

Nano-ZnO Uygulamasının
Tütün Bitkisinin Kadmiyum Fitoekstraksiyonuna Etkisinin Araştırılması

Merve Beşer

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı

Aralık 2019

An Investigation on the Effect of Nano-ZnO Application on Cd
Phytoextraction by tobacco plant

Merve BEŞER

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Soil Science and Plant Nutrient

December 2019

Nano-ZnO Uygulamasının
Tütün Bitkisinin Kadmiyum Fitoekstraksiyonuna Etkisinin Araştırılması

Merve Beşer

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmelięi Uyarınca
Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı
Bitki Besleme Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Hatice Dağhan

Aralık 2019

ONAY

Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Merve Beşer'in YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı, "Nano-ZnO Uygulamasının Tütün Bitkisinin Kadmiyum Fitoekstraksiyonuna Etkisinin Araştırılması" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Hatice Dağhan

İkinci Danışman : -

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye : Prof. Dr. Hatice Dağhan

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul Kardeş

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Abdullah Eren

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hürriyet ERŞAHAN
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Hatice DAĞHAN danışmanlığında hazırlamış olduğum, “Nano-ZnO Uygulamasının Tütün Bitkisinin Kadmiyum Fitoekstraksiyonuna Etkisinin Araştırılması” başlıklı tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 27.12.2019

Merve Beşer

ÖZET

Bu çalışmada, Cd ile kirlenmiş toprakların iyileştirilmesi için fitoekstraksiyon yönteminin ve nanomateryallerin birlikte kullanılması ve aynı zamanda nanomateryallerin bitkiler üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla ülkemizde kullanımı giderek yaygınlaşan, kuraklığa ve sıcaklığa dayanıklı, bol yeşil aksama sahip, ülkemizin hemen hemen her yerinde yetiştirilebilen tütün bitkisi bitki materyali olarak kullanılmıştır. Bitkiler, artan dozlarda ZnO-NP (0-1-5 mg/L) ve Cd (0-1-3 mg/L) uygulanmış Hoagland besin çözeltisi ortamında 20 gün boyunca kontrollü koşullarda (16/8 saat ışık/karanlıkta, 25/20 °C sıcaklık ve % 60 nem, ışık yoğunluğu 10 klux) yetiştirilmiştir. Bitkilerin uygulamalara tepkileri gözlemlenmiş ve analiz sonuçları değerlendirilmiştir. Deneme sonunda yaprakların klorofil içeriği SPAD metre ile ölçüldükten sonra bitkiler hasat edilmiştir. Bitki örneklerinin yeşil aksam ve kök kuru ağırlıkları ve çinko (Zn), kadmiyum (Cd), azot (N), fosfor (P), potasyum (K), demir (Fe), bakır (Cu) ve mangan (Mn) konsantrasyonları belirlenmiştir.

Çinko oksit NP uygulamalarındaki artışla yeşil aksam ve kök Zn konsantrasyonu artmıştır. Çinko konsantrasyonu yeşil aksamda 17,84-3,360 mg/kg arasında ve kökte ise 39,74-8,80 mg/kg arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Artan Cd uygulamaları bitkilerin kök ve yeşil aksamlarındaki Cd birikimini arttırmıştır. Diğer yandan ZnO-NP uygulamaları yeşil aksam Cd alımlarını azalmıştır. Yeşil aksamda en yüksek Cd konsantrasyonu (388 mg Cd/kg) ZnO-NP uygulamasının 1 mg/L dozu ile 3 mg Cd/L dozlarının birlikte uygulamasından elde edilmiştir.

Yapılan tez çalışmasında, ZnO-NP uygulamalarının yaprakların klorofil içeriğini ve biomas üretimini arttırarak bitkinin fitoekstraksiyon potansiyeline olumlu etkiye bulunduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tütün, Kadmiyum, Toksikite, Çinko Oksit Nanopartikül

SUMMARY

The aim of this study is to use phytoextraction method and nanomaterials together in order to improve Cd contaminated soils, as well as investigating the effects of nanomaterials on plants. For this purpose, the tobacco plant, whose usage has become widespread in our country, and which is resistant to drought and temperature, has abundant green parts and can be grown almost everywhere in our country, has been used as plant material. Plants were grown in Hoagland nutrient medium with increasing doses of ZnO-NP (0-1-5 mg/L) and Cd (0-1-3 mg/L) under controlled conditions (16/8 hours light/dark, 25/20 °C temperature and 60 % humidity, light intensity 10 klux) for 20 days. The response of the plants to the applications was observed and the results of the analysis were evaluated.

Plants were harvested, at the end of the experiment, after measurement of chlorophyll content of leaves by using SPAD meter. Dry weights of shoot and root parts, and the concentrations of zinc (Zn), cadmium (Cd), nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), iron (Fe), copper (Cu) and manganese (Mn) were determined in all plant samples. The Zn concentration of shoots were determined varies between 17.84-3.360 mg/kg. As for the root, it was found to vary between 39.74-8.80 mg/kg. The Zn concentrations of shoot and the root were increased with the increase dose of ZnO NP applications.

The increasing dose of Cd applications were increased Cd accumulation in the root and shoot parts of plants. On the other hand, Cd uptake of the shoot was decreased with ZnO-NP applications. The highest Cd concentration (388 mg/kg) in the shoot was obtained from 1 mg ZnO-NP/L and 3 mg Cd/L doses together.

In the thesis study, it was determined that ZnO-NP applications had a positive effect on the phytoextraction potential of the plant by increasing the chlorophyll content and biomass production of the leaves.

KeyWords: Tobacco, Cadmium, Toxicity, Zinc Oxide Nanoparticle

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca engin bilgileriyle bana destek olan, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, duruşuyla örnek aldığım değerli hocam Prof. Dr. Hatice Dağhan'a sonsuz teşekkürleri bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmalarım esnasında değerli bilgi ve desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Nurdilek Gülmezoğluna'a, Prof. Dr. Demir Kaya'ya, Dr. Öğr. Gör. Abdullah Eren'e, Dr. Öğr. Gör. Ertuğrul Karas'a, Araş. Gör. Dr. Engin Gökhan Kulan'a, dostluğu ve destekleri için Selver Sağır'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme, her zaman yanımda olan en büyük destekçim eşim Samet Beşer'e gülücükleriyle beni motive eden biricik kızım Duru Beşer'e sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	8
3.MATERYAL VE YÖNTEM	13
3.1. Materyal	13
3.1.1. Nanopartikül materyalleri ve nanopartikül seçim kriterleri	13
3.1.2.Bitki materyali ve seçim kriterleri	13
3.2.Yöntem.....	14
3.2.1. Nanomalzemelerin sentez ve karakterizasyonu	14
3.2.1.1. <u>Çinko oksit nanopartikül (ZnO-NP) hazırlanması</u>	14
3.2.1.2. <u>X-ray kırınımlı XRD analizi</u>	18
3.2.2 Su Kültürü Denemeleri	18
3.2.2.1. <u>Fenolojik gözlemler</u>	19
3.2.2.2. <u>Klorofil içeriği</u>	19
3.2.2.3. <u>Bitki hasadı ve mineral analize hazırlanması</u>	19
3.2.2.4. <u>Bitkilerde nanopartikül ve mineral element analizleri</u>	20
3.2.2.5. <u>İstatistiksel analiz</u>	20
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	21
4.1. Tütün Su Kültürü Denemesi.....	21
4.1.1. Morfolojik gözlemler	21
4.1.2. Klorofil içeriği ve kuru ağırlıklar	23
4.1.3. Yeşil aksam ve kök ZnO-NP ve Cd konsantrasyonları.....	26
4.1.4. Mineral besin elementi konsantrasyonları	28
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	33
KAYNAKLAR DİZİNİ	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3. 1. Adıyaman yerel tütün bitkisinin genel görüntüsü	14
3. 2. ZnONP'lerine ait taramalı elektron mikroskopunun (Scanning Electron Microscope-SEM) görüntüleri	15
3. 3. ZnONP'lerine ait EDX görüntüleri ve analiz sonuçları	16
3. 4. ZnONP'lerine ait taramalı Zeta potansiyeli sonuçları	17
3. 5. Çinko Oksit NP'lerin XRD sonuçları	18
4. 1. Artan dozlarda ZnO-NP uygulamalarının tütün bitkisinin gelişimi ve Cd alımına etkisi.	23

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Artan Dozlarda ZnO-NP ve Cd Uygulamalarının Tütün Bitkisinin Klorofil İçeriğine, Yeşil Aksam Kuru Ağırlığına ve Kök Kuru Ağırlığına Etkisi	24
4.2. Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının tütün bitkisinde yeşil aksam ile kök'te Zn ve Cd konsantrasyonlarına etkisi	27
4.3. Artan Dozlarda ZnO-NP ve Cd Uygulamalarının Tütün bitkisi, yeşil aksamında bazı makro (N, P ve K) ve Mikro (Fe, Cu ve Mn) besin elementi konsantrasyonları üzerine etkileri.....	29
4.4. Artan Dozlarda ZnO-NP ve Cd Uygulamalarının Tütün Bitkisinin Kök Makro (P ve K) ve Mikro (Fe, Cu ve Mn) Besin Elementi Konsantrasyonları Üzerine Etkileri.....	30

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**Simgeler** μM

mM

Açıklama

Mikromolar

Milimolar

Kısaltmalar

ZnO-NP

SEM

TEM

X-RD

ICP-MS

OECD

Açıklama

Çinko Oksit Nanopartikül

Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope)

Geçirimli Elektron Mikroskobu (İng. Transmission Electron
Microscope-TEM)

X-RD X-Işını Kırınımının (X-Ray Diffraction)

İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometre (Inductively coupled
plasma mass spectrometry ICP-MS)Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (Organisation for
Economic Co-operation and Development)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çevremiz her geçen gün inorganik kirleticiler grubunda yer alan ağır metallere kirlenmektedir. Özellikle gıda temini açısından büyük önem taşıyan tarım toprakları; pestisitler, kimyasal gübreler, kirlenmiş sular, endüstriyel faaliyetler gibi etkenlerle ağır metallere kirlenmektedir.

Ağır metaller, metalik özellikler gösteren ve doğal olarak yer kabuğunda bulunan elementlerdir. Ağır metaller oldukça yüksek atom kütleleri ve yüksek yoğunlukları ile karakterize edilen doğal elementlerdir. Bu metaller genellikle, yoğunluğu 5 g/cm^3 den yüksek olan, atom kütlesi 23'den ya da atom numarası 20'den büyük olan metaller olarak tanımlanmaktadır (Koller ve Saleh, 2018).

Bakır (Cu), selenyum (Se), çinko (Zn), demir (Fe) ve mangan (Mn) gibi bazı ağır metaller yaşam süreçleri için zorunludur ve önemli biyolojik süreçler için vazgeçilmez fonksiyonlara sahip önemli elementlerdir. Ancak bu metaller canlı organizmalar için eser miktarlarda gereklidir, aşırı miktarda bu ağır metallerin zararlı etkileri vardır. Demir (Fe), çinko (Zn), kalay (Sn), kurşun (Pb), bakır (Cu), tungsten (w) vb. birçok ağır metal ise sanayi ve teknolojik açıdan büyük bir öneme sahiptir. Son zamanlarda, farklı ağır metaller, özel kimyasal dönüşümler için yapay olarak tasarlanmış "biyoinorganik" katalizörlerin ana atomu olarak görev yapmaktadır. Öte yandan, birçoğu, örneğin cıva (Hg), kadmiyum (Cd), arsenik (As), krom (Cr), kurşun (Pb) ve diğerleri, klasik olarak "kimyanın karanlık tarafını" temsil ederler, fizyolojik bir işlevi yoktur, çok düşük konsantrasyonda bile canlılarda toksik etki gösterirler (Kushwaha vd., 2015; Koller ve Saleh, 2018; Srivastav vd., 2019).

Tipik olarak, ağır metaller yer kabuğunda mg/kg düzeyinde oldukça düşük konsantrasyondan %'de düzeyine kadar yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar. Bu metaller bozunmazlar ve çevrede kararlı bir şekilde kalırlar, zamanla toprakta birikerek kirliliğe neden olurlar (Kushwaha vd., 2015). Toprakta ağır metallerin aşırı birikmesi çoğu bitki için toksik etki yaratır. Bitki kökleri, ortamdaki yüksek konsantrasyonda ağır metal iyonlarını absorbe eder ve yeşil aksama taşır ve bu durum metallerin bitki metabolizmasını etkilemesine ve büyüme engellemenine neden olur. Kirlenmiş

topraktaki yüksek düzeylerde ağır metal konsantrasyonları, toprakta verimlilik kaybına, tarımsal üretim/verim ve toprak mikrobiyal aktivitesinde azalmalara neden olur.

Kadmiyum en yaygın ve canlılar için en tehlikeli ağır metallere biridir. Nitekim, ABD Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Ajansı (ATSDR), tehlikeli maddelerin öncelikli listesinde yedinci sırada Cd olduğu belirtilmiştir (Andjelkovic vd., 2019).

Kadmiyum (5 g/cm^3 'ü aşan spesifik yoğunluk ve 40'ın üzerindeki göreceli atom kütlesi), çevre için en toksik ağır metal kirleticilerden biri olarak kabul edilir ve bitkiler ve hayvanlar üzerindeki toksik etkileri iyi bilinmektedir (Dağhan vd., 2010). Kadmiyum endüstride ve nikel-kadmiyum pillerin yapımında kullanılır. Bu ağır metal, madencilik ve eritme, elektroliz, akümülatörler, renkli pigmentler ve fosfatlı gübreler, pestisitler gibi çeşitli endüstriyel işlemlerden ve ürünlerden toprağa salınan toksik bir metaldir (Dağhan vd., 2010; Song vd., 2019). Çevreye salınan Cd, iklimsel olaylarla ve erozyonla taşınma ve sızma yoluyla toprak, nehir ve yeraltı sularına karışmaktadır.

Bitkiler Cd stresine karşı oldukça hassastır. Topraktaki yüksek Cd konsantrasyonu, tohum çimlenmesini engeller ve bitkilerin büyümesi, gelişmesi ve metabolizması üzerinde olumsuz etkiler yaratır (Dağhan vd., 2010). Bitki tarafından alınan Cd kök ve yeşil aksam büyümesinde azalmaya, besin elementi alımında ve dengesinde azalmaya yol açar (Kushwaha vd., 2015). Toksik miktarda kadmiyum klorofil biyosentezine müdahale eder, fotosentetik Calvin döngüsünün enzimlerini inhibe eder, hem kloroplastlarda hem mitokondride elektron taşınmasını değiştirir. Bitkilerin Cd'ye maruz bırakılması, çoğunlukla membran sistemlerinin işleyişi ile ilgili çeşitli hücresel süreçleri etkiler. Ayrıca, Cd'nin azot metabolizması, glikoliz ve pentoz fosfat yolu ve sülfat asimilasyonunda yer alan diğer bazı enzimlerin aktivitelerini inhibe ettiği bildirilmiştir (Dağhan vd., 2010).

Kadmiyum toprak-bitki sisteminde besin zincirine kolayca girebilen ve insan ve çevre sağlığı için risk oluşturabilecek oldukça hareketli bir elementtir (Dağhan vd., 2010; Andjelkovic vd., 2019). İnsanların Cd'ye maruziyeti yiyecek, hava ve sigara (tütün yapraklarındaki mevcudiyetlerinden) içiminden dolayı yutma ve solumadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Cd de dahil olmak üzere, insan sağlığına ilişkin 10 kimyasal veya endişe verici kimyasal madde listesi yayınlamıştır (Andjelkovic vd., 2019).

