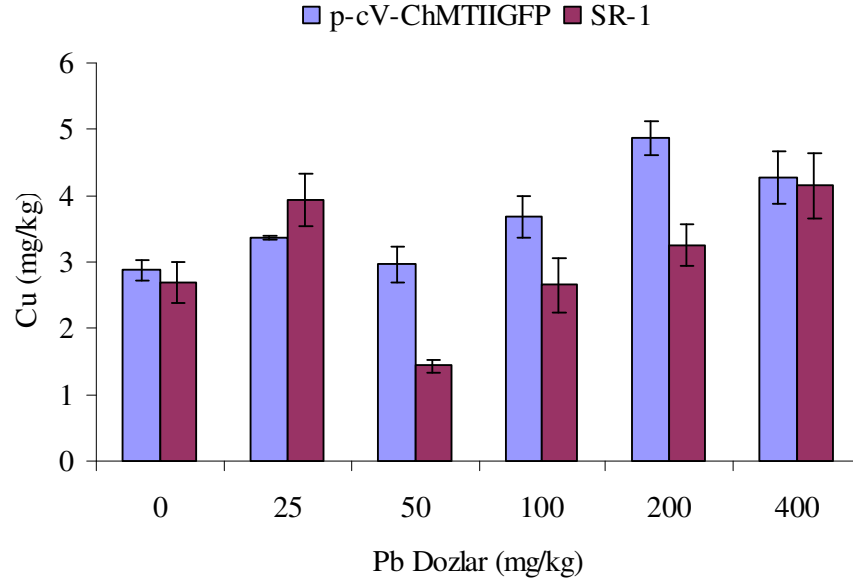
Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) Cu ve Fe konsantrasyonlarına etkileri Çizelge 4.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.12. Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) Cu ve Fe konsantrasyonlarına etkileri

Doz (mg/L)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)
0	2.79d	163ba
25	3.65b	150b
50	2.20e	154ba
100	3.17c	153ba
200	4.05a	175a
400	4.21a	162ba
LSD 0.05	0.37	21.68

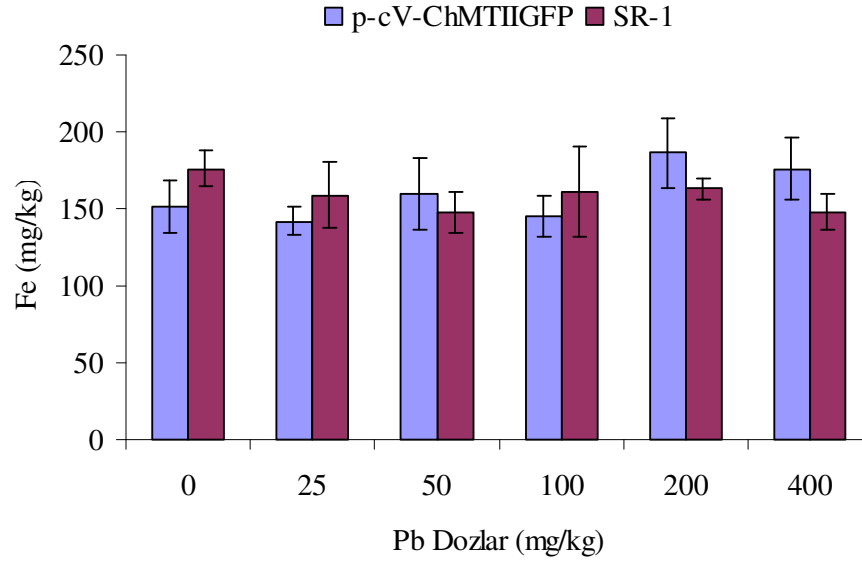
Bitkilerin Cu konsantrasyonuna farklı dozda Pb uygulamalarının etkisi en yüksek 400 ve 200 mg/kg Pb dozunda (sırasıyla 4.21 ve 4.05 mg Cu/kg), en düşük Cu konsantrasyonuna ise 0 mg/kg Pb doz uygulamasında (2.79 mg Cu/kg) görülmüştür (Çizelge 4.12). Ancak, Fe konsantrasyonlarına farklı dozda Pb uygulamalarının etkisi önemli bulunmamıştır.

Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının Cu ve Fe konsantrasyonları üzerine çeşitdoz etkisini Şekil 4.8 ve 4.9'de verilmiştir.



Şekil.4.9. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının Cu konsantrasyonu üzerine çeşit doz interaksyonu

Şekil 4.9'da görüldüğü gibi Pb uygulamalarının 25 mg Pb/kg dozu dışında transgenik tütün bitkilerinin Cu konsantrasyonunun transgenik olmayan tütünlere göre daha fazladır. En yüksek Cu konsantrasyonu 200 mg Pb/kg dozunda transgenik tütün bitkilerinde ölçülmüştür.



Şekil.4.10. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının Fe konsantrasyonu üzerine çeşit doz interaksyonu

Şekil 4.10'da görüldüğü gibi tütün bitkilerinde Fe konsantrasyonuna farklı dozda Pb uygulamalarının etkisi önemli bulunmamıştır. Bu sonuç Çizelge 4.12 ile de desteklenmektedir.

Farklı dozda kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerin Zn ve Mn konsantrasyonu değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (% D.K.) Çizelge 4.13'de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde Zn ve Mn konsantrasyonu değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.)

