

Nano-ZnO Uygulamasının
Aspir Bitkisinin Kadmiyum Fitoekstraksiyonuna Etkisinin Araştırılması

Fatih Ahmet Yentür

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı

Kasım 2019

An Investigation on the Effect of Nano-ZnO Application
on Cadmium Phytoextraction by Safflower Plant

Fatih Ahmet Yentür

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Soil Science and Plant Nutrition

November 2019

Nano-ZnO Uygulamasının
Aspir Bitkisinin Kadmiyum Fitoekstraksiyonuna Etkisinin Araştırılması

Fatih Ahmet Yentür

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

Danışman: Prof. Dr. Hatice Dağhan

Kasım 2019

ONAY

Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Fatih Ahmet Yentür'ün YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Nano-ZnO Uygulamasının Aspir 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 : Prof. Dr. Veli Uygur

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul Karaş

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 Aspir Bitkisinin Kadmiyum Fitoekstraksiyonuna Etkisinin Araştırılması” başlıklı yüksek lisans tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallarına uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 28.11.2019

Fatih Ahmet YENTÜR

ÖZET

Günümüzde, dünyadaki en büyük çevre kirliliği sorunlarından biri, ağır metallere kirlenmiş topraklardır. Fitoekstraksiyon yöntemi, ağır metallere kirlenmiş toprakların temizlenmesinde kullanılabilen en ucuz, çevre dostu yöntemlerden biridir. Bu yöntemin etkinliğini arttırabilmek için son zamanlarda nano teknolojik materyallerden yararlanılmaya başlanmıştır. Bu tez çalışmasında, çinko oksit nanopartikül (ZnO-NP) uygulamasının aspir bitkisinin Cd fitoekstraksiyon potansiyeli üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla Hoagland besin çözeltisine artan dozlarda (0-5-10 mg/L) ZnO-NP ve (0-3-6 mg/L) Cd uygulanarak bitkiler 20 gün boyunca kontrollü koşullarda (16/8 saat ışık/karanlık 20-25 C sıcaklık % 60 nem ve 10 klux ışık yoğunluğu) yetiştirilmiştir. Hasat edilmeden önce yaprakların klorofil içerikleri ölçülmüş ve daha sonra bitki örneklerinin kuru ağırlık ve bazı element konsantrasyonları (Cd, Zn, N, P, K, Fe, Cu ve Mn) belirlenmiştir. Kontrole göre yaprakların klorofil içeriği, bitki kuru ağırlığı ZnO-NP uygulamaları ile olumlu etkilenmiştir. Ancak Cd uygulamaları bu parametrelerde azalmaya neden olmuştur. Her iki uygulamanın (ZnO-NP ve Cd) klorofil içeriği ve yeşil aksam kuru ağırlığı üzerine etkisi istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olarak bulunmuştur. ZnO-NP uygulaması ile yeşil aksam ve kök Zn konsantrasyonları artmıştır. Kadmiyum ve ZnO-NP uygulamaları, kontrol bitkisine göre bitkilerin yeşil aksam N, P, K, Cu ve Mn konsantrasyonlarını azaltırken Fe konsantrasyonunu düşürmüştür. Sonuçlar, artan ZnO-NP uygulama dozlarına bağlı olarak bitkinin Cd akümüülasyonunu arttırdığını ortaya koymuştur. Aspir bitkisi yeşil aksamında, Cd hiperakümüülasyon değerinin (100 µg/g) 5,2 ile 8,7 kat fazla Cd biriktirmiştir. Araştırma aspir bitkisinin Cd fitoremediasyon potansiyelinin yüksek olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Fitoekstraksiyon, ağır metal kirliliği, kirlilik, kadmiyum, ZnO nanopartikül, aspir, su kültürü.

SUMMARY

Nowadays, soils contaminated with heavy metals are one of the biggest environmental pollution problems in the world. Phytoextraction method is one of the most cheapest and environmental friendly remediation method that can be used to clean-up heavy metal contaminated soils. In order to increase the effectiveness of this method, nano-technological materials have recently been used. In this thesis, it is aimed to investigate the effects of zinc oxide nanoparticle (ZnO-NP) application on Cd phytoextraction potential of safflower plant. For this purpose, ZnO-NP and (0-3-6 mg/L) Cd are applied to the Hoagland nutrient solution in increasing doses (0-5-10 mg/L) for 20 days under controlled conditions (16/8 hours light/dark 20-25 C temperature 60 % humidity and 10 klux light intensity). Before harvest, chlorophyll content of leaves was measured and then dry weight and some element concentrations (Cd, Zn, N, P, K, Fe, Cu and Mn) of plant samples were determined. According to the control, the chlorophyll content of the leaves, plant dry weight were positively affected by ZnO-NP applications. However, Cd applications caused a decrease in these parameters. The effect of both applications (ZnO-NP and Cd) on chlorophyll content and green component dry weight was found to be statistically significant at the level of 1 %. Green component and root Zn concentrations increased with ZnO-NP application. The cadmium and ZnO-NP applications decreased the Fe concentration while the green component of the plants decreased N, P, K, Cu and Mn concentrations compared to the control plant. The results revealed that the Cd accumulation of the plant increased due to increasing ZnO-NP application doses. Safflower plant accumulated 5.2 to 8.7 times Cd of Cd hyperaccumulation value (100 µg/g) in its green parts. Research has shown that safflower plant has a high Cd phytoremediation potential.