Canlı organizmalar üzerine olumsuz etkilerinin yanı sıra özellikle tarım topraklarında Cd seviyelerinde devam eden artışlarla birlikte, Cd topraktaki biyolojik çeşit kaybına, mikroorganizma aktivitesinin azalmasına ve sonuç olarak toprağın üretim için kullanılamaz hale gelmesine neden olmaktadır (Kushwaha vd., 2015). Bu nedenle, Cd ile kirlenmiş toprakların temizlenmesi büyük öneme sahiptir.

Ağır Metalle kirlenmiş toprağı temizlemek için kullanılan teknikler arasında kimyasal, fiziksel ve biyolojik yöntemler yer almaktadır (Daghan 2004; Suriyya vd., 2015). Yüksek maliyet ve düşük verimlilikleri nedeniyle kazmak ve depolamak, ısıtma işlemi, asitle yıkama ve elektroslah gibi birçok yöntem, pratik ve tamamen etkili uygulamalar için uygun değildir (Kushwaha vd., 2015; Suriyya vd., 2015). Geleneksel fiziksel, termal, şelatlayıcı ve diğer kimyasal teknikler, genellikle çok pahalı, yüksek maliyetli ve toprak özelliklerini ve mikroflora üzerinde olumsuz etkileri nedeniyle ciddi eksiklikler gösterir (Koller ve Saleh, 2018). Örneğin kirlenmiş bir toprağı kazarak çıkarıp bir yerden başka bir yere taşımakla problem yalnızca ertelenmiş olur ve dahası depolanan toprağın bulunduğu yerde çeşitli şekillerde riskli olarak taşınması ve ağır metallerin sızması gibi tehlikeleri de bulunmaktadır. Ayrıca, bu yöntemler toprak yapısının, verimliliğinin ve diğer toprak özelliklerinin belirgin bir şekilde tahrip olmasına neden olabilir.

Son zamanlarda, ağır metalle kirlenmiş alanların iyileştirilmesi için uygun maliyetli ve yüksek verimli teknolojilerin geliştirilmesi için çalışmalar devam etmektedir. Bu amaçla, yeşil bir çözüm olarak kabul edilen bitkiler ağır metallerle kirlenmiş toprakların (fito-düzenleme olarak adlandırılır) temizlenmesi için olası bir araç olarak kullanılabilir.

Fitoremediasyon, bitkilerin doğrudan veya dolaylı olarak kirletici maddeleri topraktan ve sudan uzaklaştırmak için kullanılması olarak tanımlanmıştır. Topraklarda, tortularda, yeraltı suyunda, yüzey suyunda ve hatta atmosferde bulunan toksik kimyasalları çıkarmak ve dönüştürmek için bitkileri ve bunlarla ilişkili rizosfer mikroorganizmalarını kullanan, gelişen bir teknolojidir. Fitoremediasyon, toprakları iyileştirmek için etkili, müdahalesiz ve ucuz bir yöntemdir (Srivastav vd., 2019).

Fitoremediasyon, genellikle topraktan ve sudan toksik ağır metallerin temizlenmesinde uygulanabilecek dört alt gruba ayrılır. (i) fitoekstraksiyon, toksik metalleri topraktan uzaklaştırmak için metal biriktirici bitkilerin kullanılması; (ii) fitovolatilizasyon, toksik bazı metallerin bitki kökleri ile alınarak bitkinin toprak üstü aksamlarından buharlaşması; (iii) fitostabilizasyon, bitkilerin topraklarda toksik metallerin biyoyararlılığını bertaraf etmek için kullanılması; ve (iv) rizofiltrasyon, kirli sulardan toksik metalleri uzaklaştırmak için bitkilerin kullanılması (Daghan, 2004; Kushwaha vd., 2015; Suriyya vd., 2015; Srivastav vd., 2019).

Fitoremediasyon yöntemleri arasında bitki birikimi olarak da adlandırılan fitoekstraksiyon yöntemi ağır metallerle kirlenmiş toprakların temizlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Fitoekstraksiyon, bitkilerin kirletici metalleri topraktan kökleriyle alıp toprak üstü aksamlarına taşınması için yıllar önce geliştirilmiştir ve ağır metallerin topraktan en verimli şekilde uzaklaştırılması için kullanılmaktadır (Suriyya vd., 2015). Fitoekstraksiyon işlemi için ideal bitkilerin aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekmektedir (Daghan, 2004; Dağhan vd., 2012; Kushwaha vd., 2015; Suriyya vd., 2015; Srivastav vd., 2019):

- a) Yüksek büyüme oranı;
- b) Daha fazla topraküstü biyokütle üretimi;
- c) Geniş ve yaygın bir kök sistemi;
- d) Toprakta daha fazla hedef ağır metal/leri ekstrakte edebilmeli ve köklerinde biriktirdiği metal/leri yeşil aksama taşıyabilmeli;
- e) Ağır metallerin toksik etkilerine karşı toleranslı olmalı;
- f) Kolay ekilmeli, olumsuz çevre ve iklim koşullarına karşı adaptasyonu yüksek olmalı ve kolay hasat edilebilmelidir. Bu işlemde yetiştirilen bitki hasat edilir ve bitki bünyesindeki metalleri geri kazanılmak ve endüstride kullanılmak için kullanılır veya yakılarak külleri bir atık depolama alanına gömülebilir (Daghan 2004; Kushwaha vd., 2015).

Genel olarak, çoğu insan nanoteknolojinin 100 nanometreden (nm) küçük boyuta sahip olan ve bu boyutta materyaller veya cihazlar geliştirmeyi içerdiğini kabul eder. Nanopartiküller, benzersiz kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptirler; bu nedenle, çevresel iyileştirme için farklı inorganik ve organik katalizörler için destek ortamı

olarak birçok bilim dalında çalışan araştırmacılar tarafından büyük ilgi görmüşlerdir (Srivastav vd., 2019). Fitoekstraksiyon yönteminin de daha etkin ve verimli hale getirilmesi için son yıllarda gelişen nanaoteknolojiden yararlanılma yoluna gidilmiştir. Kadmiyum, Cr, Pb, Ni ve Zn ile kirlenmiş toprağın fitoremediasyonla temizlenmesinin nanomalzemeler uygulanarak artırılabilceğı bildirilmiştir (Song vd., 2019). Geliştirilen nanomateryal ile bitkilerin toksik kirleticilere karşı toleransı artırılarak daha fazla toksik metali kirlenmiş topraktan alarak bünyesinde biriktirmesi çalışmaları yapılmaktadır (Srivastav vd., 2019).

Nano-fitoremediasyon (nanomalzemeler içeren fitoremediasyon), çevresel kirleticilerin giderilmesi için nanoteknoloji ve fitoteknoloji içeren bir tekniktir. Bu teknik, kirleticilerin adsorpsiyonu için kullanılan nano ölçekli materyalleri ve bunların degradasyonunu ve bozulmuş ancak hala kirlilik eğilimli maddeyi biriktirmek için bitkilerin kullanıldığı yeşil bir teknolojidir. Diğer fitoremediasyon işlemlerine kıyasla, Nanomalzemenin fitoremediasyon ile kullanılması dekontaminasyon verimliliğini artırma potansiyeline sahip olabilir (Song vd., 2019; Srivastav vd., 2019).

Bitkilerin nanoparçacıkları bünyelerine alımı, esas olarak nanoparçacıkların büyüklüğüne, türüne ve kimyasal bileşimine bağlıdır. Boyut, nanopartikülün bitkilerin içine girmesi ve köklerden bitkilerin diğer kısımlarına geçmesi için ana faktördür.

Fitoremediasyon için uygun nanopartiküller aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır (Srivastav vd., 2019);

- a) Nanopartiküller bitki için toksik olmamalıdır.
- b) Çimlenme, fide büyümesi, kök-yeşil aksam uzaması, bitki boyu ve biyokütleyi arttırmalı.
- c) Bitkilerde fitoenzimlerin üretimini belirgin şekilde arttırmalı.
- d) Bitki büyüme hormonlarını artırma yeteneğine sahip olmalı.
- e) Kirleticileri bağlama ve bitki için biyoyararlanımı artırma yeteneklerinin olması.
- f) Fitotoreme sürecini arttırmalı ve geliştirmelidir.

Birleşmiş nano ve fitotoremeasyon işleminin (fito-nano muamele) potansiyel bir uygulaması, kirlenmiş toprakların iyileştirilmesinde etkili bir şekilde kullanılabilir. Nano-fito-düzenleme teknolojileri (nanoparçacık ve bitki bazlı teknoloji), kirlenmiş ortamları temizlemek için nanomalzemeler/nanopartiküller ile desteklenmiş doğal olarak meydana gelen veya genetik olarak işlenmiş bitkileri kullanır. Pek çok nanopartikül, bitki büyüme hormonlarını arttırma kabiliyeti ve bitki türleri tarafından daha fazla kirletici madde alımı nedeniyle, bitki büyüme destekleyicisi olarak tanımlanmıştır. Çeşitli bitki türlerinin de nanoterapi prosedürlerinden büyümeyi arttırdığı bulunmuştur. Nano-gübreler içeren nanopartiküller ayrıca toprak sistemindeki besin salınımının düzenlenmesine, toprak verimliliğini katalize etmesine ve bitkilerde enzimatik aktiviteyi arttırmaya, klorofil içeriğini ve tohum çimlenmesini arttırmaya yardımcı olur (Song vd., 2019).

Nanomalzemelerle doğrudan kirleticilerin uzaklaştırılması, bitki büyümesinin desteklenmesi ve kirletici maddelerin fitostabilitesinin arttırılması şeklinde nanomateryaller fitoremediasyonda etkilidir. Bitki biyokütlesi ve büyüme oranı, fitoremediasyon için bitki türlerinin seçiminde iki önemli husustur. Uygulanan birçok bitki, kirleticilere sınırlı tolerans ve zayıf toprak koşullarından kaynaklanan düşük bitki biyokütleleri ve yavaş büyüme oranı nedeniyle çoğu zaman tatminkar değildir. Nanomalzemeler ve bitkiler üzerine yapılan araştırmalar, grafen kuantum noktaları, karbon nanotüpleri, Ag nanoparçacıkları, ZnO nanoparçacıkları, nZVI partikülleri ve dönüşüm nanoparçacıkları gibi bazı nanomalzemelerin bitki büyümesini artırabileceğini göstermiştir. Bu nanomalzemelerin bitki büyümesini destekleme mekanizmaları farklıdır (Song vd., 2019).

Ruffni-Castiglione ve Cremonini'ye göre, üç tip NP (nanopartikül) tanımlanmıştır: doğal (örneğin, volkanik, mineral kompozitler gibi), tesadüfi/antropojenik aktiviteler sonucu oluşmuş (antropojenik aktivite, örneğin, dizel egzoz, kömür yanması, kaynak dumanı) ve mühendislik/tasarlanmış nanopartiküller. Mühendislik NP türleri metal bazlı malzemelere de ait olan kuantum noktaları, nano altın, nano çinko, nano alüminyum, TiO₂, ZnO ve Al₂O₃ (Srivastav vd., 2019).

Çinko oksit nanopartikül bitki büyümesini teşvik edici etkisinin araştırıldığı ve nano-fitoremediasyon araştırmalarında kullanılan önemli bir metaloid nano malzemedir. Çinko oksit nanopartikülü (ZnO-NP) ise gübrede, boyada, güneş kremlerinde, sensör uygulamalarında, diş macunu, gıdalarda ve gıda ambalaj paketlerinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Ergen, 2017; Ergen ve Tunca, 2018).

Önemli bir ağır metal olan çinko (Zn), tüm organizmalar için gerekli bir besin kaynağıdır ve enzimatik faaliyetlerde önemli fonksiyonları bulunan bir geçiş metalidir (Palmgren vd., 2008; Ergen, 2017; Ergen ve Tunca, 2018). Çinko, klorofil üretimi, polen performansı, doğurganlık ve çimlenmenin yanı sıra lipit metabolitleri, nükleik asit, RNA metabolizması, stabilite ve DNA simülasyonu ve gen ekspresyonunun düzenlemesi için gereklidir. Bir katalizör olarak Zn, bitkilerde birçok enzimde aktifleştirici veya inşa edici bir role sahiptir. Çinko, 300'den fazla enzimin yapısında yer alır ve 6 enzim sınıfının hepsinde bulunan tek metaldir (Hafizi ve Nasr, 2018).

Bu tez çalışmasında artan dozlarda Cd uygulanmış su kültürü ortamında tütün bitkisinin Cd fitoekstraksiyonu üzerine ZnO-NP'lerin etkisini belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada fitoekstraksiyon işleminin, nano ZnO-NP uygulamaları ile etkinliğinin artırılması hedeflenmiştir.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Ağır metallerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için çevresel tehlikelerin azaltmak ve sonraki nesillere yaşamaya değer bir gelecek bırakabilmek için iyileştirme teknikleri giderek daha fazla geliştirilmektedir. Ağır metallerin topraklardan temizlenmesi için geliştirilen çevre dostu, ekonomik fitoekstaksiyon yöntemi konusunda çok fazla çalışma yapılmıştır. Ancak bu teknolojinin etkinliğini arttırmak için son zamanlarda nanofitoremiasyon olarak adlandırılan ve metaloid nanopartiküllerde bitki gelişimine ve bitkinin ağır metal toksisitesine karşı toleransını arttıracak düşüncesiyle fitoremiasyon çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, Çinko oksit nanopartiküllerin bitki büyüme ve gelişimi üzerine etkileri konusunda ise kısıtlı sayıda çalışma var iken Nanofitoremiasyon konusunda çok az çalışma bulunmaktadır. Belirtilen alanlarda yapılmış çalışmalara aşağıda yer verilmiştir.

Dağhan vd. (2010), transgenik ve transgenik olmayan tütün bitkileri Hoagland besin çözeltisinde 0, 5 ve 10 mg/L Cd konsantrasyonunda kontrollü büyüme odasında yetiştirilerek Cd alım etkinlikleri belirlenmiştir. Transgenik ve transgenik olmayan tütün bitkilerinin toprak üstü aksam ağırlıklarında bir fark olmadığını, buna karşın transgenik tütün bitkilerinin transgenik olmayanlara kıyasla % 19,8 oranında daha fazla Cd depo ettiği tespit edilmiştir. Araştırma sonuçları ScMTII geni taşıyan transgenik bitkilerin Cd ile kirlenmiş toprakların temizlenmesinin kullanımında sınırlı olduğunu göstermiştir.

Dağhan vd. (2013), yaptıkları araştırmada *Saccharomyces cerevisiae*'dan Petite Havana tütün çeşidine ScMTII geni aktararak elde edilen transgenik tütün (p-S-ScMTII) bitkisi ile transgenik olmayan Petite Havana (SR1) bitkileri düşük ve yüksek Cd ve Zn konsantrasyonlarında toprağa uygulanarak büyüme odasında 6 hafta süreyle yetiştirilen bitkilerin ağır metal alımlarını karşılaştırmışlardır. Kadmiyum ve Zn alımları, Cd ve Zn konsantrasyonlarının artması ile artış göstermiş olup transgenik bitki transgenik olmayana kıyasla daha fazla Cd biriktirmiştir. Özellikle transgenik bitkilerin toprak üstü aksamında biriken Cd miktarı hiperakümülyasyon eşiği olan 100 mg Cd/kg sınırını geçmiştir. Ayrıca transgenik bitkiler transgenik olmayanlara kıyasla daha fazla kuru madde ürettiği belirtilmiştir. Araştırma sonuçları gen aktarılmış tütün bitkisinin Cd ile kirlenmiş

toprakların temizlenmesinde kullanılabileceğini, buna karşın Zn akümülyasyonunda etkili olmadığını göstermiştir.