Varyasyon Kaynağı	S.D.	Zn (mg/kg)		Mn (mg/kg)	
		Kareler ortalaması	F Değeri	Kareler Ortalaması	F Değeri
Tekerrür	2	0.71	0.38	54.65	2.46
Çeşitler	1	0.15	0.08	193	8.67**
Doz	5	4.67	2.47	136	6.13**
Doz x çeşit	5	2.99	1.58	9.01	0.41
Hata	22	1.89		22.22	
Genel	35				
% D.K.		20.54		6.97	



Çizelge 4.13’de görüleceği gibi farklı dozlarda Pb uygulamasının transgenik p-cV-ChMTII GFP ve transgenik olmayan SR-1 bitkilerinin Zn konsantrasyonu değerleri çeşitler, doz ve doz x çeşit etkileşimi yönünden önemsiz olduğu görülmektedir. Yine Çizelge 4.13’de görüleceği gibi farklı dozlarda Pb uygulamasının transgenik p-cV-ChMTII GFP ve transgenik olmayan SR-1 bitkilerinin Mn konsantrasyonu değerleri yönünden çeşitler ve dozların çok önemli olduğu ( $P<0.01$ ) ancak doz x çeşit etkileşiminin ise önemsiz olduğu görülmektedir.

Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin Zn ve Mn konsantrasyonlarına etkileri Çizelge 4.14’de verilmiştir.

Çizelge 4.14. Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 (*Nicotiana tabacum* Petit Havana) tütün bitkilerinin Zn ve Mn konsantrasyonlarına etkileri

Çeşit	Zn (mg/kg)	Mn (mg/kg)
p-cV-ChMTIIGFP	6.63	69.94a
SR-1	6.76	65.31b
LSD 0.05	Ö.D.	3.26

Kurşun uygulamalarının p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1 tütün bitkilerinin Mn konsantrasyonuna etkisi %5 seviyesine göre önemli bulunurken Zn konsantrasyonuna etkisi önemsiz bulunmuştur.

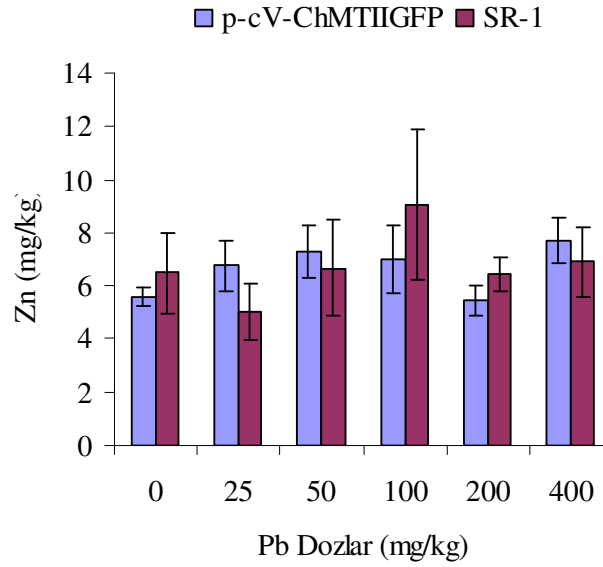
Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) Zn ve Mn konsantrasyonlarına etkileri Çizelge 4.15’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.15. Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) Zn ve Mn konsantrasyonlarına etkileri

Doz (mg/L)	Zn (mg/kg)	Mn (mg/kg)
0	6.03b	67.98bc
25	5.90b	63.05c
50	6.98ba	63.17c
100	8.03a	65.65bc
200	5.93b	70.53ba
400	7.30ba	75.38a
LSD 0,05	1.65	5.64

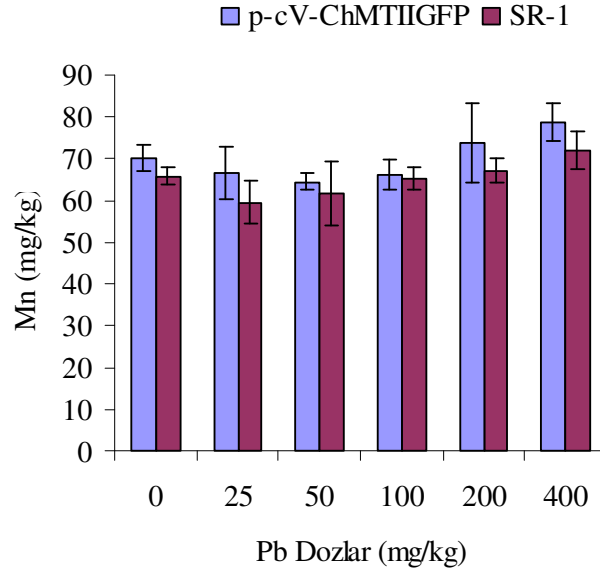
Bitkilerin Mn konsantrasyonuna farklı dozda Pb uygulamalarının etkisi en yüksek 400 mg/kg Pb dozunda (75.38 mg Mn/kg), en düşük Mn konsantrasyonuna ise, 25 ve 50 mg/kg Pb doz uygulamasında (63.05 ve 63.17 mg Mn/kg) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). Ancak Zn konsantrasyonlarına farklı dozda Pb uygulamalarının etkisi önemli bulunmamıştır.

Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının Zn ve Mn konsantrasyonları üzerine çeşit doz interaksyonu Şekil 4.11-4.12’de verilmiştir



Şekil.4.11. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının Zn konsantrasyonu üzerine çeşit doz interaksyonu

Farklı dozda Pb uygulamalarının Zn konsantrasyonlarına etkisi önemli bulunmamıştır bu sonuçlar Çizelge 4.13- 4.14 ve 4.15 ile paralellik göstermektedir.



Şekil.4.12. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının Mn konsantrasyonu üzerine çeşit doz etkisi

p-cV-ChMTIIGFP tütün bitkisi SR-1 bitkisine oranla topraktan daha fazla Mn almıştır. Mn konsantrasyonu her iki bitki çeşidinde dozlardaki artışla azalmış ancak 100 mg Pb/kg dozundan itibaren Mn konsantrasyonu tekrar artmıştır.

Farklı dozda kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerin (%) N, P ve K konsantrasyonu değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (% D.K.) Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.16. Kurşun uygulamalarının transgenik ve transgenik olmayan bitkilerde (%) N, P ve K konsantrasyonları değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve değişim katsayısı (%D.K.)