Keywords: Phytoextraction, heavy metal pollution, pollution, cadmium, ZnO nanoparticle, safflower, hydroponic culture.

TEŞEKKÜR

"Dünyada her şey için; medeniyet için, hayat için, başarı için en hakiki mürşit ilimdir, ilim ve fennin haricinde mürşit aramak gaflettir, cehalettir, dalalettir" düsturu ile çağdaş bilimin, eğitimin ve aydınlanmanın yolunu açan Mustafa Kemal Atatürk'e, derslerimde, akademik çalışmalarım ve tez hazırlama sürecinde, sonsuz sabır ve özveri ile danışmanlığımı üstlenen, her konuda destek veren Sayın Prof. Dr. Hatice Dağhan'a, istatistiki değerlendirmelerime katkı sağlayan Doç. Dr. İmren Kutlu ve Araş. Gör. Engin Takıl'a, laboratuvar sürecinin her aşamasına destek veren Selver Sağır'a ve Merve Beşer'e, Yüksek Lisans eğitimim için gösterdikleri müsamaha ve müsaadeleri için Kütahya İl Tarım ve Orman Müdürlüğü'ne ve destekleri ile her zaman yanımda olan sevgili aileme;

Sonsuz saygılarımı ve teşekkürlerimi arz ederim.

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	17
3.1. Materyal	17
3.1.1. Nanopartikül materyalleri ve seçim kriterleri	17
3.1.2. Bitki materyali ve seçim kriterleri.....	17
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. Nanopartiküllerin sentez ve karakterizasyonu	18
3.2.1.1 Çinko oksit nanopartikül (ZnO-NP) hazırlanması	18
3.2.2 Su kültürü denemeleri	22
3.2.2.1 Fenolojik gözlemler	23
3.2.2.2 Klorofil içeriği	24
3.2.2.3 Bitki hasadı ve mineral analize hazırlanması.....	24
3.2.2.4 Bitkilerde nanopartikül ve mineral element analizleri.....	24
3.2.2.5 İstatistiksel analiz.....	25
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	26
4.1 Aspir Su Kültürü Denemesi	26
4.1.1 Morfolojik gözlemler	26
4.1.2 Klorofil içeriği.....	28
4.1.3 Kuru ağırlıklar.....	30
4.1.4 Yeşil aksam ve kök ZnO-NP ve Cd konsantrasyonları.....	32
4.1.5 Mineral besin elementi konsantrasyonları	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	48
KAYNAKLAR DİZİNİ	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Fitoremediasyonda nanomateryal uygulamalarının etkileri	6
3.1 Aspir bitkisi (Anonim, 2019)	18
3.2 Çinko oksit-NP'lerine ait SEM görüntüleri (×100K).....	19
3.3 Çinko oksit NP'lerine ait SEM - EDX spektrumu ve analiz verileri.....	20
3.4 ZnO-NP'nin parçacık boyut dağılımı	21
3.5 Çinko oksit'lerine ait taramalı zeta potansiyeli sonuçları	21
3.6 X-RD yeşil ışık tayfları metodu ile sentezlenen ZnO-NP	22
4.1 Artan dozlarda çinko oksit-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin gelişimi üzerine etkisi.....	27
4.2 Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin yeşil aksam Cd konsantrasyonuna etkisi	34
4.3 Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin kök Cd konsantrasyonuna etkisi	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Hoagland besin çözeltisi içerisinde bulunan makro ve mikro besin elementleri ve derişimleri.....	23
4.1 Artan dozlarda çinko oksit-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin klorofil içeriğine etkisi	28
4.2 Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin yeşil aksam kuru ağırlığına ve kök kuru ağırlığına etkisi.....	30
4.3 Aspir bitkilerine uygulanan ZnO-NP ve Cd dozlarının yeşil aksam Zn ve Cd konsantrasyonlarına ait veriler	33
4.4 Aspir bitkilerine uygulanan ZnO-NP ve Cd dozlarının kök Zn ve Cd konsantrasyonlarına ait veriler	35
4.5 Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisi, yeşil aksamında bazı makro (N, P ve K) ve mikro (Fe, Cu ve Mn) besin elementi konsantrasyonları üzerine etkileri.....	40
4.6 Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin kök makro (P ve K) ve mikro (Fe, Cu ve Mn) besin elementi konsantrasyonları üzerine etkileri	44