Khurana vd. (2012), kumlu tın bünyeli bir toprağa artan dozlarda Cd (0, 10, 20 ve 40 mg/kg) ve Zn (0 ve 20 mg/kg) uygulamalarının mısır bitkisinin kuru ağırlık, Cd, Zn ve mikro besin elementi konsantrasyonları üzerindeki etkilerini araştırılmıştır. Kadmiyumun uygulamaları bitkinin kuru madde verimini de azalmaya neden olurken Zn uygulamalarının bu azalmaya bir etkisinin olmadığını bildirilmiştir. Kadmiyum uygulamaları ile bitkide Cd alımında artmış ve Zn uygulamasında Cd alımının üzerinde atırcı bir etkide bulunmuştur.

Singh ve Lee (2016), toprağa artan dozlarda (100, 200 ve 300 mg/kg) uygulanan TiO₂ NP'lerinin soya fasulyesi (*Glycine max* (L.) Merr.) bitkilerinin Cd alımı üzerindeki etkilerini araştırmış ve TiO₂ NP'lerinin uygulanmasıyla Cd'nin fitoekstraksiyonunu geliştirme potansiyelini incelemişlerdir. Sonuçlar, toprağa Cd ilavesinin bitki büyümesini ve biyokütle, pigment ve protein içeriğini önemli ölçüde azalttığını, Prolin ve malondialdehid (MDA) içeriğindeki artışların ise bitkilerdeki Cd toksisitesini baskıladığını göstermiştir. TiO₂ NP'lerinin sürgünlerde Cd birikimini yaklaşık 1,9, 2,1 ve 2,6 kat artırırken, köklerde Cd birikimini ise sırasıyla 2,5, 2,6 ve 3,3 kat arttırmıştır. Maksimum Cd birikimine (1534,7 mg/g), 300 mg/kg TiO₂ nanopartikül uygulamasından elde edilmiştir. TiO₂ nanopartiküllerinin soya fasulyesi bitkilerinde Cd birikimi üzerindeki olumlu etkisinin olduğu ve soya fasulyesi bitkilerinde Cd stresini en aza indirebileceğini bildirmiştir. Ayrıca TiO₂ nanopartiküllerinin soyada fotosentetik oranı artırarak bitki büyümesini arttırmada yardımcı olduğunu bildirilmiştir.

Gong vd. (2017), nişasta stabilize edilmiş nano ölçekli sıfır değerli demirin (S-nZVI) uygulamasının Isırgangillerden rami (*Boehmeria nivea* (L.) Gaudich) bitkisinin Cd birikimi ve metalin bitkide yarattığı oksidatif stres üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla bitkiler Cd ile kontamine olmuş sedimantlara 100, 500 ve 1000 mg/kg S-nZVI uygulanarak yetiştirilmiştir. Sonuçlar, nZVI partikül uygulamasının bitkilerin kök, gövde ve yapraklarda Cd birikimini sırasıyla % 16–50, % 29–52 ve % 31–73 oranında arttırdığını göstermiştir. Araştırmacılar, rami bitkisi ile yapılan bir Cd fitoekstraksiyon çalışmasında, nZVI partiküllerinin uygulanması ile fitoteremediasyon veriminin artırılabilirdiğini bildirilmişlerdir.

Souri vd. (2017), salisilik asit nanopartiküllerinin (SA-NP) Brassicaceae-Turpgiller familyasından Çivitotu (*Isatis cappadocica* Desv.) bitkisinin arsenik (As) toksisitesine karşı büyüme ve fitoremediasyon etkinliği araştırmışlardır. En yüksek As uygulaması (1200 µM), bitki biyokütlesinde bir azalmaya neden olurken, SA-NP ile As'nin birlikte uygulanması yeşil aksam boyu, kök uzunluğu ve biyokütle üretimini yalnızca As uygulamasına göre önemli ölçüde arttırmıştır. Araştırmacılar yüksek düzeylerde As'nin *I. cappadocica* bitkisinde strese neden olduğunu, SA-NP'lerin uygulamasının ise As'nin toksik etkisinin sınırladığını tespit etmişlerdir. Bu nedenle SA-NP'lerin, As stresine maruz kalan *I. cappadocica*'nın büyüme ve fitoremediasyon etkinliği üzerinde önemli ve yararlı bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Gowayed (2017), toprağa artan dozlarda (0-250-500 ve 1000 mg/L) uygulanan ZnO-NP'lerin Cd uygulamalarının (0-25-50 mg/L) mısır (*Zea mays* L.) tanelerinin çimlenmesine ve fidelerin Cd alımı üzerine etkisini araştırmışlardır. Denemelerden elde edilen sonuçlar, kontrol bitkilerine kıyasla Cd uygulamaları ile bitkilerin Cd alımının arttırdığını, ZnO-NP uygulamalarının ise Cd alımını azalttığını göstermiştir. Hem Cd hem de ZnO-NP uygulamalarında Cd ve Zn'yi köklerde birikmiş, yeşil aksama taşınım düşük olmuştur.

Venkatachalam vd. (2017), ZnO-NP (25 mg/L) uygulamasının *Leucaena leucocephala* bitkisi üzerine Cd (50 mg/L) ve Pb (100 mg/L)'nin etkisini (bitki büyümesi, biyokütle, metal içeriği birikimi) 15 gün süren su kültürü denemesi ile araştırmışlardır. Ağır metal Cd ve Pb uygulamaları ile yeşil aksam ve kök uzunluğu kontrol bitkisine göre azalırken ZnO-NP uygulaması ağır metallerin toksik etkisini baskılayarak artışa neden olmuştur. Kontrol bitkilerine göre bitki biyoması 25 mg ZnO-NP/L uygulamasıyla % 29,8; 50 mg Cd+25 mg ZnO-NP/L uygulamasında % 25,7 ve 100 mg Pb + 25 mg ZnO-NP/L uygulamasında ise % 20,5 oranında artış göstermiştir. Bitkilerin ağır metal birikimleri, uygulamalarla 1253 mg Cd/kg kuru ağırlık ve 1027 mg Pb/kg kuru ağırlık olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar ZnO-NP uygulamasının Cd ve Pb ile kirlenmiş toprakların temizlenmesinde kullanılma potansiyelinin olabileceğini bildirmişlerdir.

Hussein vd. (2018), Cd ile kontamine olmuş toprakta (7 mg Cd/kg) yetiştirdikleri buğday (*Triticum aestivum*) bitkisinde ZnO-NP'leri sprey şeklinde 2 haftada bir

uygulayarak bitkilerin büyüme, verim, antioksidan enzimler, Cd ve Zn konsantrasyonları üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, sprey ZnO-NP uygulamasının bitkilerin fotosentez, büyüme ve verimi üzerine olumlu bir etki yaparak arttırdığını, ancak Cd alımı ve birikimine (kök, yeşil aksam ve tane) azaltıcı etkide bulunduğunu tespit etmişlerdir. Sonuçlar, ZnO-NP'lerinin buğdayda Cd toksisitesini ve konsantrasyonunu etkili bir şekilde azaltabildiğini ve Zn konsantrasyonu ise arttırdığını göstermiştir.

Rizwan vd. (2019), farklı dozlarda (0, 25, 50, 75 ve 100 mg/L) ZnO-NP'ler ve Fe-NP'leri (0, 5, 10, 15 ve 20 mg/L) ile priming yapılmış buğday tohumları Cd ile kirlenmiş toprakta yetiştirilerek NP uygulamalarının tohumların çimlenmesi, bitkilerin büyümesi ve Cd akümülyasyonları üzerine etkilerini araştırmışlardır. Buğday bitkisinin kök, yeşil aksam ve tanesinde her iki NP uygulanması ile Cd konsantrasyonlarını önemli ölçüde azalırken, ZnO NP uygulamaları ile Zn konsantrasyonları ve Fe-NP uygulamalarıyla da Fe konsantrasyonlarını artış göstermiştir.

Zhang vd. (2019), artan dozlarda (0, 50, 100 ve 500 mg/kg) ZnO-NP uygulamalarının farklı dozlarda (1,0 - 2,5 ve 5,0 mg Cd/kg) Cd içeren topraklarda yetiştirdikleri pirinç bitkisinin Cd alımı ve toksisitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. ZnO-NP uygulamaları Cd'nin toksik etkisini baskılayarak bitki boyunda ve biyomasında artış sağlamıştır.

Hussein vd. (2019), bitkilerde Cd alımı bitki büyümesini, kök ve sürgün uzunluklarını, yeşil aksam ve kuru ağırlıklarını, klorofil miktarında ciddi oranlarda azaltır. Ayrıca Cd tohum çimlenmesini ve temel besin maddelerinin azaltarak, özellikle tahıllarda kalitesiz ve daha düşük verim alınmasına neden olur.

Wang vd. (2012), farklı yapıya sahip olan 6 adet NP ve artan dozlarda Cd (0, 1, 2, 5, 10, 20, 50 ve 100 mg/L) uygulamalarının, bitkilerde (marul, domates, havuç ve salatalık) NP'ler varlığında büyümeyi teşvik ettiği ve bitkilerdeki Cd konsantrasyonlarını kontrol grubuna göre azalttığını belirtmişlerdir.

Lian vd. (2020), ZnO-NP'lerin bitkilerde yaprak uygulamaları ile antioksidan enzimlerin aktivitelerini önemli bir düzeyde iyileştirdiğini belirtilmiştir.

Çinko oksit NP (0, 0,25, 0,50 ve 0,75 g) uygulamalarının biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisi tohumlarının çimlenmesi ve tohum canlılığı üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, ZnO-NP'lerin tohumlarda sürgün ve kök uzunluğu ile fide uzunluğu açısından önemli olduğu, tohum çimlenmesinin ZnO-NP'lerin yüksek konsantrasyonlarda arttığı, bunun yanında düşük konsantrasyonlarda ise azalma olduğu Afrayem ve Chaurasia (2017), tarafından bildirilmiştir.

Pandey vd. (2010), ZnO-NP uygulamalarının nohut (*Cicer arietinum*) bitkisini köklerinde indol asetik asit (IAA) miktarını artırarak, fidelerin büyüme oranını arttırdığını bildirmişlerdir.

Pullagurala vd. (2018), yüksek ZnO-NP konsantrasyonlarının (>500 mg/kg) bitkiler için toksik olduğu, bunun yanında düşük konsantrasyonlara sahip ZnO-NP'lerin ise bitkilerde olumlu etkisinin olduğu bildirilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Nanopartikül materyalleri ve nanopartikül seçim kriterleri

Bu çalışmada ZnO (<100 nm) nanopartikül olarak kullanılmıştır. Bu materyal araştırmacı Dr. Birol Karakaya tarafından Gebze- MAM'da sentezlenmiştir.

OECD'nin öncelikli nanomateryal olarak ZnO nanopartiküllerin belirlenmesi, tez kapsamında kullanılan nanopartiküllerin seçilmesinde en önemli kriterdir (OECD, 2013).

3.1.2. Bitki materyali ve seçim kriterleri

Adıyaman yerel tütün çeşidi denemede bitki materyali olarak kullanılmıştır. Bitki tohumları Adıyaman yerel çiftçisinden temin edilmiştir.

Tütün bitkisi bol yeşil aksamı, iklim seçiciliği fazla olmayan, kuraklığa ve sıcaklığa dayanıklı olması, ülkemizin hemen hemen her yerinde yetiştirilebilen, özellikle atıl durumda olan alanlarda, diğer bitkilerin yetiştirilemeyeceği alanlarda rahatlıkla yetiştirilebilecek bir bitki olması nedeniyle tercih edilmiştir.

Tütün bitkisi ağır metallerin fitoekstraksiyonu ile ilgili birçok araştırmada kullanılmış ancak nanopartikül ve ağır metallerin birlikte uygulamaları konusunda yapılan çalışmalar oldukça sınırlı kalmıştır.

Adıyaman-Malatya Tütünleri: Adıyaman, Malatya, Akçadağ, Bahçe menşei tütünler bu gruba girer. Bu tütünler orta ve büyükçe boyutlu, sarı, açık kırmızı, kırmızı renkli, sağlam dokulu, kalınca, sertçe içimli, lezzetleri tatlı ve kokulu tütünlerdir. Adıyaman tütünleri bölge içinde iyi bir yere sahiptir (Adıyaman Tütün Raporu, 2013).



Şekil 3.1. Adiyaman yerel tütün bitkisinin genel görüntüsü (Anonim, 2019)

3.2.Yöntem

3.2.1. Nanomalzemelerin sentez ve karakterizasyonu

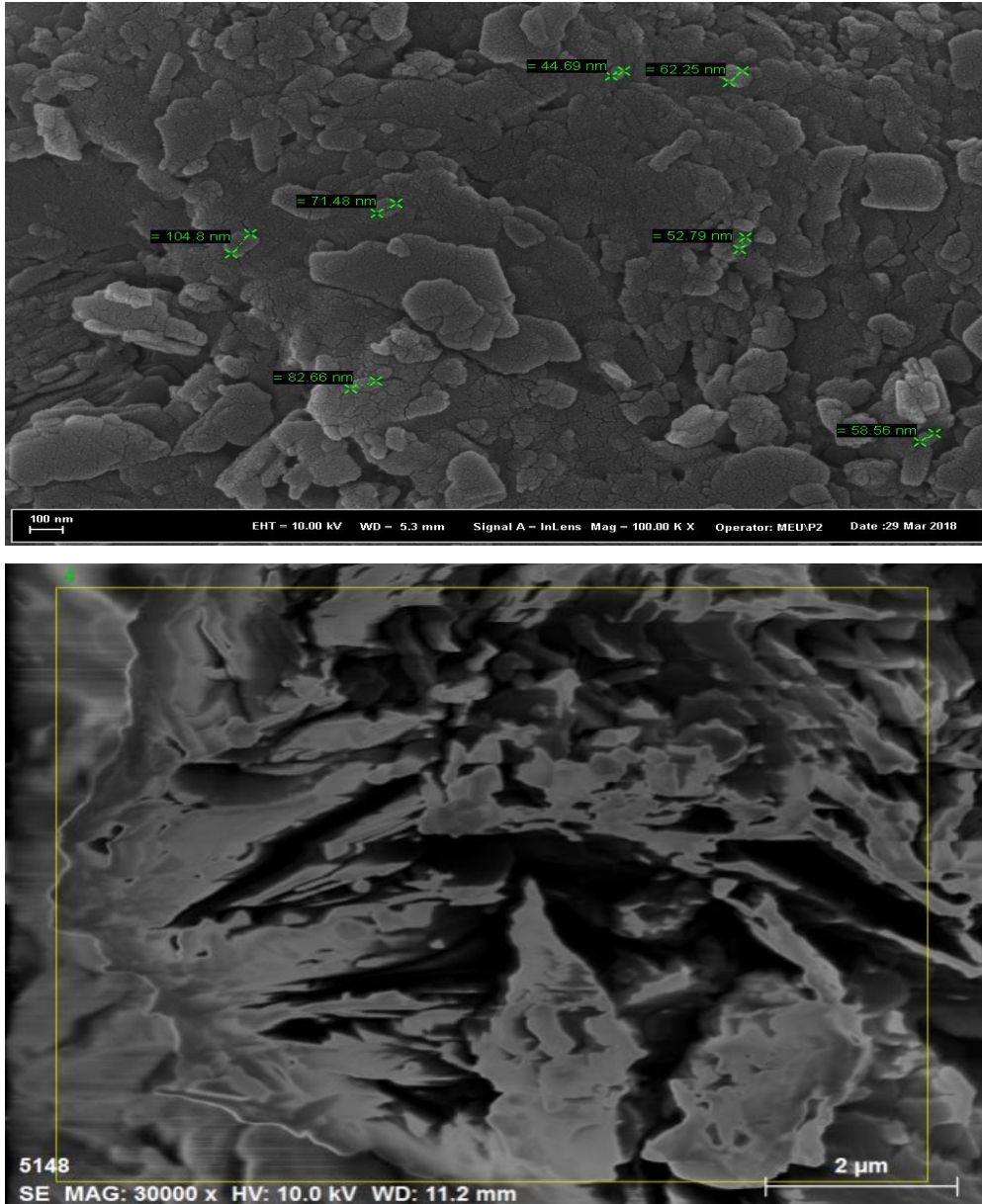
3.2.1.1 Cinko oksit nanopartikül (ZnO-NP) hazırlanması