Varyasyon Kaynağı	S.D.	N (%)		P (%)		K (%)	
		Kareler ortalaması	F Değeri	Kareler Ortalaması	F Değeri	Kareler Ortalaması	F Değeri
Tekerrür	2	0.023	0.75	0.000	0.42	0.045	1.33
Çeşitler	1	0.030	0.96	0.0023	50.01**	1.690	50.10**
Doz	5	0.226	7.25**	0.005	102.09**	0.411	12.19**
Doz x çeşit	5	0.022	0.70	0.001	31.03**	0.196	5.80**
Hata	22	0.031		0.000		0.034	
Genel	35						
% D.K.		11.00		2.21		2.79	

Çizelge 4.16'dan da görüleceği gibi farklı dozlarda Pb uygulamasının transgenik p-cV-ChMTII GFP ve transgenik olmayan SR-1 bitkilerinin (%) N konsantrasyonu değerleri yönünden dozun çok önemli olduğu ( $P<0.01$ ), çeşitler ve doz x çeşit interreaksiyonunun ise önemsiz olduğu görülmektedir. Diğer yandan farklı dozlarda Pb uygulamasının transgenik p-cV-ChMTII GFP ve transgen olmayan SR-1 bitkilerinin (%) P ve K konsantrasyonu değerleri yönünden doz, çeşitler ve doz x çeşit interreaksiyonunun çok önemli olduğu görülmektedir ( $P<0.01$ ).

Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin N, P ve K içeriklerine etkileri Çizelge 4.17'de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Kurşun uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin N, P ve K içeriklerine etkileri

Çeşit	N (%)	P (%)	K (%)
p-cV-ChMTIIGFP	1.63	0.32a	6.79a
SR-1	1.58	0.30b	6.36b
LSD 0.05	Ö.D.	0.005	0.13

Ö.D.:Önemli Değil

Kurşun uygulamalarının p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1 tütün bitkilerinin (%) N konsantrasyonuna etkisi önemsizken (%) P ve K konsantrasyonlarına etkisi %5 seviyesine göre önemli bulunmuştur.

Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) N, P ve K içeriklerine etkileri Çizelge 4.18'de verilmiştir.

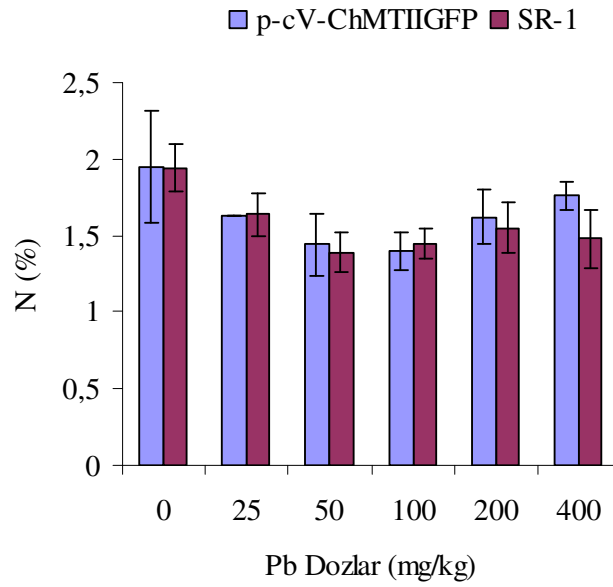
Çizelge 4.18. Farklı Pb dozlarının tütün bitkilerinin (p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1) N, P ve K içeriklerine etkileri

Doz (mg/L)	N (%)	P (%)	K (%)
0	1.95a	0.35a	6.90a
25	1.64b	0.32b	6.86a
50	1.42c	0.32b	6.50cb
100	1.42c	0.30c	6.59b
200	1.59cb	0.29c	6.25d
400	1.62cb	0.27d	6.37cd
LSD 0.05	0.21	0.008	0.22

Bitkilerin (%) N konsantrasyonuna farklı dozda Pb uygulamalarının etkisi en yüksek 0 mg/kg Pb dozunda (% 1.95 N), en düşük N konsantrasyonuna ise 50 ve 100 mg/kg Pb doz uygulamasında (% 1.42 N) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.18).

Farklı dozda Pb uygulamalarının bitkilerin % P konsantrasyonuna etkisi en yüksek 0 mg/kg Pb dozunda (% 0.35 P), en düşük P konsantrasyonuna ise 400 mg/kg Pb doz uygulamasında (% 0.27 P) tespit edilmiştir. Diğer yandan farklı dozda Pb uygulamalarının bitkilerin % K konsantrasyonuna etkisi en yüksek 0 ve 25 mg/kg Pb dozunda (% 6.90-6.86 K), en düşük K konsantrasyonuna ise 200 mg/kg Pb doz uygulamasında (% 6.25 K) tespit edilmiştir.

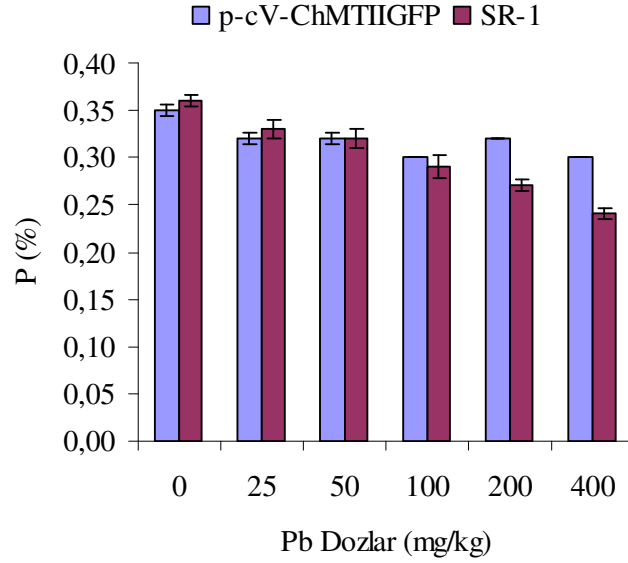
Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP tütün bitkisi ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının (%) N içeriği üzerine çeşit doz interaksiyonunu Şekil 4.13’de verilmiştir.