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
μM	Mikromolar
mM	Milimolar
nm	Nanometre
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Kalsiyum Nitrat Tetrahidrat
CeO_2	Seryum Oksit
Co	Kobalt
$\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Bakır Sülfat Monohidrat
Fe_3SO_4	Demir Oksit
FeEDTA	Şelatlı Demir
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
H_3BO_3	Borik Asit
HNO_3	Nitrik Asit
KCl	Potasyum Klorür
KH_2PO_4	Mono Potasyum Fosfat
KNO_3	Potasyum Nitrat
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Magnezyum Sülfat Heptahidrat
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Manganez Sülfat Monohidrat
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$	Amonyum Heptamolibdat
Ni	Nikel
SnO_2	Kalay Oksit
TiO_2	Titanyum Dioksit
Zn	Çinko

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre
ATSDR	Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Ajansı (ABD)
CAT	Katalaz Enzim Aktivitesi
DMSI	Kuru Madde Stres Tolerans İndeksi
DW	Dry Weight (Kuru Ağırlık)
GPX	Glutatyon Peroksidaz
GR	Glutatyon Redüktaz
GSH	İndirgenmiş Glutatyon Konsantrasyonları
ICP-MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) Kütle Spektrometresi (MS)
MNP	Metal Oksit Nanopartikül
NCB	Nnao Karbon Siyahı
NHAP@BC	Biochar Destekli Nano Hidroksiapatit
NZVI	Nano Zero Valent Demir
OECD	Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü
POX	Peroksidaz Enzim Aktivitesi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SOD	Süperoksit Dismutaz
SPAD	Soil and Plant Analyzer Development
SRM (1573a)	Standart Referans Olarak Kullanılan Domates Yapağı
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
TF	Translokasyon Faktörü
X-RD	X-Işını Kırınım Yöntemi
ZnO-NP	Çinko Oksit Nanopartikül

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tarım sektörü, artan nüfusun beslenmesi, giyinme, barınma, ekonomik kalkınma, sanayi sektörüne hammadde sağlanması gibi birçok yönleri ile ülkelerin ekonomik gelişmesinde vazgeçilmez sektörlerden biridir. Tarımsal üretimde ekolojik denge ile sürdürülebilir ve güvenli ve sağlıklı gıda üretimi önem taşımaktadır.

Ülke ekonomilerinin bel kemiği olan tarımsal üretimin ana kaynağı tarım topraklarıdır. Ne yazık ki kısıtlı olan tarım toprakları artan nüfusun ve sanayinin ihtiyacını karşılamak, birim alandan daha fazla verim alabilmek için modern tarım uygulamalarıyla tarımsal girdiler (aşırı gübre, pestisit, vb.) yoğun olarak kullanılmaya başlanmıştır. Diğer yandan artan endüstriyel faaliyetler, toprakların amaç dışı kullanımı, erozyon, nükleer kazalar, nükleer denemeler ve silahlar, madencilik vb. faaliyetler sonucunda, toprak kirliliği giderek artmaktadır. Ayrıca sınırlı alanlarda yapılan tarımsal üretim alanları daralmakta, toprak verimliliği azalmakta, oluşan kirlilik ekolojik dengeyi bozmakta ve besin zincirine katılarak canlı türlerini tehdit etmekte ya da yok olmasına neden olmaktadır (Esetlili ve Anaç, 2015).

Topraklar organik ya da inorganik kirleticilerle kirlenmektedir. Tarım topraklarında en yaygın görülen kirletici, inorganik kirleticiler arasında yer alan ağır metallerdir. endüstriyel faaliyetler, aşırı kimyasal gübre ve pestisit kullanımı, erozyon, sanayi atıkları, kirlenmiş sular, motorlu taşıtların egzozları, volkanik faaliyetler, kentsel atıklarla ağır metaller toprakta birikebilmektedirler (Çağlırmak vd., 2010; Dağhan ve Öztürk, 2015; Köleli vd., 2018).