ZnO nanopartikül Dr. Birol Karakaya tarafından modifiye edilen sol/jel yöntemi kullanılarak üretilmiş. Yöntemin ilk aşamasında, konsantre ZnO nanopartikülleri sentezlenmiş ve ikinci aşamasında ise gümüş nitrat ile nano ZnO kazanılmıştır. Bu işlem şu şekilde gerçekleştirilmiştir; gümüş nitrat ($AgNO_3$) solusyonu toluen ile karıştırılıp, 25,2 μ l dodecanethiol (DT) eklenmiştir. Solusyon 3 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak organik faz ayrılmıştır. Daha sonra organik fazdan ZnO Nanopartiküller ayrılmıştır. Elde edilen nanoparçacıkları stabilize etmek için nanoboyutlu reçineler (polyvinilalkol türevi polimer ya da oligomerler) kullanılmıştır. Yöntemin her aşamasında solvent olarak su kullanılmıştır.

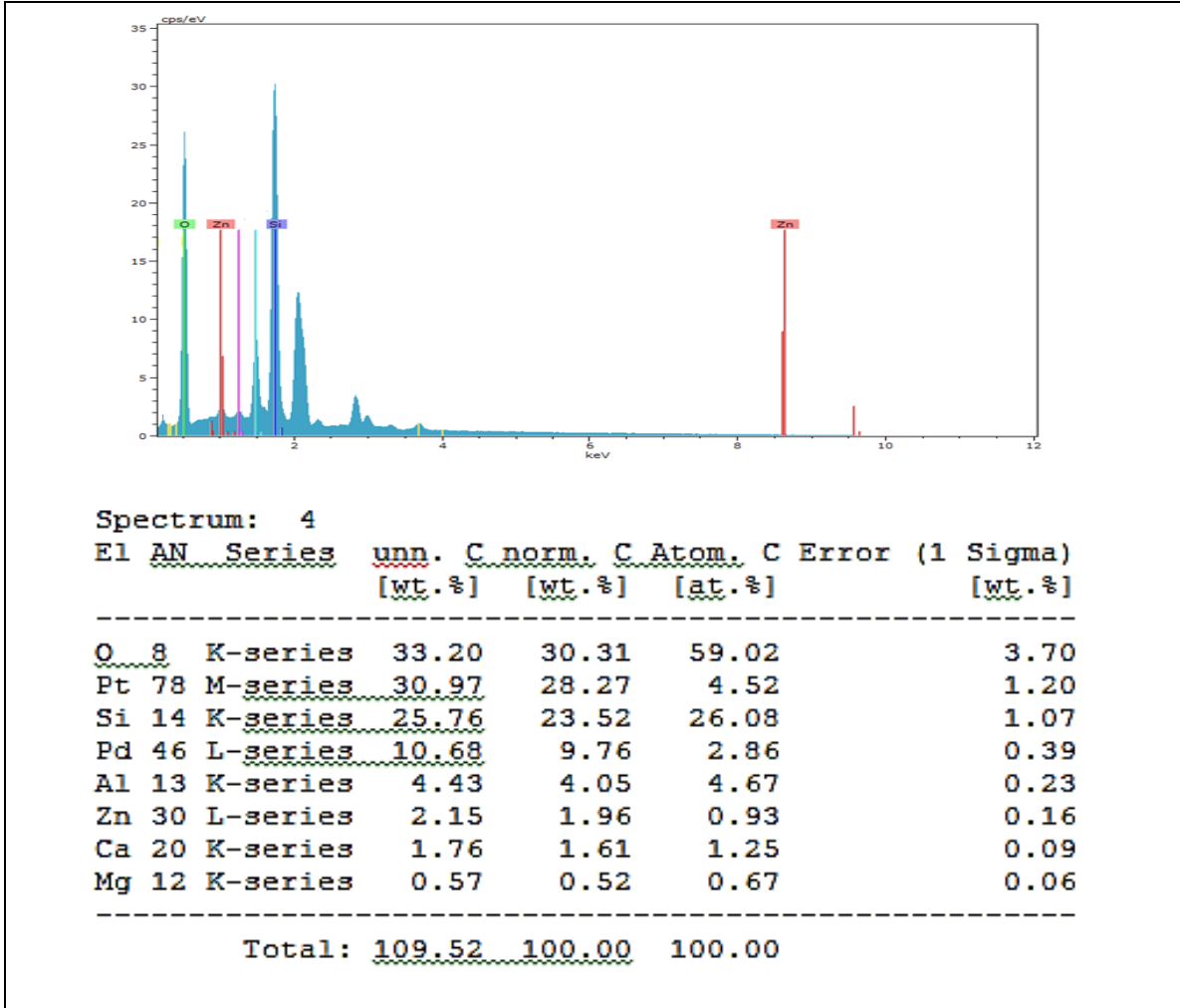
Elde edilen ZnO-NP'lerinin yapısal özellikleri, şekil ve parçacık boyutları XRD (X-ışınları Toz Kırınımı) ve TEM (Geçirimli Elektron Mikroskobu) ölçüm teknikleri ile incelenmiştir. Hazırlanan nanopartiküllerin karakterizasyonu TEM, XRD, Taramalı Elektron Mikroskobu- Enerji Dağılımlı X- Işını Spektroskopisi taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope-SEM-EDX, Zeiss, Supra 55 model) ve

İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) teknikleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Literatür taramalarından hareketle ZnO boyutları ~10 nm, konsantrasyonlar ise 0, 5, 10 mg/L olarak belirlenmiştir.

Denemede kullanılan ZnO-NP materyaline ait taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri şekil 3.2 de verilmiştir. Görüntüleri incelendiğinde ZnONP'lerin küresel şekilli morfolojik karakter gösterdiği tespit edilmiştir. Şekil 3.2'den de anlaşılacağı üzere ZnONP'lerin boyutunun 100 nm'nin altında olduğu ve en küçük boyutun 44,69 nm olduğu belirlenmiştir. Nanopartikülün boyutu ne kadar küçük olursa antimikrobiyal etkisi artar.



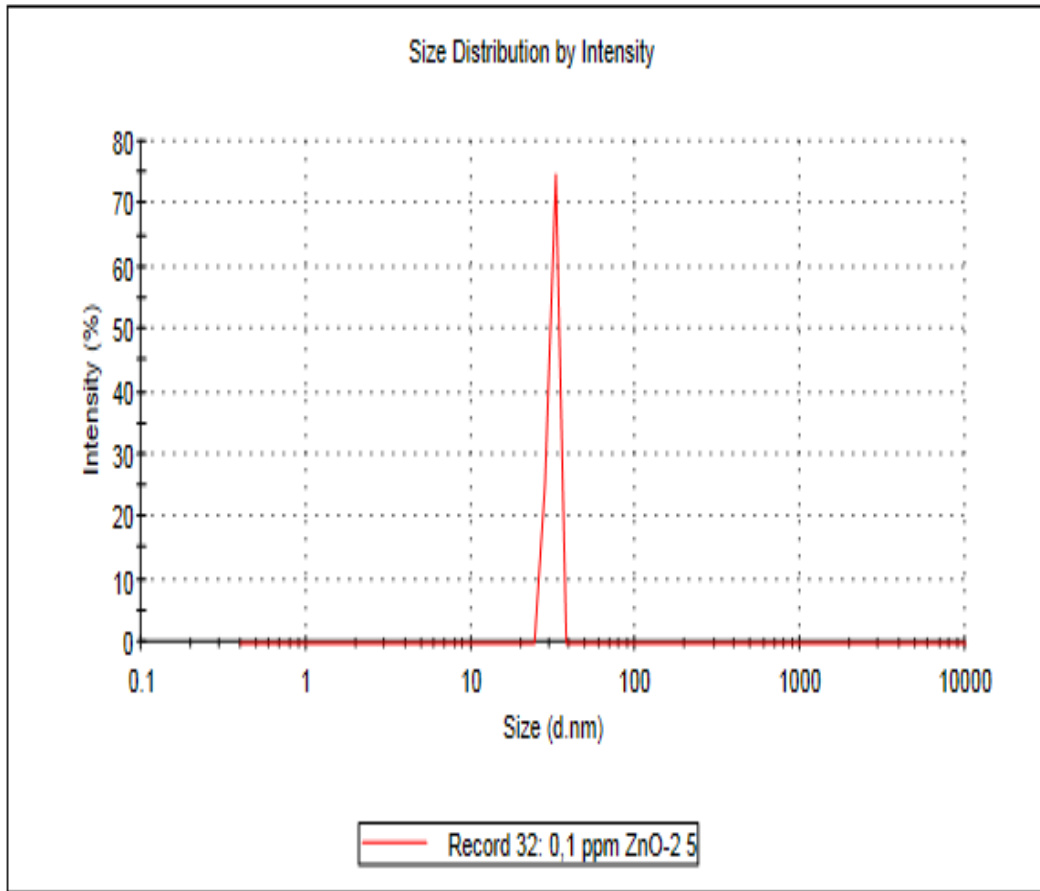
Şekil 3.2. ZnONP'lerine ait taramalı elektron mikroskobunun görüntüleri



Şekil 3. 3. ZnO-NP'lerine ait EDX görüntüleri ve analiz sonuçları

EDX analiz verilerini incelediğimizde büyük oranda Zn ve ZnO piklerinin olduğunu gördük. Büyük oranda ZnO kompozisyonunda olduğu belirlenmiştir.

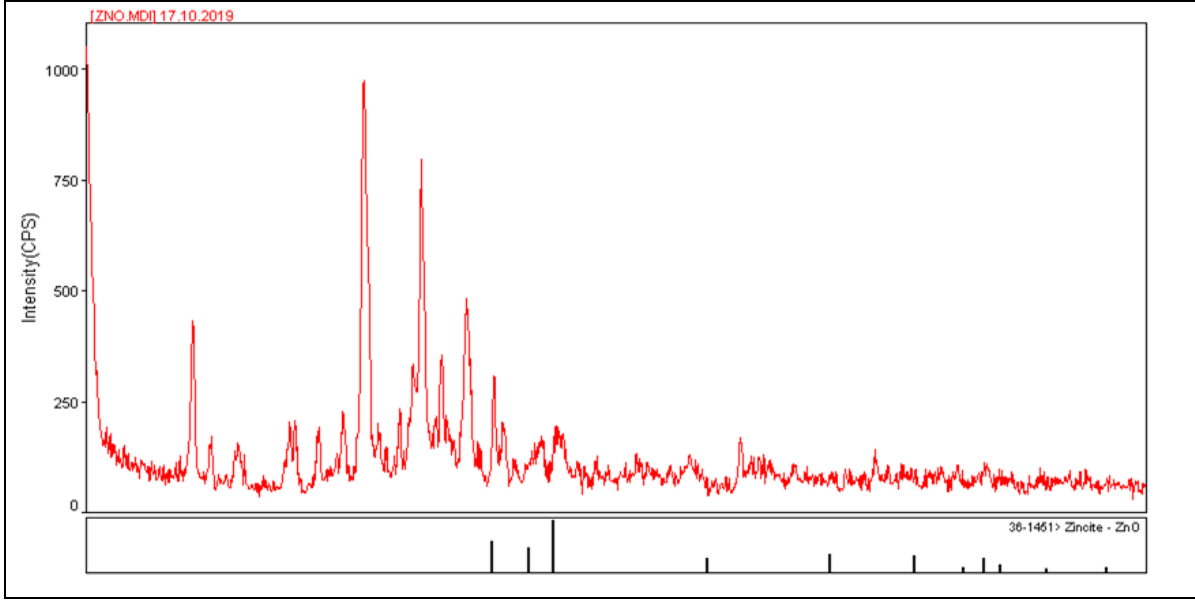
ZnO-NP'lerin boyut dağılım yoğunluğuna ait veriler Şekil 3.3' de verilmiştir. Zeta potansiyelinde elde ettiğimiz ZnO nanopartikülünün tam olarak boyutunun ortalama 30-50 arasında değiştiği şekillerde görülmektedir (Şekil 3.4). Ancak pikin keskinliğinden anlaşılacağı üzere 24.36 - 32.67 nm civarında nanopartikülün daha fazla olduğu ve boyutunun 35 nm olduğu söylenebilir.



Size d.nm	Mean Number %	Std Dev Number %	Size d.nm	Mean Number %	Std Dev Number %	Size d.nm	Mean Number %	Std Dev Number %	Size d.nm	Mean Number %	Std Dev Number %
0.4000	0,0		5,615	0,0		78,82	0,0		1106	0,0	
0,4632	0,0		6,503	0,0		91,28	0,0		1281	0,0	
0,5365	0,0		7,531	0,0		105,7	0,0		1484	0,0	
0,6213	0,0		8,721	0,0		122,4	0,0		1718	0,0	
0,7195	0,0		10,10	0,0		141,8	0,0		1990	0,0	
0,8332	0,0		11,70	0,0		164,2	0,0		2305	0,0	
0,9649	0,0		13,54	0,0		190,1	0,0		2669	0,0	
1,117	0,0		15,69	0,0		220,2	0,0		3091	0,0	
1,294	0,0		18,17	0,0		255,0	0,0		3580	0,0	
1,499	0,0		21,04	0,0		295,3	0,0		4145	0,0	
1,736	0,0		24,36	11,2		342,0	0,0		4801	0,0	
2,010	0,0		28,21	36,2		396,1	0,0		5560	0,0	
2,328	0,0		32,67	38,8		458,7	0,0		6439	0,0	
2,696	0,0		37,84	13,8		531,2	0,0		7456	0,0	
3,122	0,0		43,82	0,0		615,1	0,0		8635	0,0	
3,615	0,0		50,75	0,0		712,4	0,0		1,000e4	0,0	
4,187	0,0		58,77	0,0		825,0	0,0				
4,849	0,0		68,06	0,0		955,4	0,0				

Şekil 3. 4. ZnO-NP'lerine ait taramalı Zeta potansiyeli sonuçları

3.2.1.2. X-ray kırınımlı XRD analizi



Şekil 3.5. Çinko Oksit NP'lerin X-RD sonuçları

ZnO'lerin kristal yapıları X-RD ile analiz edilmiştir. Sonuçlar, 2θ da karşılık gelen 100° , 002 101° , 102° 200° , 110° ve 112 de bulunan keskin piklerin ZnO'lerin kristal yapısını gösteren pikler olduğunu göstermektedir (Şekil 3. 5). Debye-Scherrer's denlemi; (Eren ve baran 2019). Debye-Scherrer's denkleminde nanopartikül boyutunun $24,89$ nm olduğu hesaplanmıştır.

$$D = K\lambda / (\beta \cos\theta) \quad (\text{Denklem: 1})$$

Eşitlikte D, parçacığın kristal çapı (nm); K, sabit sayıyı (0.90); λ , dalga boyu X-ray'ı (1.5406 \AA); β , maksimum pikin yarı yükseklikteki genişliği (rad.); θ , Bragg açısı (derece)'ni ifade etmektedir (Denklem 1).