Şekil.4 13. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının (%) N içerikleri üzerine çeşit doz interaksiyonu

Kurşun uygulamalarının p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1 tütün bitkilerininin (%) N konsantrasyonuna etkisi önemsiz bulunmuştur.

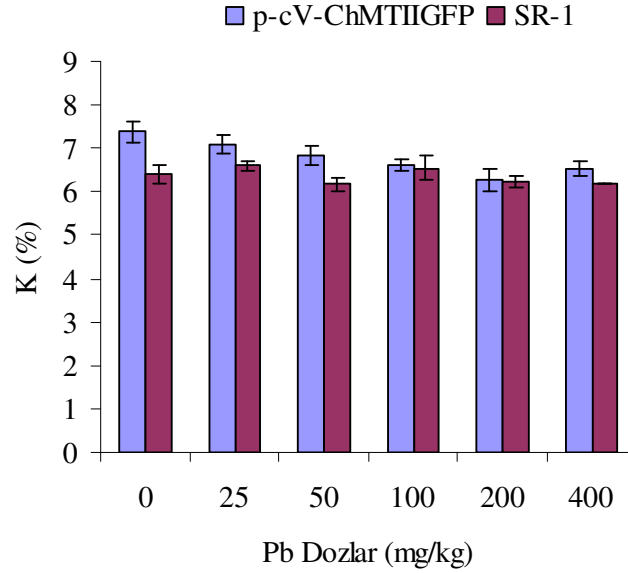
Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının (%) P içeriği üzerine çeşit doz interaksyonu Şekil 4.14'de verilmiştir.



Şekil.4.14. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının (%) P içerikleri üzerine çeşit doz interaksyonu

Kurşun uygulamalarının p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1 tütün bitkilerinin (%) P konsantrasyonuna etkisi %5 düzeyine göre önemli bulunmuştur.

Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP tütün bitkisi ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının (%) K içeriği üzerine çeşit doz interaksyonu Şekil 4.15'de verilmiştir.



Şekil.4.15. Farklı Pb dozu uygulamalarının transgenik p-cV-ChMTIIGFP ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının (%) K içerikleri üzerine çeşit doz interaksyonu

Kurşun uygulamalarının p-cV-ChMTIIGFP ve SR-1 tütün bitkilerinin (%) K konsantrasyonuna etkisi önemli bulunmuştur. p-cV-ChMTIIGFP tütün bitkisi SR-1 bitkisine oranla topraktan daha fazla K almıştır. Potasyum konsantrasyonu p-cV-ChMTIIGFP bitki çeşidinde dozlardaki artışla azalmıştır.

Sonuç olarak artan dozlara Pb uygulaması her iki bitkide de Pb alımını arttırırken diğer besin elementlerinin alımını azaltma eğilimi göstermiştir. Bu durum yapılan araştırmalara göre Pb toksisitesinin bitkide elementlerin (K, P, Mg, Ca, N, vb.) alımını azaltması ya da engellemesinden kaynaklandığını göstermiştir (Sharma ve Dubey, 2005; Walker ve ark., 1997; Özbek ve ark., 1993).

Transgenik p-cV-ChMTIIGFP bitkisi SR-1 bitkilerine göre daha fazla Pb ve besin elementini almış ve Pb toksisitesine dayanıklılık göstermiştir. Benzer sonuçlar birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir.

Toprakta yüksek konsantrasyonlarda Pb bulunması bitkilerin mineral beslenmesinde dengesizliğe neden olur. Bir çok gözlemde Pb'un dolaylı olarak hücre içindeki mineral dengesizliğe neden olduğu görülmüştür (Sharma ve Dubey., 2005).

Kabata-Pendias (1992), Pb toksisitesi altında bitkilerin mineral besin içeriklerinde ve besin elementlerinin oranlarında önemli değişiklikler meydana geldiğini



bildirmektedir. Birçok durumda Pb bazı katyonların (K, Ca, Mg, Mn, Zn, Cu, Fe) ve anyonların ( $\text{NO}_3$ ) kök sistemine girişini engellemektedir (Sharma ve Dubey, 2005).

Pb toksisitesi enzim aktivitelerini engeller, mineral beslenmeyi ve su dengesini bozar, hormonal durumu değiştirir ve membran geçirgenliğini azaltır (Sharma ve Dubey, 2005). Mısır fidelerinde Pb toksisitesi K iyonlarının kök hücresinden sızmasına neden olur (Malkowski ve ark., 2002).

Kurşun toksisitesi altında makro ve mikro elementlerin alımının azalmasında 2 mekanizmanın etkili olduğu öne sürülmüştür. 1. mekanizma, fiziki olarak adlandırılan ve metal iyonlarının yarıçaplarına dayanan, 2. mekanizma ise kimyasal mekanizma olarak tanımlanan ve Pb metalinin membran strüktürüne ve enzim aktivitelerinin değişmesine yol açarak hücre metabolizmasının bozulmasına dayanır. Kurşun birçok iyonun kökler tarafından adsorbe edilmesini bloke etmektedir. Kurşuna maruz kalmış köklerin ucunda Ca, Fe, Zn düzeyleri azalmaktadır. Örneğin Norveç ladinin iğne yapraklarında, Pb uygulaması ile Ca ve Mn düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Bu durumun kök ve kök uçlarının zarar görmesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Sharma ve Dubey, 2005).

Benzer şekilde *Picea abies* bitkisinin iğne yapraklarının Mn düzeyi Pb uygulaması ile azalmıştır (Sieghardt, 1988).

*Cucumis sativus* fidelerinde Pb uygulaması K, Ca, Mg, Fe ve  $\text{NO}_3^-$  alımını, mısır bitkisinde ise Ca, Mg, K, P alımını azaltmıştır (Walker ve ark., 1997).