Doğada canlı ve cansız çevrenin maruz kaldığı ağır metaller yoğunluğu 5 g/cm^3 den daha büyük olan metaller olarak tanımlanmaktadır. Ağır metaller periyodik sistemde metalik özellik gösteren elementlerden geçiş metalleri, bazı ametalleri, lantanit ve aktinitleri de kapsayan elementleri içerir (Duffus, 2002). En önemli ağır metaller arasında kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), çinko (Zn), alüminyum (Al), krom (Cr), bakır (Cu), nikel (Ni), vanadyum (V), gümüş (Ag), kalay (Sn), arsenik (As) ve cıva (Hg) vd. yer almaktadır (Seven vd., 2018). İnorganik kirleticiler arasında yer alan ağır metaller ve organik

kirleticilerden farklı olarak buldukları ortamda form değiştirseler bile bozulmadan kalmaktadırlar (Köleli vd., 2018). Son yıllarda, yeni endüstrinin sürekli gelişmesi ve yaygınlaşması ile topraklar değişen düzeylerde farklı türde kirleticiler tarafından kirlenmektedir. Bu kirleticiler toprakta bozunmadan kaldıkları için toprak mikroorganizmalarının ve bitkilerin büyümesini sınırlandırır, bitki köklerinin ve yaprakların gelişimini engeller, toprak ekosistemini tahrip edebilirler. Kirlenmiş toprak ve sulardan bitkiler aracılığıyla besin zincirine katılan ağır metaller canlı hayatını da tehdit etmektedirler. Bu nedenle, toprak kirliliği sorunu acilen ele alınmalıdır (Zhu vd., 2019). En yaygın ağır metal kirliliğinden biri Cd'den kaynaklanan kirliliktir.

Kadmiyum, yer kabuğında ve sulara doğal olarak oluşan bileşenlerden biri olarak çevremizde yaygın olarak bulunan bir elementtir. İlk kez 1817'de Zn saflaştırma işleminin bir yan ürünü olarak Almanya'da keşfedilmiştir. Kadmiyum terimi, Zn cevherinin eski isimlerinden olan Latince "cadmia" kelimesinden ve Yunanca "kadmeia" kelimelerinden türetilmiştir (Eskier, 2017; ICdA, 2019).

Kadmiyum periyodik cetvelin II B grubunda yer alan metalik bir elementtir ve kimyasal sembolü "Cd"dir. Kadmiyumun atom numarası 48, atom ağırlığı 112,41g/mol, erime noktası 321 °C, kaynama noktası 767 °C ve yoğunluğu 8,65 g/cm³tür. Kimyasal özellikleri bakımından Zn ile Hg arasında benzerlikler gösterir. Doğada daha çok kadmiyum sülfür (CdS) biçiminde ve Zn cevherleri arasında bulunmaktadır (Eskier, 2017).

Tüm ağır metaller arasında kadmiyum (Cd), belki de insanlara potansiyel toksisitesi ve toprak-bitki sistemindeki göreceli hareketliliği nedeniyle toprak bilimi ve bitki beslenmesinde en fazla dikkat çeken ağır metaldir (Tran ve Popova, 2013).

Kadmiyum gibi toksik metallerle kirlenmiş topraklar, bitkilerde ve insanlarda toksik etkilere neden olan önemli bir çevre sorunudur. Tarım toprakları madencilik, tarımsal faaliyetler, endüstriyel faaliyetler gibi antropojenik faaliyetler sonucunda Cd ile kirlenmektedir (Dağhan ve Öztürk, 2015; Hussain vd., 2018; Rizwan vd., 2019 a). Kadmiyum, kirlenmiş toprakta yetişen bitkiler yoluyla besin zincirine katılmaktadır. Bu element, bitkiler için gerekli olmayan, ancak toprakta bulunması halinde bitki tarafından

kolayca alınarak yeşil bitkiler yoluyla besin zincirine katılabilen bir elementtir (Dağhan, 2015; Hussain vd., 2018).

Kadmiyum (Cd), yüksek birikme ve toksisite nedeniyle bitkilerin ana verim sınırlayıcı faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Rizwan vd., 2019 a). Bitkilerde yüksek Cd konsantrasyonları fizyolojik, morfolojik ve moleküler seviyelerde toksisiteye neden olmaktadır. Kadmiyum bitkilerde yaprak kıvrılması ve kloroz gibi görsel toksisite semptomlarının yanı sıra birçok bitkide kök ve sürgün uzunluğu, biyokütle ve fotosentetik pigmentleri azalmaya neden olmuştur. Bununla birlikte aşırı Cd, bitkilerin savunma sistemini olumsuz etkileyerek çeşitli seviyelerde toksisiteye neden olur (Rizwan vd., 2019 a). Kadmiyum ayrıca, bitkilerde oksidatif strese neden olan ve bitkilerin savunma sistemini olumsuz yönde etkileyen reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretilmesine de yol açmaktadır (Qayyum vd., 2017; Hussain vd., 2018)