3.2.2 Su kültürü denemeleri

Tütün tohumları su kültürü denemelerinde kullanılmak üzere torf perlit (1:1) karışımı ortamda çimlendirilmiş ve 2-3 yapraklı fide haline gelip hafif köklendikten sonra Hoagland besin çözeltisi (Hoagland ve Arnon, 1950) ortamına (pH 5,2) aktarılmıştır. Nanomalzeme ZnO formunda ve 0, 1, 5 mg/L dozlarında Hoagland besin çözeltisine uygulanmıştır. Kadmiyum ise $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ formunda 0-1-3 mg/L dozlarında çözeltiye

uygulanmıştır. Kadmiyum dozları, bitkideki Cd toksik sınır değeri olan 3 mg/kg dikkate alınarak belirlenmiştir.

Besin çözeltisi her 2-3 günde bir değiştirilmiştir. Bitkiler besin çözeltisi ortamında ve kontrollü koşullarda (16/8 saat ışık/karanlıkta, 25/20 °C sıcaklık ve % 60 nem, ışık yoğunluğu 10 klux) 20 günlük sürede yetiştirilmiştir.

Bitkilerin su kültürüne transferinde 4,5 litrelik polietilen saksılar kullanılmış ve tütün her saksıya 1 bitki olacak şekilde ayrı ayrı yerleştirilmiştir. Denemelerde tütün bitkisi için kullanılan besin çözeltisi Makro (1 mM KH_2PO_4 , 3 mM KNO_3 , 0,25 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $2,5 \times 10^{-2}$ mM KCl) ve mikro (1 $\mu\text{M} \cdot \text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,25 $\mu\text{M} \cdot \text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,25 μM $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, 0,125 μM H_3BO_3 , 0,1 mM FeEDTA) besin elementlerinden oluşmuştur (Hoagland ve Arnon, 1950).

Bu kimyasallardan bazıları (KH_2PO_4 ($\leq 0,2$ ppm), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (%0,005), $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (% 0,03), $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (% 0,002) farklı oranlarda Zn içermektedir.

3.2.2.1 Fenolojik gözlemler

Denemeler süresince ZnO-NP'lerin bitkilerin Cd alımı ve toksik etkileri karşısında bitkilerin uğradıkları morfolojik değişimler skalaya (1-Sağlıklı, yeşil bitki, 2-Çok hafif kloroz, 3-Orta şiddette kloroz, 4-Şiddetli kloroz ve hafif nekrozlar, 5-Şiddetli nekrozlar ve 6-Ölü bitki) göre değerlendirilmiştir. Ayrıca bu değişimler fotoğraflanarak görselleştirilmiştir.

3.2.2.2 Klorofil içeriği

Artan dozlarda uygulanan ZnO-NP ve Cd'nin bitkiler üzerine toksik etkileri yapraklarda değişen klorofil içerikleri, Konica-Minolta SPAD-502 klorofil ölçüm cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

Morfolojik gözlemler ve klorofil ölçümleri yapıldıktan sonra bitkiler hasat edilip analizleri yapılmıştır.

3.2.2.3 Bitki hasadı ve mineral analize hazırlanması

Su kültürü denemelerinden elde edilen bitki örnekleri yeşil aksam ve kök olarak hasat edilip saf suyla yıkanıp, kurulandıktan sonra kurutma dolabında 65 °C'de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Daha sonra bitkilerin kuru ağırlıkları alınarak bitki analizleri için bitki öğütme değirmeninde öğütülmüştür.

3.2.2.4 Bitkilerde nanopartikül ve mineral element analizleri

Öğütülmüş bitki materyalleri mikro dalga fırında yaş yakma yöntemine göre yakılmıştır (Müftüoğulları vd., 2012). Bu amaçla 0,2 g bitki örneği 2 mL deiyonize su, 2 mL % 35'lik H₂O₂ ve 5 mL % 65'lik HNO₃ ile 45 dakika mikrodalga fırında çözünürleştirilmiştir. Elde edilen süzükten toplam metal konsantrasyonları (Cd, Zn, Cu, Fe ve Mn) Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre (AAS, Analitic Jena) cihazında belirlenmiştir.

Element analizlerinin doğruluğu, metal içeriği belli standart sertifikalı bir bitki (SRM 1573a - Tomato Leaves) örneğinin aynı yöntemle analiz edilmesi ile kontrol edilmiştir.

Bitki yaprak örneklerinde N analizi, Kjheldal yöntemine göre yapılmıştır (Bremner ve Mulvaney, 1982).

Bitki örneklerinde K konsantrasyonları flame fotometrede ölçülmüştür (Kacar, 1995).

Bitki örneklerinde P analizi, sarı renk yöntemine göre yapılmıştır (Kacar, 1995).

3.2.2.5 İstatistiksel analiz

Araştırmadan elde edilen sonuçlar SPSS-20 istatistiksel analiz paket programından yararlanılarak varyans analizi yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklar Duncan testine göre gruplar oluşturulmuştur.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Tütün Su Kültürü Denemesi

Su kültürü denemesinde ZnO-NPxCd uygulamasının etkilerini görmek için, besin çözeltisine artan dozlarda (0-1-5 mg/L) ZnO-NP ve Cd (0-1-3 mg/L) uygulanarak bitkilerin tepkileri gözlemlenmiş ve analiz sonuçları değerlendirilmiştir.

4.1.1 Morfolojik gözlemler

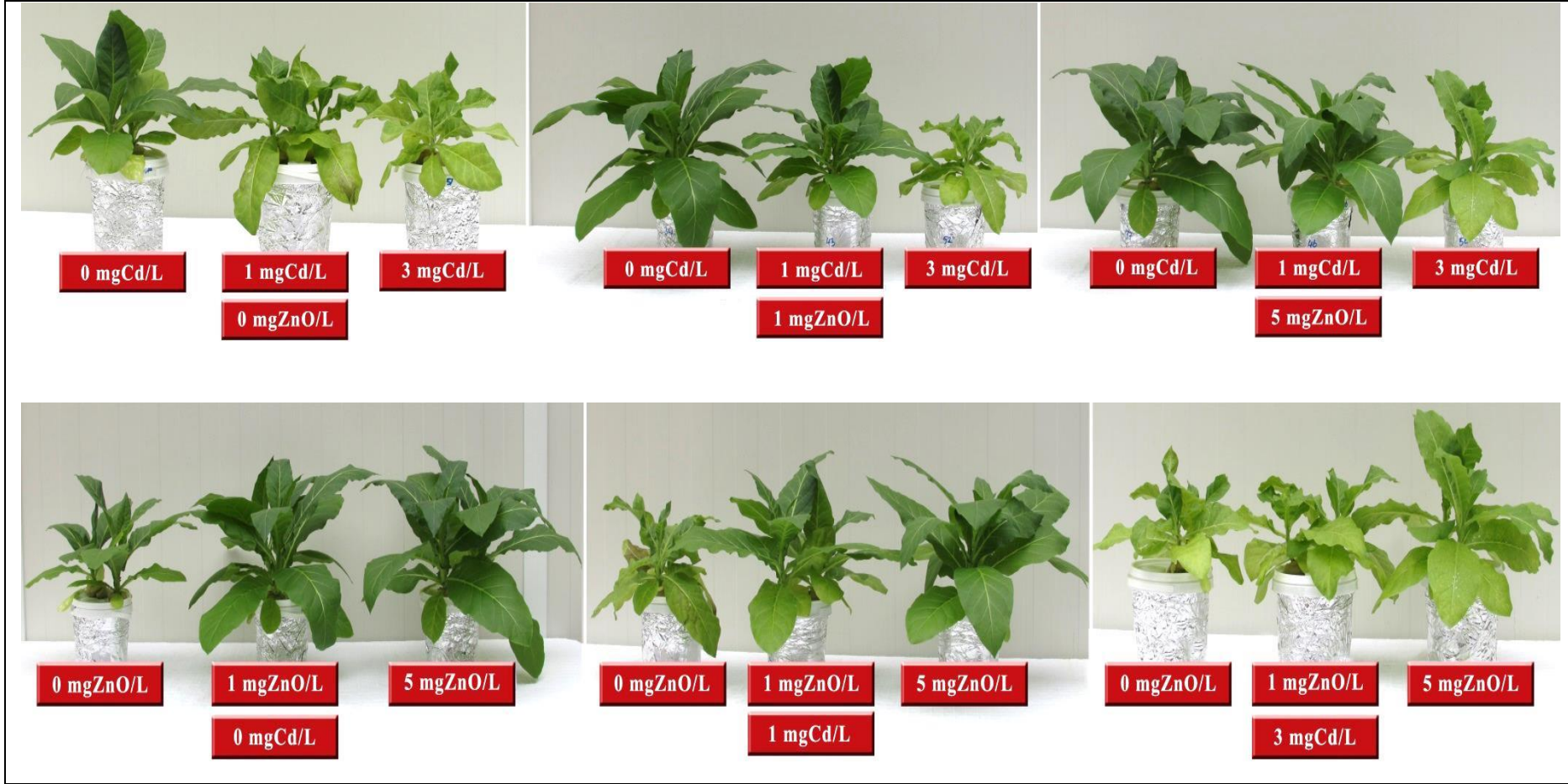
Adıyaman yerel tütün çeşidi kullandığımız bu çalışmada morfolojik değişimler açısından bir değerlendirme yapıldığında kontrol bitkilerinin Cd₀-Zn₀ yapraklarında kubbeleşme ve zayıf kökler gözlemlenmiştir.

Artan dozlarda ZnO uyguladığımız saksılarda Cd₀ ve ZnO-NP₁- ZnO-NP₅ sağlıklı bol yeşil aksam ve sağlıklı beyaz uzun kökler gözlemlenmiştir.

1 mg/kg Cd ve ZnO-NP₀ uygulamasının yapıldığı bitkilerde kıvrılmalar ve şiddetli kloroz, kökler ise beyaz ince uzun gelişme göstermişlerdir. ZnO-NP₀ uygulamasında artan Cd dozları ile toksisite belirtilerinde artış göstermiştir.

Kadmiyum uygulaması aynı miktarda fakat artan uygulamalarında ZnO-NP₁- ZnO-NP₅ ise hafif nekroz ve klorozlar görülmüş, herhangi bir Cd toksik etki gözlemlenmemiştir.

Cd₃ konsantrasyonu ve artan miktarlarda uygun 1mg/kg ZnO ile 5 mg/kg ZnO-NP bitkilerde çok belirgin olmayan kloroz görülmüş, önce kahverengi renk sonra gri, gümüş renkli oldukları saptanmıştır.



Şekil 4. 1. Artan dozlarda ZnO-NP uygulamalarının tütün bitkisinin gelişimi ve Cd alımına etkisi.

4.1.2 Klorofil içeriği ve kuru ağırlıklar

Çinko oksit NP (0-1-5 mg/L) ve Cd'nin (0-1-3 mg/L) farklı dozlarda kombinasyonlarının uygulandığı tütün bitkisi 21 gün su kültürü koşullarında yetiştirilmiştir. Bitkilerin klorofil içerikleri SPAD metre cihazı ile ölçüldükten sonra bitkiler hasat edilmiştir. Deneme sonunda tütün bitkisinin klorofil içeriği, yeşil aksam ve kök kuru ağırlıkları üzerine ZnO-NP ve Cd uygulamalarının etkilerine ait veriler Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Artan Dozlarda ZnO-NP ve Cd Uygulamalarının Tütün Bitkisinin Klorofil İçeriğine, Yeşil Aksam Kuru Ağırlığına ve Kök Kuru Ağırlığına Etkisi

Uygulama Dozları (mg/L)		Klorofil (SPAD Birimi)	Yeşil Aksam Kuru Ağırlık (g)	Kök
ZnO-NP ₀	Cd ₀	35,70c	2,313d	0,240d
	Cd ₁	23,53f	1,330f	0,128g
	Cd ₃	21,03g	0,713g	0,068ı
ZnO-NP ₁	Cd ₀	42,20a	3,567b	0,348a
	Cd ₁	32,87d	2,393d	0,208e
	Cd ₃	22,53fg	0,8733g	0,087h
ZnO-NP ₅	Cd ₀	40,07b	3,923a	0,338b
	Cd ₁	36,77c	2,803c	0,270c
	Cd ₃	27,17e	1,613e	0,138f
ZnO-NP Ortalama	ZnO-NP ₀	26,76c	1,452c	0,146c
	ZnO-NP ₁	32,53b	2,278b	0,215b
	ZnO-NP ₅	34,67a	2,780a	0,249a
Cd Ortalama	Cd ₀	39,32a	3,268a	0,309a
	Cd ₁	31,06b	2,176b	0,202b
	Cd ₃	23,58c	1,067c	0,098c
ZnO		120,7**	156,47**	56,02**
Cd		446,8**	421,68**	224,8**
ZnO-NPxCd		20,63**	10,178**	5,48**

** : P<0,01, * : P<0,05, ö.d: önemli değil. **: %1 düzeyinde önemli

Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının tütün bitkisinin klorofil içeriğine ZnO-NP, Cd ve ZnO-NPxCd interaksiyonlarının %1 seviyesinde önemli olduğu bulunmuştur. ZnO-NP artan dozlarda uygulanması tütün bitkisinin klorofil içeriğini arttırmış, Cd uygulamaları ise klorofil içeriğini azaltmıştır (Çizelge 4.1).

ZnO-NPxCd interaksiyonunda en yüksek klorofil içeriği (42,20 SPAD birimi) ZnO-NP₁xCd₀ uygulamasından elde edilmiştir. En düşük klorofil içeriği (21,03 SPAD birimi) ise ZnO-NP₀xCd₃ interaksiyonunda belirlenmiştir. Bu verilere göre Cd uygulamasının ZnO-NP₅'in uygulandığı dozda Cd uygulaması karşılığında klorofil içeriğindeki düşüşünü genel olarak hafifletmiş, ancak Cd uygulama dozlarının ortalama değerler üzerinde kontrol grubuna göre istatiki olarak azalttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Yapılan çalışmalarda 50 µM Cd'un yapraklarda terleme, fotosentez oranı ve klorofil sentezini azalttığı bildirilmiştir (Sandalio vd., 2001). Amirjani (2012), Cd metalinin buğday gelişimi üzerine genel olarak olumsuz etkilediğini ve klorofil içeriği (klorofil-a, b ve a+b), Cd dozları karşısında klorofil miktarının düştüğünü belirtmiştir.