Kurşun besin elementlerin farklı bitki organlarındaki genel dağılımını etkiler. Kurşun toksisitesi altında Mn ve S'ün genel dağılım oranı kök ve yeşil aksamda değişir.

Kök N içeriği Pb toksisitesi altında önemli bir şekilde azalır. Pb'den dolayı nitrat alımının azalması, Pb tarafından yaratılan nem stresinin sonucu olabilir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında Çin kobay faresinden izole edilen MT-II geni aktarılmış transgenik tütün (p-cV-ChMTIIGFP) ve kontrol tütün (SR-1) bitkilerinin, toprağa artan dozlarda uygulanan Pb metalini alma, biriktirme ve tolerans düzeyleri araştırılmış ve kıyaslanmıştır.

Artan dozlarda Pb uygulanmış topraklarda yetiştirilen her iki tütün bitkisinde de Pb toksisite belirtileri gözlenmemiştir. Toprağa 400 ppm'e kadar Pb uygulandığında bile toprakta gerçekleşen reaksiyonlar ve bitki kökünün tamponlayıcı etkisi nedeniyle toksik seviyelerde Pb toprak üstü aksama taşınmamıştır. Bu dozdan daha yüksek dozlarda belirgin toksisite belirtilerine rastlanabileceği tahmin edilmektedir.

Bu sebeplerden dolayı gelecekte yapılacak denemelerde Pb dozlarının artırılarak kök ve yeşil aksamda biriktirilen Pb miktarlarının belirlenmesi ve toksisite semptomlarının gözlenmesi gerekmektedir.

Kurşun toksisite semptomları görülmeyen bitkilerde klorofil içerikleri bakımından dozlar arasında büyük farklılıklar görülmemektedir. Ancak daha yaşlı olan ve Pb'a daha uzun süre maruz kalan alt yapraklar daha genç olan üst yapraklardan daha az klorofil içeriklerine sahip oldukları görülmüştür. Ayrıca p-cV-ChMTIIGFP bitkisinin alt yapraklarının kontrol bitkisine (SR-1) oranla daha fazla klorofil içeriğine sahip oldukları, üst yaprakların ise klorofil içerikleri bakımından her iki bitkide de önemli fark göstermedikleri tespit edilmiştir.

Deneme sonucunda p-cV-ChMTIIGFP bitkisinin SR-1 kontrol bitkisine göre daha fazla yağ ağırlık ürettiği belirlenmiştir.

Artan dozlarda Pb uygulamaları ile birlikte transgenik p-cV-ChMTIIGFP tütün bitkisinin transgenik olmayan SR-1 bitkisine göre daha fazla Pb aldığı saptanmıştır. Aynı şekilde, bu durum transgenik tütün bitkisinin bir ağır metal olan Pb alım ve tolerans yeteneğinin transgenik olmayan SR-1 tütün bitkisinden daha fazla olduğunu göstermektedir. Ayrıca 400 mg Pb/kg dozunda bitkilerin herhangi bir toksisite göstermemiş olması da bitkinin daha yüksek Pb dozlarında da gelişme gösterebileceğini göstermektedir.

Yüksek miktarda (400 ppm'e kadar) Pb ilavesi Cu elementinin alımını arttırmış, Fe, Zn ve Mn alımını etkilememiştir. Diğer yandan Pb dozlarındaki artışla N, P ve K besin elementlerinin alımını olumsuz olarak etkilemiştir.

p-cV-ChMTIIIGFP tütün bitkisi SR-1 bitkisine oranla topraktan daha fazla Mn almıştır. Mangan konsantrasyonu her iki bitki çeşidinde de dozlardaki artışla azalmış ancak 100 mg Pb/kg dozundan itibaren Mn konsantrasyonu tekrar artmıştır.

Farklı dozlarda Pb uygulamasının transgenik p-cV-ChMTII GFP ve kontrol SR-1 bitkilerinin (%) N konsantrasyonu değerleri yönünden dozun çok önemli olduğu ( $P<0.01$ ), çeşitler ve doz x çeşit intereaksiyonunun ise önemsiz olduğu saptanmıştır. Diğer yandan farklı dozlarda Pb uygulamasının transgenik p-cV-ChMTII GFP ve transgen olmayan SR-1 bitkilerinin (%) P ve K konsantrasyonu değerleri yönünden doz, çeşitler ve doz x çeşit intereaksiyonunun çok önemli olduğu saptanmıştır ( $P<0.01$ ).

Yukarıda da değinildiği gibi transgenik tütün bitkisinin topraktan kaldırdığı Pb miktarının transgenik olmayan SR-1 tütün bitkisinden daha fazla olması elde etmek istediğimiz bir sonuçtur. Fitoekstraksiyon yöntemi için geliştirilen p-cV-ChMTIIIGFP bitkisinin 400 mg Pb/kg dozuna kadar herhangi bir toksisite göstermemiş olması da bu bitkinin daha yüksek Pb dozlarına karşı toleranslı olabileceğini göstermektedir. MT-II geni aktarılmış transgenik tütün bitkisi topraktan daha yüksek oranda Pb kaldırma yeteneğine sahiptir. Dolayısıyla bu transgenik bitki Pb ile kirletilmiş toprakların fitoekstraksiyonla temizlenmesinde kullanılma potansiyeli olabileceği tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması; endüstri, sanayi, madencilik ve gübreleme gibi yollarla Pb'la kirletilmiş toprakların en uygun ve en ucuz teknolojiyle ıslah edilmesi açısından potansiyel önem taşımaktadır. Bu yöntem diğer yöntemlerden farklı olarak, çok geniş bir alana uygulanabilir ve estetik olarak çevreye farklı bir görünüm kazandırabilir. Ayrıca, fiziksel yöntemlerden çok daha farklı olarak bitki kullanılarak rüzgâr ve su erozyonu azaltılabilir. Bu şekilde taneciklerle kirletilmiş alandan başka alanlara bulaşma önemli derecede önlenir.