Belirli Cd formlarına ve konsantrasyonlarına maruziyetin insanlar üzerinde toksik etki yarattığı da bilinmektedir. Amerika Birleşik Devletleri Sağlık ve İnsani Hizmetler Dairesi bünyesinde federal bir halk sağlığı kuruluşu olan Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Ajansı (ATSDR) sıralamasına göre Cd, yedinci en toksik ağır metaldir (ATSDR, 2019). Ayrıca, Cd insandaki farklı organları olumsuz yönde etkileyebilecek kanserojenlerinden biri olarak kabul edilir (Rizwan vd., 2019 a). Besin zincirinden, sudan, sigaradan, havadan ve besinler için kullandığımız kaplardan Cd'ye maruz kalılabilmektedir. Zehirleyici özellikteki Cd, başta kemik sistemini kırılma hızlandırması olmak üzere birçok rahatsızlığa yol açmaktadır. Vücutta kalsiyum (Ca^{+2}) dengesini bozmakta, faydalı proteinlerin dışarı atılmasına yol açmaktadır (Eskier, 2017). Aşırı konsantrasyonlarda Cd'ye uzun süreli mesleki maruziyet, böbrekler ve akciğerler üzerinde olumsuz sağlık etkilerine neden olabilmektedir (ICdA, 2019). Kadmiyumun kronik zehirlenmesine bağlı olan *Itai Itai* hastalığı ilk kez 1950 yılında Japonya'nın Toyama bölgesinde görülmüştür. Kadmiyum içeren maden atıkları karışmış sularla sulanan bölgedeki çeltikler, Cd'yi bünyesinde biriktirmiş ve bu pirinçleri tüketen insanlarda Cd zehirlenmesi görülmüştür. Hastalık bel ve kas ağrıları şeklinde başlamış daha sonra kemik yumuşaması ve deformasyonu, kilo kaybı, kemik kırılmaları şeklinde belirtilerle devam etmiştir (Dağhan, 2011).

Kadmiyumun gerek bitkiler gerekse diğer canlılar üzerine toksik etkisinin önlenmesi için özellikle Cd'nin tarım topraklarından uzaklaştırılması ve Cd kontaminasyonu nedeniyle ortaya çıkan sorunların acilen ele alınması gerekmektedir.

Ağır metallere kirlenmiş toprakların arıtımı basit yöntemlerle çözülemeyen, büyük iş gücü ve maliyet gerektiren ve tüm canlıların geleceğini direkt ilgilendiren ciddi bir problemdir (Çağlır ve Hepçimen, 2010; Zhu vd., 2019).

Kirlenmiş toprakları temizleme teknolojileri fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemleri içerirler. Bu yöntemler genellikle maliyetli ve zaman alıcıdır. Örneğin, mikrobiyal iyileştirme yönteminde tüm mikroplar çevreye çok iyi adapte olmadıkları için uygulama sınırlıdır ve bu nedenle mikrobiyal yöntemle kirlenmiş toprağın temizlenmesi garanti edilememektedir (Chen vd., 2015). Bu nedenle, bu yöntemler bugün karşılaşılan çevre kirliliği konularını ele almak için en uygun yöntemler olarak görülmemektedirler (Chen vd., 2015).