Vaillant vd. (2005), artan Zn dozlarının klorofil sentez, miktar ve dağılımının incelendiği bir çalışmada Zn'nin toksik etkisinin türlere göre değiştiği ve 5 mM Zn dozu uygulanan türlerde klorofil içeriğini belirli oranlarda azalttığı tespit edilmiştir.

ZnO-NP uygulamalarının ortalama klorofil değerleri üzerinde kontrole göre artış gösterdiği Çizelge 4.1.'de görülmektedir. Torabian vd. (2016), ayçiçeği bitkisi üzerinde yapmış oldukları çalışmada, yapraktan ZnO-NP uygulaması sonucunda klorofil içeriğinin arttırdığını belirtmişlerdir.

Tütün bitkisinin yeşil aksam kuru ağırlıkları ZnO-NP uygulamasının artan dozları karşısında artırmıştır. Kadmiyum uygulaması yapılmayan Cd₀ (kontrol) gruplarında, ZnO-NP uygulamalarının (NP₀: 2,313 g; NP₁: 3,567 g ve NP₅: 3,923 g) yeşil aksam kuru ağırlıklarını belirgin bir şekilde arttırdığı görülmektedir (Çizelge 4.1). Du vd. (2019), Buğday yetiştiriciliğinde ZnO-NP ve ZnSO₄ karşılaştırmalı olarak incelenmesi çalışmalarında, ZnO-NP ve ZnSO₄ orta dozlarda tahıl verimi ve biokütleyi arttırdığını bildirmişlerdir. Taban ve Alpaslan (1996), farklı Zn dozları karşısında yetiştirilen mısır bitkisinde, Zn uygulamalarının bitkilerde kuru ağırlıkta artış olduğunu bildirmişlerdir.

Kadmiyum uygulamaları yeşil aksam kuru ağırlığını olumsuz etkileyerek azalttığı belirlenmiştir. Bitkilerin yeşil aksam kuru ağırlığı ZnO-NPxCd interaksiyonlarına göre en yüksek yeşil aksam kuru ağırlığı 3,923 g ile 5 mg ZnO-NP ve Cd uygulanmamış bitkilerden elde edilmiştir. En düşük yeşil aksam kuru ağırlığı (0,713 g) ise ZnO-NP uygulanmamış 3 mg Cd/L dozunda ölçülmüştür (Çizelge 4.1). Dağhan vd., (2013)'nın transgenik ve transgenik olmayan tütün bitkilerinin Cd alımına etkisini araştırdıkları çalışmada, bitkilerdeki artan Cd uygulamalarına bağlı olarak kontrol grubuna göre biyokütle üzerine olumsuz etki oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Kök kuru ağırlık sonuçları yeşil aksam kuru ağırlık sonuçlarına benzer şekilde ZnO-NP uygulamaları ile artarken Cd dozlarındaki artışla azalma göstermiştir. Kökte en yüksek kuru ağırlık değeri (0,348 g) 1 mg ZnO-NP/L ve Cd'siz uygulama dozlarında belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Çinko oksit NP uygulamalarının (2, 4, 8 ve 16 mg/kg) domates bitkisinde, biyokütle, sürgün ve kök gelişimi üzerine olumlu etki ettiği ve artış gösterdiği Faizan vd. (2018), tarafından bildirilmiştir.

Hem kök hem de yeşil aksam kuru ağırlıkları üzerine ZnO-NP, Cd ve ZnO-NPxCd interaksiyonlarının etkisi istatistiki açıdan ($p < 0,01$) bulunmuştur. Bu çalışmada artan Cd uygulamaları sonucunda kuru ağırlıkta azalmalar görülmüştür. Yapılan çalışmalarda, Cd toksisitesi sonucunda yeşil aksamın kuru madde oranındaki düşüş direkt olarak fotosentezi engellemesi sonucu olabileceği bildirilmiştir. Kadmiyum toksisitesi, bazı bitkilerde gelişimi daha az geriletmediği bazılarında ise daha fazla olduğu bitki çeşidine göre değiştiği belirtilmiştir. Bu farklılıkların sebebi ise bitkilerin Cd elementine karşı tolerans seviyeleri ile ilişkili olabilmektedir. Bazı araştırmacılar tarafından (Smilde, 1981; Zhang vd., 2000; Zhang vd., 2002; Adiloğlu, 2002; Öztürk vd., 2003; Cieccko vd., 2004; Köleli vd., 2004; Adiloğlu vd., 2005; Khan vd., 2006; Dheri vd., 2007), Cd'nin verimde düşümlere neden olduğu araştırmalarda belirtmişlerdir. Başka bir araştırmacı tarafından yapılan çalışmada iki değişik ortamda yetiştirilen patates bitkisinin yapay büyüme ortamında kök ve yeşil aksam kuru miktarının düşük dozdaki Cd uygulamalarında arttığını ve yüksek Cd konsantrasyonlarında ise azaldığını tespit etmiştir (Gonçalves, 2009).

Köleli vd. (2004), ekmeclik ve makarnalık buğday çeşitleri üzerine yaptıkları çalışma sonucunda, artan Cd uygulaması ile yeşil aksam kuru ağırlığındaki azalmalar Zn eksikliği görülen bitkilerde daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

4.1.3. Yeşil aksam ve kök ZnO-NP ve Cd konsantrasyonları

Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının tütün bitkisinin Zn ve Cd birikimlerine ait veriler Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının tütün bitkisinde yeşil aksam ile kök’te Zn ve Cd konsantrasyonlarına etkisi

	Uygulama Dozları (mg/L)	Yeşil Aksam		Kök	
		Zn (mg/kg)	Cd	Zn (mg/kg)	Cd
ZnO-NP ₀	Cd ₀	3,36f	0,000g	8,80g	0,000f
	Cd ₁	8,75d	202,0d	10,07g	419,3c
	Cd ₃	6,83e	349,7b	23,48d	766,3b
ZnO-NP ₁	Cd ₀	8,24d	0,000g	15,55f	0,000f
	Cd ₁	10,36c	183,7e	20,60e	281,3d
	Cd ₃	9,36cd	388,3a	16,84f	1234,3a
ZnO- NP ₅	Cd ₀	17,84a	0,000g	35,94b	0,000f
	Cd ₁	12,94b	94,67f	30,95c	147,3e
	Cd ₃	11,76b	334,0c	39,74a	1245,7a
ZnO-NP Ortalama	ZnO-NP ₀	6,31c	183,89a	14,12c	395,2c
	ZnO-NP ₁	9,32b	190,67a	17,66b	505,2a
	ZnO-NP ₅	14,18a	142,89b	35,54a	464,3b
Cd Ortalama	Cd ₀	9,81b	0,000c	20,10b	0,000c
	Cd ₁	10,68a	160,11b	20,54b	282,7b
	Cd ₃	9,32b	357,33a	26,69a	1082,1a
ZnO-NP		261,27**	86,84**	522,58**	168,4**
Cd		7,95**	4163,04**	53,77**	17158,5**
ZnO-NP xCd		48,38**	44,91**	34,22**	762,99**

** : P<0,01, * : P<0,05, ö.d: önemli değil.

Tütün bitkisine uygulanan ZnO-NP, Cd dozlarının ve ZnO-NPxCd interaksiyonunun yeşil aksam ve kök Zn ve Cd konsantrasyonları içerikleri istatistiki açıdan (p<0,01) önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.2’de yeşil aksam Zn konsantrasyonu 17,84-3,360 mg/kg arasında değişmektedir. Kökte ise 39,74-8,80 mg/kg arasında değiştiği belirlenmiştir. Çinko oksit NP uygulamalarındaki artışla kök Zn konsantrasyonu genel olarak artmıştır. Yeşil aksam Zn konsantrasyonunda ZnO-NP₅ hariç diğer uygulamalarda artış olmuştur. Genel ortalamalar ZnO-NP uygulamaları hem yeşil aksam hemde kökte artış olduğu belirlenmiştir. Buğday’da ZnO-NP ve ZnSO₄ uygulamalarının, Zn konsantrasyonlarının hem yeşil aksam hemde kök bölgelerinde artan dozlar karşısında, kontrol grubuna göre artış gösterdiği Du vd. (2019), tarafından belirtilmiştir.

Yeşil aksam Cd alımları ZnO-NP uygulamaları ile azalmıştır ve Cd uygulamaları ise bitkilerin kök ve yeşil aksamlarındaki Cd birikimini arttırmıştır. Yeşil aksamda en yüksek Cd konsantrasyonu (388 mg Cd/kg) ZnO-NP uygulamasının 1 mg/L dozu ile 3 mg Cd/L dozlarının birlikte uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çinko noksanlığı tarım yapılan topraklarda günümüzde önemli bir sorun iken, eksiklik olan topraklarda bitkinin daha çok Cd soğurduğu genel olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalarda Zn eksikliği olan topraklarda bitkinin daha çok Cd biriktirdiği bildirilmiştir. Çinko uygulanan bitkilerde Cd birikimi büyük oranda engellenmiştir (Adiloğlu., 2002). Yapılan diğer çalışmalarda toprağa Zn ilave edilmesi Cd birikimini yüksek seviyelerde düşürememiştir ve Cd uygulaması ise Zn birikimini etkilemediği bildirilmiştir. Buna göre yeterli düzeyde Zn uygulaması Cd birikimini azaltmıştır fakat tamamen önleyemediği bildirilmiştir (Ulrike ve Remigius., 2005).

Bazı araştırmacılar (Adiloğlu vd. 2005, Liu vd. 2003, Nan vd. 2002, Choudhary vd. 1995, Smilde vd. 1992) artan Cd dozlarında buğday bitkisinde Zn konsantrasyonunu artırdığını rapor ederek Zn ve Cd arasında güçlü bir etki olduğunu rapor etmişlerdir, kimi araştırmacılar da (Akay ve Köleli 2007; Wu vd., 2003; Oliver vd., 1994) aksine Zn ve Cd arasında antagonistik bir etkileşim olduğunu bildirmişler. Köleli vd. (2004), Adiloğlu vd., (2005) ve Ulrike ve Remigius (2005) araştırma bulgularında Zn eksikliği görülen bitkiler için artan Cd uygulaması bitkinin Zn yoğunluğunu azalttığını ve bitkiye yeterli miktarda Zn verildiğinde ise artan Cd uygulamasının Zn konsantrasyonunu artırdığını bildirmişlerdir.

4.1.4. Mineral besin elementi konsantrasyonları

Tütün bitkisinin yeşil aksam makro (N, P ve K) ve mikro (Fe, Cu ve Mn) besin elementleri konsantrasyonu üzerine ZnO-NP ve Cd uygulamalarının etkisi Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Artan Dozlarda ZnO-NP ve Cd Uygulamalarının Tütün bitkisi, yeşil aksamında bazı makro (N, P ve K) ve Mikro (Fe, Cu ve Mn) besin elementi konsantrasyonları üzerine etkileri

Uygulama Dozları (mg/L)		N	P (%)	K	Fe	Cu (mg/kg)	Mn
ZnO-NP₀	Cd₀	2,79d	0,940a	4,14e	115,1a	5,30ab	28,89e
	Cd₁	3,58b	0,767bc	5,48cd	72,36cd	3,04f	34,85ab
	Cd₃	3,68b	0,727c	6,16b	77,25bc	4,34de	36,18a
ZnO-NP₁	Cd₀	3,48b	0,717c	5,22d	80,07b	5,06abc	22,24f
	Cd₁	3,22c	0,723c	5,74c	68,81de	4,85bcd	32,21cd
	Cd₃	3,63b	0,820b	6,08b	68,83de	5,39a	33,25bc
ZnO-NP₅	Cd₀	3,61b	0,530d	5,31d	60,51f	4,17e	18,01g
	Cd₁	3,55b	0,570d	5,46cd	63,67ef	4,95abc	20,92f
	Cd₃	4,32a	0,697c	6,63a	71,19d	4,72cd	30,39de
ZnO-NP Ortalama	ZnO-NP₀	3,35b	0,811a	5,26b	88,25a	4,23c	33,30a
	ZnO-NP₁	3,44b	0,753b	5,68a	72,57b	5,10a	29,23b
	ZnO-NP₅	3,83a	0,599c	5,80a	65,12c	4,61b	23,11c
Cd Ortalama	Cd₀	3,29c	0,729ab	4,89c	85,23a	4,84a	23,04c
	Cd₁	3,45b	0,687b	5,56b	68,28c	4,28b	29,32b
	Cd₃	3,88a	0,748a	6,29a	72,42b	4,82a	33,27a
ZnO-NP		28,06**	57,47**	21,23**	129,39**	21,05**	173,50**
Cd		39,795**	4,67**	129,15**	72,53**	11,07**	175,11**
ZnO-NPxCd		13,88**	16,58**	12,86**	59,695**	22,08**	15,51**

** : P<0,01, * : P<0,05, ö.d: önemli değil. **: %1 düzeyinde önemli

Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının yeşil aksamında bazı makro (N, P, K) besin elementi konsantrasyonları ZnO-NPxCd interaksyonu istatistiki açıdan önemli (p<0,01) bulunmuştur (Çizelge 4.3).

Yeşil aksam N konsantrasyonu en yüksek % 4,32 ile ZnO-NP₅+Cd₃ dozundan elde edilmiştir. Fosfor besin elementi konsantrasyonu ise en yüksek (% 0,94) ZnO-NP ve Cd uygulanmamış kontrol bitkisinden elde edilmiştir. Potasyum yeşil aksam konsantrasyonu en yüksek ZnO-NP₅+Cd₃ uygulama dozunda (% 6.63) belirlenmiştir. Yeşil aksamda ZnO-NP uygulamaları kontrol gruplarına göre N ve K konsantrasyonların da artışa, P ise azalmaya neden olmuştur (Çizelge 4.3). Yağmur ve Aydın (2013), topraktan ve yapraktan Zn uygulamalarının marul (*Lactuca sativa* L.) bitkisinin gelişmesi ve bazı mineral madde kapsamı üzerine etkisi çalışmalarında, özellikle yapraktan uygulanan artan Zn dozlarının kontrol grubuna göre N ve K elementlerinde artış, P'de ise azalma olduğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 4.3'te tütün bitkilerine ZnO-NP ve Cd uygulamaları yeşil aksam Fe, Cu, Mn mikro besin elementleri konsantrasyonları üzerine istatistiksel olarak önemli (p<0.01) etkide bulunmuştur. Yeşil aksamda en yüksek Fe konsantrasyonu (115 mg/kg) kontrol bitkisinden (ZnO-NP₀+Cd₀) elde edilirken ZnO-NP uygulamaları Fe alımı üzerine azaltıcı bir etki göstermiştir.