**KAYNAKLAR**

- (Anonim, 2009a)([www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136\\_4753.pdf](http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf) -)
- (Anonim, 2009b)(<http://tr.wikipedia.org/wiki/Kur%C5%9Fun>)
- Alloway, B.J. 1990. **Heavy Metals in Soils John Wiley & Sons**, 1 Wiley Drive, somerset, New Jersey
- Alpaslan M., A.Güneş ve A. İnal. 1998. **Deneme Tekniği**. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:1502, Ders Kitabı: 455, 437 s.
- Baker AJM, Brooks RR (1989) **Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements**– a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1:81-126.
- Bayçu, G., Erüz, E., Caner, H., Gönençgil, B., 1999. **Heavy Metal Stress and Peroxidases: II. Peroxidase Activity and Chlorophyll Content in 84 Response to Cadmium and Lead in Cedrus libani A. Rich. Plant Peroxidase Newsletter, Laboratory of Plant Biochemistry and Physiology, Vol. 12: 12-16.**
- Bekiaroglou, P., Karataglis, S., 2002. The effect of lead and zinc on *Mentha spicata*. **J. Agronomy & Crop Science**,188, 201-205.
- Burton, G. W. and INGOLD, K. U., 1984. **Carotene: An unusual Type of Lipid Antioxidant**. *Science*, 224: 569-573.
- Blayblock, M. J. (2000). Field demonstration of phytoremediation of lead-contaminated soils. **In: Phytoremediation of contaminated soil and water, pp. 1-12.** Edited by B. G. Terry N: CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Bouyoucus, G. J. (1952). **A recalibration of hydrometer for making mechanical analysis of soils**. *Agron. J.* 43, 434-438.
- Bremner, J.M., (1965). Total nitrogen. **In. C.A. Black et al (ed). Methods of Soil Analysis. Part 2.** *Agronomy* 9:1149-1178. Am. Soc .of Agron., Inc. Madison, Wisconsin, USA.
- Ceritli, I., (1997). **Türkiye'nin Toprak Sorunu. Ekoloji**, Sayı 22.
- Chaney, R. L. (1983). **Plant uptake of inorganic waste. In: Land treatment of hazardous wastes**, pp:56-76, Parr JE, Marsh P.B., Kla (eds)Noyes Data, Park Ridge, III.
- Chaney, R., Malik M, Li Y. M., Brown S. L., Brewer E. P., Angle J. S. and Baker A. J. M. (1997). Phytoremediation of soil metals. *Curr.Op. Biotechnology Letters* 8, 279-284.
- Cunningham, S. D., Berti W.R. and Huang J.W. (1995). Phytoremediation of contaminated soils. **Trends Biotechnol.** 13, 393-397.
- Çavuşoğlu, K. ve Çavuşoğlu, K., (2005). *Cupressus Sempervirens L. Ve Cedrus Libanı A. Rich. Yapraklarında Taşıtların Sebep Olduğu Kurşun (Pb) Kirliliğinin Araştırılması. BAÜ Fen bil. Enst. Dergisi*, 7.2.
- Çepel, N., (2003). **Ekolojik Sorunlar ve COZUMLERİ. TUBITAK Populer bilim kitaplari**, Ankara.
- Dağhan, H. (2007). Fitoremediasyon: Bitki kullanılarak kirlenmiş toprakların temizlenmesi **GAP V. Tarım Kongresi Kitabı** (17-19 ekim 2007) sf:362-367. Urfa,
- Dağhan, H., (2004). **Phytoextraction of heavy metal from contaminated soils using genetically modified plants**. PhD thesis, Mathematik, Informatik und Naterwissenschaften Fakultat der RWTH-Aachen.

- Delibacak, S., Elamcı, O.L., Secer, M. and Bodur, A., 2002. Fertility status, trace elements and heavy metal pollution of agricultural land irrigated from the Gediz River. *Inter. Journal of Water*, Vol.2, No 2/3, pp. 184-195.
- Doğan, M., ve , Çolak, U., (2009). Triticum aestivum L. cv. Tosunbey'e Uygulanan Kurşunun Bazı Fizyolojik Özelliklere Etkisi. *Ekoloji* 19, 73, 98-104 (2009)
- EPA (2000). **Introduction to phytoremediation. Environmental Protection Agency Office of Solid Waste and Emergency Response Technology.**
- EPA 3050B, <http://www.epa.gov/region9/lab/sops/sop405.html>.
- Gezgin, S., (2005), <http://cevrekoruma.sitemynet.com/cevre/id1.htm>.
- Gupta, K.D., 2008 Phytoremediation of induced lead toxicity in vigna mungo (L) hepper by vetiver grass. **The vetiver system for Environmental Protection and Natural Disaster Management** pp.126-135 cochin india.
- Gisbert, C., Ros, R., De Haro, A., Walker, D.J., Bernal, M.P., Serrano, R., Navarro-Aviñó, J. 2003. **A plant genetically modified that accumulates Pb is specially promising for phytoremediation. Biochemical and Biophysical Research Communications** 303: 440-445.
- Göksün ,V., (2009). **Tütün bitkisinin farklı sulama düzeyleri ve kadmiyum dozlarında topraktan ağır metal alımının araştırılması.** Yüksek Lisans tezi, MKÜ Fen Bilimleri Ens., Tarımsal yapılar ve sulma Anabilimdalı, Sayfa Sayısı:117. Hatay.
- Glass, D. (1999). Markets for phytoremediation 1999-2000. Glass Associates, Needham, Mass., <http://www.channel1.com/dglassassoc/index.htm>.
- Güler. S., (2006). **Çukurova Üniversitesi yerleşke alanındaki yollarda kullanılan bitki türlerinin çevre niteliğini artırma yeteneklerinin belirlenmesi.** Yüksek Lisans tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Ens., Peyzaj Mimarlığı Anabilimdalı, Adana. Sayfa Sayısı:97
- Haktanır, K., Arcaç S., 1998, A.Ü.Z.F. **Çevre Kirliliği Ders Kitabı** (457), yayın no:1503.
- Huang JW, Cunningham SD (1996) **Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation.** *New Phytol* 134:75-84.
- Kabata-Pendias A, Pendias. H (1992) **Trace elements in Soils and Plants**, 2<sup>nd</sup> edn. CRC Press, Boca Raton, London.
- Kacar, B., 1984. **Bitki Besleme Uygulama Klavuzu** A.Ü.Zir. Fak. Yayınları No:900 Ankara
- Kacar, B., (1995). **Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri, III.** Toprak Analizleri. A.Ü. Ziraat Fak. Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları No:3,704 s. Ankara
- Kayser, A. (2000). Evaluation and enhancement of Phytoextraction of heavy metals from contaminated soils. **In Swiss Federal Institute of Technology Zürich**, PhD thesisi, pp. 153. Zürich.
- Keser, G., (2005). **g.Nasturtium officinale R. Br.'de kurşunun strese bağlı enzimlerin aktivitelerine, gelişmeye, mineral ve klorofil içeriğine etkileri.** Yüksek Lisans tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Ens., Biyoloji Anabilimdalı, Sayfa Sayısı:95 Adana.
- Kumar NPBA, DushenkovV, Motto H, Raskin I (1995) Phytoremediation: the use of plants to remove heavy metals from soils. **Environ. Sci. Technol.** 29: 1232-1238