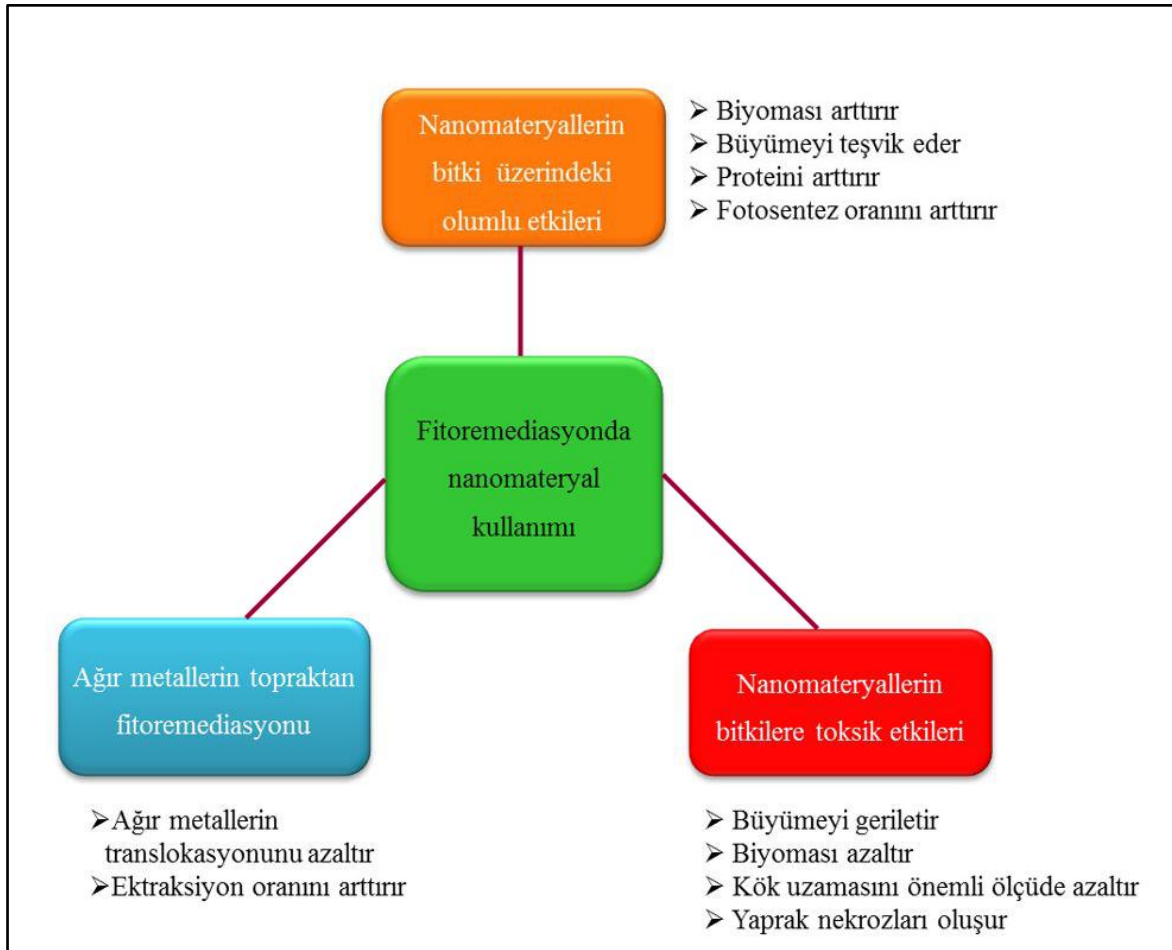
Ağır metallere kirlenmiş toprakların temizlenmesinde kullanılan yöntemler içerisinde en ekonomik ve çevre dostu olan yöntem fitoremediasyon yöntemidir. Fitoremediasyon, bitkilerin kullanılması ile kirletici maddeleri çevreden temizlemek veya zararsız hale getirmek olarak tanımlanan bir arıtım yöntemidir (Dağhan, 2019). Bu yöntem, kirli alanlarda yetiştirilen bitkilerin, kirleticileri kökleriyle alması, yeşil aksamlarına taşması ve biriktirmesi esasına dayanmaktadır. Daha sonra bitkiler geleneksel tarım yöntemleri ile hasat edilerek kirleticiler bitki bünyesinde, topraktan uzaklaştırılmış olmaktadır. Bu yöntem dört ana gruba ayrılabilir; fitoekstraksiyon (kirleticilerle kontamine olmuş toprakların bitkilerle temizlenmesi yöntemi), fitostabilizasyon (bitki yetiştirilerek kirlenmiş toprakta kirleticilerin biyolojik olarak kullanılabilirliğini ve hareketliliğini sınırlandırma veya azaltma yöntemi), rizofiltrasyon (kirlenmiş suların bitkilerle temizlenmesi yöntemi) ve fitovolatilizasyon (kirlenmiş topraklardan bitkilerle kirleticilerin alınması ve atmosfere salınması yöntemi) (Dağhan, 2019). Ağır metallere kirlenmiş toprakların temizlenmesinde fitoekstraksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem fiziksel, kimyasal, termal ve biyolojik süreçleri içeren birçok yöntemden daha ekonomik, çevre dostu, özel donanım gerektirmeyen, uygulanan bölgenin yeniden kullanılabilmesine imkân veren bir yöntemdir. Fitoekstraksiyonda kullanılacak bitkinin; hızlı büyümesi, derin

köklü ve bol yeşil aksamaya sahip olması, hasat edilebilir aksamında yüksek oranda metal biriktirebilmesi, biriken ağır metale karşı tolerans göstermesi ve kolayca hasat edilebilir olması gerekmektedir. Bu yöntem düşük kirletici konsantrasyonları için oldukça etkili bir yöntemdir (Daghan vd., 2012; Köleli vd., 2018; Dağhan, 2019).