En fazla Cu konsantrasyonu (5,39 mg/kg) ZnO-NP₁+Cd₃ dozunda, en yüksek Mn konsantrasyonu (36,18 mg/kg) ZnO-NP₀+ Cd₃ dozunda belirlenmiştir. Yeşil aksamda Fe ve Mn alımı ZnO-NP uygulamaları ile azalırken Cu alımı kontrole göre artmıştır. Çinko oksit NP uygulamaları Fe ve Cu üzerine etkisinin genel ortamlar (ZnO-NP₁ ve ZnO-NP₅) üzerinde, kontrol (ZnO-NP₀) gruplarına göre azalma olduğu, Mn ise artış belirlenmiştir. Karaman vd. (1999), artan dozlarda Zn uygulamalarının fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisinde mineral besin elementleri konsantrasyonlarına etkisinin araştırıldığı çalışmada, P, Fe ve Mn kapsamlarının azaldığını belirtmişlerdir. Kadmiyum uygulamaları ise Fe alımı kontrole göre azaltmış, Mn alımını ise arttırmıştır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.4. Artan Dozlarda ZnO-NP ve Cd Uygulamalarının Tütün Bitkisinin Kök Makro (P ve K) ve Mikro (Fe, Cu ve Mn) Besin Elementi Konsantrasyonları Üzerine Etkileri

Uygulama Dozları (mg/L)		P (%)	K (%)	Fe	Cu (mg/kg)	Mn (mg/kg)
ZnO-NP₀	Cd₀	1,23c	6,26d	1309 e	10,97e	69,67cd
	Cd₁	1,49b	8,79b	1343e	22,00d	118,13b
	Cd₃	1,61b	7,26cd	2190c	26,41c	82,73c
ZnO-NP₁	Cd₀	1,14cd	4,20e	1633d	13,06e	55,71de
	Cd₁	1,89a	12,92a	2410abc	31,01ab	57,46de
	Cd₃	1,55b	9,25b	2638a	33,63a	144,57a
ZnO-NP₅	Cd₀	1,13cd	3,35e	1535de	12,54e	52,40de
	Cd₁	0,95d	8,30bc	2305bc	20,07d	40,14e
	Cd₃	1,23c	9,18b	2504ab	28,84bc	85,44c
ZnO-NP Ortalama	ZnO-NP₀	1,45a	7,44b	1614b	19,79b	90,18a
	ZnO-NP₁	1,53a	8,79a	2227a	25,90a	85,91a
	ZnO-NP₅	1,10b	6,94b	2115a	20,48b	59,32b
Cd Ortalama	Cd₀	1,17b	4,60c	1492c	12,19c	59,26c
	Cd₁	1,45a	10,00a	2019b	24,36b	7191b
	Cd₃	1,46a	8,56b	2444a	29,62a	104,24a
ZnO-NP		34,01**	20,65**	51,13**	25,21**	25,96**
Cd		18,69**	176,9**	109,16**	180,22**	419,97**
ZnO-NPxCd		13,22**	27,17**	8,56**	5,71**	33,19**

** : P<0,01, * : P<0,05, ” ö.d: önemli değil.

Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamaları ile ZnO-NPxCd interaksiyonu tütün bitkisinin kök makro (P ve K) ve mikro (Fe, Cu, Mn) besin elementi konsantrasyonları üzerine istatistiksel olarak önemli (p<0,01) etkide bulunmuştur. Köklerde ZnO-NP uygulamaları P ve K konsantrasyonunun da ZnO-NP₁ dozunda artışa neden olmuştur.

En yüksek makro besin elementleri (P ve K) konsantrasyonu (sırasıyla % 1,89 ve 12,92) ZnO-NP₁+Cd₁ dozundan, en yüksek mikro besin elementleri konsantrasyonları (2638 mg Fe/kg, 33,63 mg Cu/kg ve 114,57 mg Mn/kg) ise ZnO-NP₁+Cd₃ uygulama dozlarından elde edilmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4.4'te Kök mikro element konsantrasyonları üzerine ZnO-NP uygulamaları genel ortalamalarda Fe konsantrasyonu artmış, Mn konsantrasyonu azalmış ve Cu konsantrasyonu ise ZnO-NP₁ dozunda kontrol ve ZnO-NP₅ dozlarına kıyasla artış göstermiştir. Köklerde Cd uygulamaları Fe, Cu ve Mn konsantrasyonları üzerinde pozitif bir etki göstererek artmaya neden olmuştur.

Stoyeneva ve Doncheva (2002), yaptıkları çalışmada artan Zn konsantrasyonlarında, başlangıçta N, P ve K miktarlarını fazla etkilemediğini fakat daha sonra azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Bitkiler yüksek Zn konsantrasyonlarına maruz kaldığında P eksikliğine neden olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Lee vd., 1996).

Yapılan başka bir çalışmada bitkinin P içeriği, toprağın Cd kontaminasyonunun etkisi bitki çeşidi ile ilişkili bulunmuştur. Buna göre Cd'un P alımına etkisi, bitki organı ve çeşidine bağlı olarak değişebilmektedir (Ciećko vd., 2004).

Zhao vd. (2005), tarafından yapılan saksı denemesinde, yüksek miktarda uygulanan Zn, yeşil aksam ve kökte verim düşüklüğüne sebep olmuştur. Bu durum ise Zn toksisitesi olarak bildirilmiştir. Artan Zn uygulamaları sonucunda Cd konsantrasyonunu önemli miktarda azalma göstermiş, buna karşın 5 mg Zn/kg⁻¹ uygulaması dışında kökteki Cd konsantrasyonunu önemli derecede artırmıştır. Bu verilere göre Zn'nin Cd'yi kökten yeşil aksama taşınmasını engellediği şeklinde bildirilmiştir.

Topraktaki Cd'nin bitkinin P ve K gibi elementlerin alımı, diğer organlara transferi ve kullanımı açısından değişiklik yarattığı birçok araştırmacı (Ciećko vd., 1995; 1998; 2000; 2001; 2004 a; 2004 b; 2004 c; Das vd., 1998; Hlusek ve Richter 1992; Navarro-Pedreno vd., 1997; Obata ve Umebayashi 1997) tarafından bildirilmiştir. Bitkinin çeşidi ve organı, topraktaki Cd miktarı K ve P gibi elementlerde artış ya da azalışa neden olmaktadır.

Cd uygulamalarının, Mn ve Fe alımına etkisini araştırılan bir çalışmada kök ve sürgünlerde Mn ve Fe yoğunluğunun azaldığı bildirilmiştir (Hernández vd., 1998).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ağır metal kirliliği sorunu, insan faaliyetlerinin etkisiyle her geçen gün artmaktadır. Bu kirleticilerin çevre ve canlılar üzerine toksik etkilerini azaltmak için yeni teknikler geliştirilmekte ve konu ile ilgili araştırmalar giderek artmaktadır. Fitoremediasyon, bitki yetiştirilerek metallere kirlenmiş toprakların temizlenmesi yöntemidir. Bu sürdürülebilir, çevre dostu ve ekonomik yöntem, geleneksel remediasyon yöntemlerine alternatif olarak daha hızlı ve kolay uygulanabilir bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır. Yöntemde en önemli faktör, belirli kirleticiyi temizlemek için kullanılacak uygun bir bitki türünün kullanılmasıdır.

Kadmiyum ağır metaller içinde canlılar için en toksik metallere biridir. Bu metal ile kontamine olmuş ortamların fitoekstraksiyonunda tütün gibi akümülyasyon kapasitesi yüksek bitkiler kullanılmaktadır. Ancak mevcut Cd akümülyatör bitki türlerinin Cd alım kapasiteleri sınırlıdır. Son yıllarda gelişen nanoteknoloji ile bazı nanomalzemelerin bitki büyümesini teşvik ederek fitoekstraksiyon verimliliğini artırma potansiyelleri araştırılmaya başlanmıştır. Nanomalzemelerin kirleticilerle uzaklaştırabilme, bitki büyümesini teşvik etme ve kirleticinin alınabilirliğini artırabilme potansiyeli olduğu bildirilmiştir.

Bu tez çalışmasında tütün bitkisinin Cd alım ve toksisitesi üzerine ZnO-NP uygulamalarının etkisi araştırılmıştır. Deneme, su kültürü ortamında bitkilere Cd (0-1-3 mg/L) ve ZnO-NP (0-1-5 mg/L) uygulanarak kontrollü koşullarda iklim odasında 20 gün boyunca yürütülmüştür.

Bu araştırmada Cd ve ZnO-NP etkilerine ait sonuçlar biyomas üretimi, klorofil içeriği, ağır metal ve besin elementi alımı üzerine su kültürü ortamında yetiştirilen tütün bitkisinin su kültürü denemesinde ZnO-NPxCd uygulamasının etkilerine ait sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının tütün bitkisinin klorofil içeriğine ZnO-NP, Cd ve ZnO-NPxCd interaksiyonlarının % 1 seviyesinde önemli olduğu bulunmuştur. Artan dozlarda ZnO-NP uygulaması ile tütün bitkisinin Cd uygulamaları

karşısında klorofil içeriğini azalttığı belirlenmiştir. Kirletici olarak kabul edilen Cd varlığının birçok araştırmacı tarafından klorofili olumsuz etkilediği bildirilmiş olup, araştırmamızda da genel olarak bitkilerde klorofil içeriği azalma gösterdiği belirlenmiştir.

Kök ve yeşil aksam kuru ağırlıkları üzerine ZnO-NP, Cd ve ZnOxCd interaksiyonlarının etkisi istatistiki açıdan ($p<0,01$) bulunmuştur. Artan Cd uygulamaları sonucunda ise kuru ağırlıkta azalmalar görülmüştür.

Denemede ZnO-NP, Cd dozlarının ve ZnO-NPxCd interaksiyonunun yeşil aksam ve kök Zn ile Cd konsantrasyon içerikleri istatistiki açıdan ($p<0,01$) önemli bulunmuştur.

Kadmiyum uygulamaları bitkilerin yeşil aksam ile kök bölgesindeki Cd alımları ZnO-NPxCd uygulamaları ile artmıştır. Bitki yeşil aksam ve kök üzerine Zn alımına etkisini de ZnO-NP ve Cd uygulamaları (yeşil aksam ZnO-NP₅ hariç) ile artış göstermiştir.

ZnO-NP ve Cd uygulamalarının artan dozlarda yeşil aksamında bazı makro (N,P ve K) besin elementi konsantrasyonları ZnO-NPxCd interaksiyonu istatistiki açıdan önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Yeşil aksamda ZnO-NP uygulamalarının genel ortalamaları N ve K konsantrasyonların da artışa neden olmuştur. Birçok araştırmada Cd metalinin bitkiler üzerine N ve K içeriğini azalttığını bildirmelerine karşı ZnO-NP uygulamaları ile bütün bitkisinde yüksek dozlarda Cd metale rağmen artış olduğu araştırmamızda belirlenmiştir.

Fosfor elementi üzerine ZnO-NP ve Cd uygulamalarının etkisi ise ZnO-NP₀ doz uygulaması karşısında Cd dozları P alımı azalmış, ZnO-NP₁ ve ZnO-NP₅ uygulamalarında ise Cd dozlarına karşı P içeriği artmıştır.

Tütün bitkilerine ZnO-NP ve Cd uygulamaları yeşil aksam mikro (Fe, Cu ve Mn) besin elementleri konsantrasyonları üzerine istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur.

Yeşil aksamda Fe ve Mn alımının genel ortalamaları, ZnO-NP uygulamaları ile azalırken Cu alımı kontrole göre artmıştır. Kadmiyum uygulamaları ise Fe ve Cu

elementlerinin genel ortalamalarını kontrol grubuna göre azaltmış, Mn’de ise artışa neden olmuştur.

ZnO-NP ve Cd uygulamaları ile ZnO-NPxCd interaksyonu tütün bitkisinin kök makro (P ve K) ve mikro (Fe, Cu, Mn) besin elementi konsantrasyonları üzerine istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) etkide bulunmuştur. Köklerde ZnO-NP uygulamaları P konsantrasyonunun da ZnO-NP₁ ve ZnO-NP₅ (ZnO-NP₅ uygulamasının Cd₁ dozu hariç) dozlarında artış, K konsantrasyonunda ise aynı şekilde kontrol grubuna göre artışa neden olmuştur. Kadmiyum uygulamaları ise kontrol bitkilerine göre genel ortalamalarda P elementinde azalma, K konsantrasyonunda ise artış olmuştur.

Bu araştırma sonuçlarına göre ZnO-NP uygulaması Cd alımını arttırmıştır. Kontrollü şartlar altında yürütülen bu çalışmada bulguların daha ileri seviyeye taşınması için bitkilerin sera ve tarla koşullarında daha uzun süreli yetiştirilerek daha kapsamlı sonuçlar elde edilmesi mümkün olacağı düşünülmektedir. Toksik özellikteki Cd ve diğer ağır metallere kaynaklı kirlenmiş alanlarda çevre kirliliği ve insan sağlığı açısından daha ekolojik bir şekilde uygulanabilirliği, nanoteknoloji ve diğer bilim alanları ile bağdaştıracak başka araştırmalar yapılmasını teşvik edecek sonuçlar belirlenmiştir. Kolay uygulanabilen, maliyeti düşük ve çevre dostu olan ZnO-NP’ler kirlenmiş alanlarda Cd’yi bitkiler tarafından alımını artıran sonuçlara ulaştığından, fitoextraksiyon ve diğer fitoremediasyon yöntemlerinde etkin bir şekilde kullanılabilir olacağı düşünülmektedir.

Fitoremediasyon yönteminde nanomalzemelerin kullanılması fitoremediasyon verimliliğini artırmak için alternatif bir yol sunmakta ancak bu konu hala araştırma aşamasındadır. Bu konudaki bulguları daha da doğrulamak ve bilgiyi ilerletmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Yüksek dozlarda uygulanacak metaloid nanopartikülün bitkide ağır metalin alınmasını teşviki yerine ağır metal gibi bitkide ve toprakta ikincil bir toksik etki oluşturması olasıdır. Bunun önüne geçebilmek için uygulanacak nanopartikülün dozu, boyutu ve türü nanopartikülün ağır metallere fitoekstraksiyonu için önemlidir. Gelecekte yapılacak çalışmalarda, fitoremediasyon ve nanopartikül uygulamalarının ağır metallere kirlenmiş toprakların temizlenmesinde en etkin şekilde uygulanabilmesi için her iki uygulamanın sınırlamalarını en aza indirmek ve