- Koeppel, D.E., 1977. The **Uptake, Distribution, and Effect of Cadmium and Lead in Plants**. *Sci. Total Environ.* 7: 197-206.
- Khan, Samiullah and Khan, N. N., 1983. Influence of Lead and Cadmium on The Growth and Nutrient Concentration of Tomato (*Lycopersicum esculentum*) and egg-plant ( *Solanum melongena*). **Plant and Soil**. 74: 387-394.
- Krämer, U. and Chardonnens, A. N. (2001). **The use of transgenic plants in the bioremediation of soils contaminated with trace elements**. *Appl Microbiol Biotechnol.* 55, 661-672.
- Lane SD, Martin ES (1977) Ahistochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus*. **New Phytol.** 79:281-286
- Landis, W.G., and Yu, W.H., 2004. **Environmental Toxicology**. CRC Pres. LLC, Boca Raton, FL. 483s.
- Lee, J. Y., Lee, D.H., 2003. **Use of serial analysis of gene expression technology of reveal changes in gene expression in polen undergoing cold stres**. *Plant Physiol.* 132, 517-529
- Lefebvre, D. D., Miki, B.L. and Laliberte , J .F. (1987). **Mammalian metallothionein functions in plants**. *Bio. Technology* 5, 1053-1056.
- Lewander, M., Greger, M., Kautsky, I., Szarck, E., 1996. Macrophytes as Indicators of Bioavailable Cd, Pb and Zn Flow in the River. **Przemsza, Katowice Region. Appl. Geochem.** 11: 169-173
- Lewis, M.A., 1995. **Use of Fresh Water Plants for Phytotoxicity Testing: A Review. Environ. Pollut.** 87: 319-336.
- Lindsay, W. L., (1979). **Chemical Equilibria in Soils**. Wiley and Sons, N.Y., 449 p.
- Lindsay, W.L., and W.A. Norvell. (1978). Development of a DTPA test for zinc, iron, manganese, and copper. **Soil Science Society American of Journal** 42:421-428.
- Liu, J. R., Suh, M. C. and Choi, D. (2000). Phytoremediation of cadmium contamination: **Overexpression of metallothionein in transgenic tobacco plants**. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitforsch- Gesundheitsschutz* 43, 126-130.
- Loeppert, R. H. and Suarez, D. L. (1996). **Carbonate and gypsum. In Methods of soil analysis. Part 3. Chemical Methods**, pp. 437-474. Edited by D.L. Spark. Madison, Wisconsin, USA.
- Malkowski E, Kita A, Galas W, Karez W, Michael K (2002) Lead distribution in corn seedlings (*Zea mays* L.) and its effect on growth and the concentration of potassium and calcium. **Plant Growth Regul.** 37:69-79
- Miller RJ, Koeppel DE (1971) **Accumulation and physiological effects on lead on corn**. In: proceedings of university of Missouri, Columbia 4, pp. 186-193
- Oberlander, H. E., and Roth, K., 1978. **The Effect of Heavy Metal Chromium, Nickel, Copper, Zinc, Cadmium, Mercury and Lead on The Intake and Deposition of Calcium and Phosphate in Young Barley Plants**. *J. Plant Nutr. Manure, Soil Sci.* 141: 107-116.
- Olsen, S.R., C.V. Cole, F.S. Watanabe, and L.A. Dean, (1954). **Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate**. *US Dept. of Agric. Cric.* 939.
- Özbek, H., Kaya, Z. ve Kaptan, H., (1993). *Toprak Bilimi. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Kitabı*, Yayın No:16, 793sayfa.