Ayrıca bitkilerin olumsuz çevre ve iklim (soğuk, kuraklık ve tuzluluk vb.) koşullarına karşı dayanıklı olmaları, ekim sonrası fazla bakım gereksinimi olmayan bitkilerin seçilmesi de yöntemin daha etkin olmasına katkıda bulunabilmektedir. Fitekstraksiyon yönteminde kullanılan bitkilerin hasat edilmesiyle elde edilen bitki biyokütlesi, yakma, kül haline getirme, sıkıştırma, piroliz, doğrudan depolama gibi yöntemlerle zararsız hale getirilebilmektedir (Köleli vd., 2018).

Fitekstraksiyon yöntemi çevre dostu bir arıtım yöntemi olarak kabul edilmektedir. Ancak yöntemin uygulanması ve kirlenmiş alanların temizlenmesi uzun zaman almaktadır. Bu nedenle, bazı nanomalzemelerin bitki tohumlarının çimlenmesini ve bitkilerin büyümesini destekleyebilmesinden dolayı çevre yönetiminde bitkilerin ve nanomalzemelerin birlikte kullanılması birçok araştırmacının dikkatini çekmiştir. Fitekstraksiyon yöntemine ek olarak nanoteknolojinin de kirliliği giderme için etkili bir yöntem olduğu bulunmuştur. Nanoteknoloji, üç boyuta karşın, en az bir boyutu 1 nm ile 100 nm arasında değişen materyallerin teknoloji, tarım, endüstri gibi birçok alanda kullanıldığı bir teknolojidir (Zhu vd., 2019).

Metalle kirlenmiş toprakların ıslahı için uygun maliyetli ve çevresel açıdan güvenli teknolojilerin uygulanması son zamanlarda çok dikkat çekmiştir. Bu yaklaşımlar arasında, kirliliği toprak ve suyun iyileştirilmesinde nanoteknoloji daha popüler hale gelmektedir. Nanoteknoloji, nanofertilizatörler ve ayrıca tarımda kullanılabilecek diğer nanomalzemeye dayalı formülasyonlar açısından da tarımı artırma potansiyeline sahiptir (Rizwan vd., 2017; Rizwan vd., 2019 b).



Şekil 1.1 Fitoremediasyonda nanomateryal uygulamalarının etkileri (Zhu vd.den (2019) adapte edilmiştir).

Nano materyallerin, fitoremediasyon yönteminde kullanılması ile bitkiler üzerinde olumlu veya olumsuz etkileri olabilmektedir (Şekil 1.1). Nano materyallerin bitkiler üzerindeki olumlu etkileri; biyoması arttırması, büyüme teşvik etmesi, fotosentez ve protein miktarlarını arttırması sayılabilir. Bu materyallerin bitkiler üzerindeki olumsuz etkileri ise büyümeyle birlikte biyomasda azalma, kök uzamasında azalmalar ve yapraklarda toksik etkiyle oluşan kloroz ve nekrozlar sayılabilmektedir. Diğer yandan ağır metallerin topraktan ekstraksiyonunda nanomateryaller, ağır metallerin topraktan ekstraksiyonunu arttırıcı etkide bulunabilmektedirler.

Zhu vd.nin (2019) bildirdiğine göre; son yıllarda yapılan çalışmalar, topraklardaki farklı kirletici maddeleri (Cr, Cu, Pb, Zn ve Cd gibi metalleri) gidermek için nano TiO₂, nano Fe₃O₄, nano Ag, NZVI (nano zero valent demir), nano CeO₂, nano Zn, nano Co, nano Ni, nano SnO₂, NHAP (nano-hidroksiapatit), NCB (nano karbon siyahı) ve NHAP@BC

(biochar destekli nano hidroksiapatit) gibi nanomalzemelerin kullanılmasının mümkün olduğunu göstermiştir (Singh vd., 2016; Xing vd., 2016; Gong vd., 2017; Zhang vd., 2018; Mousavi vd., 2018; Huang vd., 2018). Etkin bir fitoekstraksiyon için bitkilerin iyi gelişmesi, bol yeşil aksamı ve çevre koşullarına toleranslı olması gerekmektedir. ZnO-NP bitki büyüme ve gelişmesine etkisi araştırılan ve gübrede, gıdalarda vb. gibi birçok malzemede kullanılan bir nanomalzemedir (Ergen ve Tunca, 2018). Çinko canlılar için gerekli olan, bitkide birçok metabolik süreçte (klorofil üretimi, çimlenme, nükleik asit, gen ekspresyonu vb.) önemli role sahiptir. Ayrıca birçok enzimin aktivasyonunda görev alarak bitki büyüme ve gelişmesine katkıda bulunur. Belirtilen bu roller nedeniyle bu tez çalışmasında ZnO-NP uygulamaları ile bitkinin gelişimine ve savunmasına katkıda bulunarak Cd'un toksik etkisine karşı fitoekstraksiyon potansiyelini arttırabilme olasılığı araştırılmıştır. Bununla birlikte, nanomalzemelerin konsantrasyonunun doğru olarak kontrol edilmemesi, belirli bir toksisiteye neden olmaktadır. Hem metaller hem de metal bazlı nanoparçacıklar (NP'ler) toprakta kolayca birikmekte, bitkiler ve mikroplar için risk oluşturmaktadırlar. Bununla birlikte, NP'ler ve toprakta bulunan toksik metaller arasındaki etkileşim henüz tam olarak anlaşılmamıştır (Wang vd., 2018).