nanopartiküllerin canlı ve çevre üzerine olası olumsuz etkilerinin de detaylı araştırılması gereklidir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adiloğlu, A., 2002, The effect of Zinc (Zn) Application on Uptake of Cadmium (Cd) in Some Cereal Species: *Agronomy and Soil Science*, 48: 553–556.
- Adiloğlu, A., Adiloğlu, S., Gönülsüz, E. ve Öner, N., 2005, Effect of Zinc Application on Cadmium Uptake of Maize Grown in Zinc Deficient Soil, *Pakistan J. of Biological Sci.* 8(1): 10-12.
- Afrayeem, S. M., Chaurasia, A.K., 2017, Effect of zinc oxide nanoparticles on seed germination and seed vigour in chilli (*Capsicum annuum* L.). *Int. J. Pharmacol. Phytochem*, 6, 1564-1566.
- Akay, A., Köleli, N., 2007, Interaction Between Cadmium and Zinc in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Grown under Field Conditions, *Bangladesh J. Bot.* 36(1): 13-19.
- Amirjani, M.R. (2012). Effects of cadmium on wheat growth and some physiological factors. *International Journal of Forest, Soil and Erosion*. 2(1): 50-58.
- Andjelkovic, M., Buha Djordjevic, A., Antonijevic, E., Antonijevic, B., Stanic, M., vd., 2019, Toxic effect of acute cadmium and lead exposure in rat blood, liver, and kidney, *International journal of environmental research and public health*, 16(2), p.274.
- Anonim, 2019, <http://www.onlineadiyamantutunu.com/fileresimler/2417.jpg>, erişim tarihi: 18.12.2019.
- Choudhary, M., Bailey, L.D., Grant, C.A., Leisle, D., 1995, Effect of Zn on the Concentration of Cd and Zn in Plant Tissue of Two Durum Wheat Lines, *Can. J. Plant. Sci.*, 75 (2): 445-448.
- Ciećko, Z., Kalembasa, S., Wyszowski M., Rolka, E., 2004 a, Effect of Soil Contamination by Cadmium on Potassium Uptake by Plants. *Polish J. of Env. Studies*, 13(3): 333-337.
- Ciećko, Z., Kalembasa, S., Wyszowski, M., Rolka, E., 2004 b, The Effect of Soil Contamination with Cadmium on the Phosphorus Content in Plants. *Electronic J. of Polish Agricultural Univ., Env. Development*, 7(1).
- Ciecko, Z., Kalembasa, S., Wyszowski, M., Rolka, E., 2004 c The Effect of Elevated Cadmium Content in Soil on the Uptake of Nitrogen by Plants, *Plant Soil Environ*, 50(7): 283-294.
- Çatak, E., Çolak, G., Tokur, S., Bilgiç, O., 2000, Bazı domatesve tütün genotiplerinde kadmiyum etkilerini inceleyen istatistiksel bir çalışma, *B.A.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(1).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Daghan, H., 2004, Phytoextraction of heavy metal from contaminated soils using genetically modified plants (Doctoral dissertation, Bibliothek der RWTH Aachen).
- Daghan, H., Arslan, M., Uygur, V., Koleli, N., Eren, A., 2010, The cadmium phytoextraction efficiency of SCMTII gene bearing transgenic tobacco plant, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(3), 1974-1978.
- Dağhan, H., Köleli, N., Uygur, V., Arslan, M., Önder, D., vd., 2012, Kadmiyum ile kirlenmiş toprakların fitoekstraksiyonla arıtımında transgenik tütün bitkisinin kullanımının araştırılması, *Toprak Su Dergisi*, 1(1), s.1-6.
- Dağhan, H., Arslan, M., Uygur, V., Koleli, N., 2013, Transformation of tobacco with ScMTII gene-enhanced cadmium and zinc accumulation, *Clean – Soil, Air, Water (ISI)*, 41(5): 503-509, DOI:10.1002/clen.201200298.
- Das, P., Samantaray, S., Rout, R., 1998, Studies on Cadmium Toxicity in Plants: A Review. *Environ. Pollut.*, 98 (1): 29-36.
- Dheri, G.S., Brar, M.S., Malhi, S.S., 2007, Influence of Phosphorus Application on Growth and Cadmium Uptake of Spinach in Two Cadmium-Contaminated Soils. *J. of Plant Nutrition and Soil Sci.*, 170(4): 495-499.
- Du, W., Yang, J., Peng, Q., Liang, X., Mao, H., 2019, Comparison study of zinc nanoparticles and zinc sulphate on wheat growth: From toxicity and zinc biofortification, *Chemosphere*, 227, 109-116.
- Ergen, Ş.F., 2017, Çinko oksit nanopartikülü ile çinko klorür'ün *Daphnia magna* (Straus) üzerine akut toksik etkileri, *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 18(2): 149-153.
- Ergen, Ş.F., Tunca, E.U., 2018, Nanotoxicity modelling and removal efficiencies of ZnONP, *International Journal of Phytoremediation*, 20(1), p.16-26. DOI:10.1080/15226514.2017.1319324
- Faizan, M., Faraz, A., Yusuf, M., Khan, S.T., Hayat, S., 2018, Zinc oxide nanoparticle-mediated changes in photosynthetic efficiency and antioxidant system of tomato plants, *Photosynthetica*, 56(2), 678-686.
- Gonçalves, J.F., Antes, F.G., Maldaner, J., Pereira, L.B., Tabaldi, LA., vd., 2009, Cadmium and Mineral Nutrient Accumulation in Potato Plantlets Grown Under Cadmium Stress in Two Different Experimental Culture Conditions. *Plant Physiol Biochem*, 47(9): 814-21.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gong, X., Huang, D., Liu, Y., Zeng, G., Wang, R., vd., 2017, Stabilized nanoscale zerovalent iron mediated cadmium accumulation and oxidative damage of *Boehmeria nivea* (L.) Gaudich cultivated in cadmium contaminated sediments. *Environmental science and technology*, 51(19), 11308-11316. doi:10.1021/acs.est.7b03164.
- Gowayed, S.M.H., 2017, Impact of Zinc Oxide Nanoparticles on Germination and Antioxidant System of Maize (*Zea mays L.*) Seedling under Cadmium Stress, *Journal of Plant Production Sciences*; Suez Canal University, 6 (1): 1-1
- Hafizi, Z. and Nasr, N., 2018, The effect of zinc oxide nanoparticles on safflower plant growth and physiology, *Engineering, Technology and Applied Science Research*, 8(1), 2508-2513.
- Hernández, L.E., Rodriguez, E.L., Gárate, A., Ruiz, R.C., 1998, Influence of cadmium on the uptake, tissue accumulation and subcellular distribution of manganese in pea seedlings. *Plant Science*, 132: 139- 151.
- Hlusek J. and Richter, R., 1992, Concentration of Major Nutrients in Potatoes Growing in Soil Contaminated with Heavy Metals to which Soil Improvers were Applied, *Rostl. Vyr.* 38(1): 97-106.
- Hussain, A., Ali, S., Rizwan, M., ur Rehman, M.Z., Javed, M.R., vd., 2018, Zinc oxide nanoparticles alter the wheat physiological response and reduce the cadmium uptake by plants, *Environmental pollution*, 242, 1518-1526.
- Hussain, A., Ali, S., Rizwan, M., Zia-ur-Rehman, M., Yasmeen, T., vd., 2019, Morphological and Physiological Responses of Plants to Cadmium Toxicity, In *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants* (p.47-72), Academic Press.
- Kacar, B. 1995. Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri, III. Toprak Analizleri, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları, No:3, Ankara.
- Karaman, M. R., Brohi, A. R., İnal, A., Taban, S., 1999, Effect of iron and zinc applications on growth and on concentration of mineral nutrients of bean (*Phaseolus vulgaris L.*) grown in artificial siltation soils, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(EK2), 341-348.
- Khan, N.A., Ahmad, I., Singh, S., Nazar, R., 2006, Variation in Growth, Photosynthesis and Yield of Five Wheat Cultuvars Exposed to Cd Stres, *Word J. of Agricultural Sci.*, 2(2): 223-226. ISSN 1817-3047.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Khurana, M. and Kansal, B., 2012, Influence of zinc supply on the phytotoxicity of cadmium in maize (*Zea mays L.*) grown on cadmium-contaminated soil, *Acta Agronomica Hungarica*, 60(1):37-46.
- Koller, M., Saleh, H.M., 2018, Introductory Chapter: Introducing Heavy Metals, Heavy Metals, In: Heavy Metals, Eds.: Hosam El-Din M. Saleh and Refaat F. Aglan, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.74783. Available from: <https://www.intechopen.com/books/heavy-metals/introductory-chapter-introducing-heavy-metals>.
- Köleli, N., Eker, S., Çakmak, İ., 2004, Effect of Zinc Fertilization on Cadmium Toxicity in Durum and Bread Wheat Grown in Zinc-Deficient Soil, *Environmental Pollution*, 133(3): 453-459.
- Kushwaha, A., Rani, R., Kumar, S., Gautam, A., 2015, Heavy metal detoxification and tolerance mechanisms in plants: implications for phytoremediation, *Environmental Reviews*, 24(1), 39-51.
- Lee, C.W., Choi, J.M., Pak, C.H., 1996, Micronutrient toxicity in seed geranium (*Pelargonium x hortorum Baley*) , *Journal of American Society Horticulture Science* 121: 77-82.
- Lian, J., Zhao, L., Wu, J., Xiong, H., Bao, Y., vd., 2020, Foliar spray of TiO₂ nanoparticles prevails over root application in reducing Cd accumulation and mitigating Cd-induced phytotoxicity in maize (*Zea mays L.*, *Chemosphere*, 239, 124794.
- Liu, J.G., Liang, J.S., Li, K.Q., Zhang, Z.J., Yu, B.Y., vd., 2003, Correlations Between Cadmium and Mineral Nutrients in Absorption and Accumulation in Various Genotypes of Rice under Cadmium Stres, *Environmental and Public Health Management*, 52(9): 1467-1473.
- Nan, Z., Li, J., Zhang, J., Cheng, G., 2002, Cadmium and Zinc Interactions and Their Transfer in Soil-Crop System under Actual Field Conditions, *The Science of The Total Environment*, 285(1-3): 187-195.
- Navarro Pedreño, J., Gómez, I., Moral, R., Palacios, G., & Mataix, J. (1997), Heavy metals and plant nutrition and development, *Rec. Res. Developm. Phytochem*, 1, 173-179.
- Obata, H., and Umebayashi, M. (1997), Effects of cadmium on mineral nutrient concentrations in plants differing in tolerance for cadmium. *Journal of Plant Nutrition*, 20(1), 97-105.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Oliver, D.P., Hannam., R., Tiler, K.G., Wilhelm, N.S., Merry, R.H., vd., 1994, The Effects of Zinc Fertilization on Cadmium Concentration in Wheat Grain, *J. Environ. Qual.*, 23: 705-711. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America 677 S. Segoe Rd., Madison, WI 53711. USA.
- Öztürk, L., Karanlık, S., Özkutlu, F., Çakmak, İ., Kochian, L.V., 2003, Shoot Biomass and Zinc/Cadmium Uptake for Hyperaccumulator and Non-Accumulator Thlaspi Species in Response to Growth on a Zinc-Deficient Calcareous Soil, *Plant Science*, 164(6): 1095- 1101.
- Pandey, A., Sharda, G., Sanjay, S., Raghvendra, Yadav, S., 2010, Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of Cicer arietinum, *J Exp. Nanoscience*, 5(6):488-497.
- Palmgren, M. G., Clemens, S., Williams, L. E., Krämer, U., Borg, S., vd., (2008), Zinc biofortification of cereals: problems and solutions, *Trends in plant science*, 13(9), 464-473.
- Pullagurala, V. L. R., Adisa, I. O., Rawat, S., Kim, B., Barrios, A. C., vd., (2018), Finding the conditions for the beneficial use of ZnO nanoparticles towards plants-A review, *Environmental Pollution*, 241, 1175-1181.
- Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., vd., 2019, Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat, *Chemosphere*, 214, 269-277.
- Sandalio, L.M., Dalurzo, H.C., Gómez, M., Puertas-Romero, M.C., del Rio, L.A., 2001, Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants, *Journal of Experimental Botany*, 52 (362): 2115-2126.
- Singh, J., Lee, B.K. 2016, Influence of nano-TiO₂ particles on the bioaccumulation of Cd in soybean plants (Glycine max): A possible mechanism for the removal of Cd from the contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 170, 88–96.
- Smilde, K.W., 1981, Heavy-Metal Accumulation in Crops Grown on Sewage Sludge Amended with Metal Salts, *Plant and Soil*, 62: 3-14.
- Smilde, K.W., Van, L.B., Van., D.W. 1992, The Extraction by Soil and Absorption by Plants of Applied Zinc and Cadmium, *Plant and Soil*, 143(2): 233-238.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Stoyanova, Z. and Doncheva, S. (2002), The Effect of zinc supply and succinate treatment on plant growth and mineral uptake in Pea plant. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 14(2): 111-116.
- Song, B., Xu, P., Chen, M., Tang, W., Zeng, G., vd., 2019, Using nanomaterials to facilitate the phytoremediation of contaminated soil. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 49(9), p.791-824.
- Souri, Z., Karimi, N., Sarmadi, M., Rostami, E., 2017, Salicylic acid nanoparticles (SANPs) improve growth and phytoremediation efficiency of *Isatis cappadocica* Desv., under As stress. *IET Nanobiotechnology*, 11(6), 650-655. doi:10.1049/iet-nbt.2016.0202
- Srivastav, A., Yadav, K.K., Yadav, S., Gupta, N., Singh, J.K., vd., 2019, Nano-phytoremediation of Pollutants from Contaminated Soil Environment: Current Scenario and Future Prospects. In *Phytoremediation*, Ansari A., Gill S., Gill R., R. Lanza G., Newman L. (eds), Chapter 16, pp. 383-401, Springer, Cham.
- Surriya O., Saleem S.S., Waqar, K., Kazi, A.G., 2015, Phytoremediation of soils: prospects and challenges, Chapter1, pp.1-36, In: *Soil remediation and plants: Prospects and challenges*, Eds.Hakeem, K., Sabir, M., Ozturk, M. and Mermut, A.R., Academic Press.
- Taban, S., Alpaslan, M. 1996, Misir bitkisinin çinko, demir, bakir, mangan ve klorofil kapsamı üzerine çinko gübrelemesinin etkisi, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 2(1), 69-73.
- Torabian, S., Zahedi, M., Khoshgoftar, A.H., 2016, Effects of foliar spray of two kinds of zinc oxide on the growth and ion concentration of sunflower cultivars under salt stress, *Journal of plant nutrition*, 39(2), 172-180.
- Ulrike, M., Remigius, C., 2005, Cadmium and Zinc Interactions in Trace Element Accumulation in Chamomile, *J. of Plant Nutrition*. ISSN 0190-4167 CODEN JPNUDS 2005, 28(8): 1383-1396.
- Vaillant, N., Monnet, F., Hitmi, A., Sallanon, H., Coudret, A., 2005, Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress, *Chemosphere*, 59: 1005-1013.
- Venkatachalam, P., Jayaraj, M., Manikandan, R., Geetha, N., Rene, E.R., vd., 2017, Zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) alleviate heavy metal-induced toxicity in *Leucaena leucocephala* seedlings: a physiochemical analysis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110:59-69.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wang, M., Chen, L., Chen, S., Alleviation of cadmium-induced root growth inhibition in crop seedlings by nanoparticles. *Ecotoxicology and environmental safety*, 79, 48-54.
- Wu, F., Zhang, G., Yu, Z., 2003, Interaction of Cadmium and Four Microelements for Uptake and Translocation in Different Barley Genotypes, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 34(13-14): 2003-2020.
- Yağmur, B., Aydın, Ş., 2013, Toprakta ve Yapraktan Çinko Uygulamalarının Marul (*Lactuca sativa L.*) Bitkisinin Gelişmesi ve Bazı Mineral Madde Kapsamı Üzerine Etkisi, *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 23(2), 36-43.
- Zhang, G., Fukami, M., Sekimoto, H., 2000, Genotypic Differences in Effects of Cadmium on Growth and Nutrient Compositions in Wheat. *J. of Plant Nutrition*, ISSN0190-4167, CODENJPNUDS, 23(9): 1337-1350 (1 p 3/4).
- Zhang, G, Fukami, M., Sekimoto, H., 2002 a, Difference between Two Wheat Cultivars in Cd and Mineral Nutrient Uptake under Different Cd Levels, *Pub Med*, PMID:12222053 [PubMed-indexed for MEDLINE].2002 Apr, 13(4): 454-8.
- Zhang, W., Long, J., Li, J., Zhang, M., Xiao, G., vd., 2019, Impact of ZnO nanoparticles on Cd toxicity and bioaccumulation in rice (*Oryza sativa L.*). *Environmental Science and Pollution Research*, 1-10.
- Zhao, Z.Q., Zhu, Y.G., Smith, S.E., Smith, F.A., 2005, Cadmium Uptake by Winter Wheat Seedlings in Response to Interactions Between Phosphorus and Zinc Supply in Soils. *J. of Plant Nutrition*, 28(9): 1569-1580.