- Pilon-Smits, E. and Pilon M (2000). Breeding mercury-breathing plants for environmental clean-up. **Trends Plant Sci.** 5, 235-236.
- Raskin, I, Kumar PN, Dushenkov JR, Salt DE (1994) **Bioconcentration of heavy metals by plants.** *Curr. Opin. Biotechnol.* 5:285-290
- Raskin, I, (1996). Plant genetic engineering may help with environmental clean-up. **The Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, 93, 3164-3166.
- Raskin, I, Smith R. D. and Salt D. E. (1997). **Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment.** *Curr. Op Biotech.* 8, 221-226.
- Richards, L.A (1954). **Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils.** United States Department of Agriculture Handbook 60:94.
- Reeves RD, Brooks RR (1983) European species of *Thlaspi* L. (Cruciferae) as indicators of nickel and zinc. **J Geochemical Exploration** 18: 275-283
- Robinson, B H, (1997). **The phytoextraction of heavy metals from metalliferous soils.** PhD thesis, Massey University New Zealand, 90 p.
- Romeiro S. Ana M.M.A. Lagôa, Pedro R. Furlani, Cleide A.de Abreu; Mônica F. de Abreu, Norma M. Erismann (2006) **Lead uptake and tolerance of *Ricinus communis* L.** *Braz. J. Plant Physiol* vol.18 no.4.
- Salt, D. E., Blaylock M, Kumar P. B. A. N., Dushenkov S, Ensley B. D., Chet I. and Raskin I., (1995). Phytoremediation: **A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants.** *Bio. Tech.* 13, 468-474.
- Sauerbeck, D.,1983. **Landw. Forsch. Sonderh**, 39: 108-129.
- Sharma, P. and Dubey, R.S., (2005). **Lead toxicity in plants.** *Brazilian Journal of Plant Physiol.* 17/1. 35-52.
- Sieghardt H (1988) Schwermetall-und Nahrelementgehalte von Pflazen und odenproben schwermetallhaltiger **Halden im Raum Bleiberg in Karnten (Osterreich).** **II.Holzpfazen. Z. Pflazenenernahr.** *Bodenk* 151:21 26.
- Soil Survey Staff. (1951). **Soil Survey Manual. U.S.Dept. agr. Handbook No:18, U.S Government Print Office,** Washington.
- Song, W.Y., Sohn, E. J., Martinoia E., Lee, Y. J., Yang, Y. Y., Jasinski, M., Forestier, C., Hwang, I. And Lee, Y., (2003). Engineering tolerance and accumulation of lead and cadmium in transgenic plants. **Nature Biotechnology**, 21:8, 914-919.
- Sönmez, O., Aydemir, S., ve Saygan, E., 2007. Kurşun ve Kurşun Alınabilirliğinin Belirlenmesi. **Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 11(3/4) :1-8
- Suh, M. C., Choi, D. and Liu, J. R. (1998). **Cadmium resistance in transgenic tobacco plants expressing the *Nicotiana glutinosa* L. metallothionein-like gene.** *Mol. Cells* 8, 678-84.
- SW-846 EPA Method 3050B, (1995). Acid digestion of sediments, sludges and soils, **in: Test Methods for Evaluating Solid Waste, third ed, 3rd Update, US Environmental Protection Agency,** Washington DC.
- SW-846 EPA Method 3051, (1995). Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils, **in: Test Methods for Evaluating Solid Waste, third ed, 3rd Update, US Environmental Protection Agency,** Washington DC.
- Utsunomyia, T. (1980). **Japanese patent application,** No 55-72959.
- Verma, S. And Dubey, R. S., 2003. Lead Toxicity Induces Lipid Peroxidation and Alters the Activities of Antioxidant Enzymes in Growing Rice Plants. **Plant Science** 1-11.

- Walker Wm, Miller JE, Hassett JJ (1977) **Effect of lead and cadmium upon the calcium, magnesium, potassium and phosphorus concentration in young corn plants.** Soil Sci. 124:145-151
- Yalçın, M., (2004). **Amik Ovası topraklarının temel kimyasal ve fiziksel özelliklerinin belirlenmesi.** Yüksek Lisans tezi, MKÜ Fen Bilimleri Ens., Toprak Anabilimdalı, Sayfa Sayısı:117. Hatay.
- Yu, M. H., 1991. Effects of Lead, Copper, Zinc, and Cadmium on Growth and Soluble Sugars in Germinating Mung Bean Seeds. **Abstracts of the 12th Annual Meeting of The Society of Environmental Toxicology and Chemistry.** Seattle, WA, s. 169.
- Yılmaz, F., Yılmaz, Y. Z., Ergin, M., Erkol, A. Y., Muftuoglu, A. E. and Karakelle, B., (2003). Heavy Metal Concentrations in Surface Soils of Izmit Gulf Region, Turkey, **Soil And Environmental Sciences.**
- Zengin, F. K. ve Munzuroğlu, Ö., (2004). Fasulye Fidelerinin (Phaseolus Vulgaris L.) Kök, Gövde Ve Yaprak Büyümesi Üzerine Kurşun (Pb++) Ve Bakır (Cu++)'In Etkileri. **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi**,17(3):1-10.



## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında büyük bir titizlik, sabır ve özveriyle bana destek olan, yol gösteren ve iyi bir bilimsel çalışma ortamı sağlayan danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Hatice DAĞHAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında değerli görüş ve deneyimlerini esirgemeyen sayın Yrd. Doç. Dr. Veli UYGUR' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Verilerin istatistiksel analizlerinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Mehmet ARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında manevi desteklerini esirgemeyen hocalarım sayın Prof. Dr. Sermet ÖNDER ve Yrd. Doç. Dr. Derya ÖNDER'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuar çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Zir. Yük. Müh. Volkan GÖKSÜN, Tarımsal Yapılar ve Sulama bölümü Yük. Lisans öğrencisi Murat TURAN, Tarımsal Yapılar ve Sulama bölümü öğrencileri, Duygu ERSAN ve Fatma AK'a teşekkürlerimi belirtirim.

Tez çalışmalarım sırasında manevi desteğini esirgemeyen hayatımın her aşamasında bana destek olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZGEÇMİŞ

1980 Mardin Kızıltepe doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimimi aynı ilde tamamladım. 2002 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim Programını kazandım. 2007 yılında Ziraat Fakültesi Toprak alt bölümünden mezun oldum. 2007 yılında aynı Fakültenin Toprak Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladım. Halen aynı bölümde yüksek lisans öğrencisi olarak bulunmaktayım

2009 yılında Antakya Ziraat Odası'na bağlı Toprak, Bitki ve Su analiz Laboratuvar'ında sorumlu yönetici olarak göreve başladım. Halen aynı işyerinde görevime devam etmekteyim.