Bu çalışma ile kadmiyum ile kontamine ortamların remediasyonu için bitki ve nanomalzemelerin beraber ve eş zamanlı kullanılması ve aynı zamanda nanomalzemelerin aspir bitkisi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Ağır metallerin canlılar ve çevre üzerine olumsuz etkilerini azaltmak için geliştirilen yöntemlerden biri fitoekstraksiyon yöntemidir. Etkin, ucuz ve çevre dostu olan yöntemin etkinliğini arttırmak için son zamanlarda nanoteknolojik gelişmelerden yararlanılmaya başlanılmıştır. Nano-fito olarak adlandırılan bu yöntem konusunda yapılan sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Fitoekstraksiyon ve nano-fito konularında yapılan çalışmalar aşağıda yer verilmiştir.

Köleli vd. (2004), ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinde artan Zn ve Cd uygulamalarının yeşil aksam kuru ağırlığı ve yeşil aksam Zn ve Cd konsantrasyonları üzerine etkilerini incelemişlerdir. Yürütülen saksı denemesinde, bitkiler kireçli ve şiddetli Zn eksikliği olan toprağa artan dozlarda Zn (0 ve 10 mg/kg toprak) ve Cd (0, 10 ve 25 mg/kg toprak) uygulanarak sera koşullarında yetiştirilmiştir. Bitkiler 35 ve 65 günlük büyüme dönemlerinin sonundan hasat edilmiştir. Çinko uygulanmamış toprakta büyüyen bitkilerde, özellikle makarnalık buğdayda, yüksek dozda Cd uygulamaları, yeşil aksam büyümesinde önemli derecede strese neden olmuştur. Kadmiyum uygulamasına bakılmaksızın Zn eksikliği, yeşil aksam büyümesinde ciddi azalmalara ve en genç olgun yapraklar üzerinde nekrotik lekelerin oluşmasına neden olmuştur. Çinko eksikliğinin yaprak semptomları, Cd uygulamaları ile şiddetlenmiş ve bu belirtiler makarnalık buğdayda ekmeklik buğdaya göre daha şiddetli olduğu gözlenmiştir. Buğdayda Cd toksisitesinde ise en yaşlı yaprakların yüzey ve kınında nekrozlar oluşmuş ve bu belirtiler Zn eksikliği koşulları altında, özellikle makarnalık buğdayda daha şiddetli gözlenmiştir. Ancak toprağına 10 mg Zn/kg uygulaması ile her iki bitkide de yapraklardaki Cd toksisite şiddetinin hafiflediği bildirilmiştir. Ayrıca Zn eksikliği olan bitkilerde, artan dozlarda Cd uygulaması ile kuru ağırlık miktarında da önemli azalmalar tespit edilmiştir. Sonuçlar makarnalık buğdayın ekmeklik buğdaya göre hem Zn eksikliği ve hem de Cd toksisitesine daha duyarlı olduğunu göstermiştir. Yeşil aksam Cd toksisitesi Zn uygulamaları ile azaltılmıştır. Ancak buna Cd'nin yeşil aksamdaki konsantrasyonlarında bir azalma eşlik etmemiştir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçların, Zn'nin bitkiyi Cd toksisitesinden Cd kaynaklı oksidatif strese karşı bitki savunmasını arttırarak ve enzimler, membran proteinler

ve lipidler gibi kritik hücre bileşenlerine bağlanmada Cd ile rekabet ederek koruduğu hipotezi ile uyumlu olduğunu bildirmişlerdir.

Houshmandfar ve Moraghebi (2011) tarafından karışık Cd, Cu, Ni ve Zn'nin, aspirin tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla bir araştırma yapılmıştır. Bu amaçla dört seviyeli ve üç tekerrürlü ağır metal karışımı içeren tesadüf blokları deseninde (RCBD) bir deneme planlanmıştır. Ağır metal içerikleri eşit miktarda kadmiyum $(\frac{1}{4})[\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4(\text{H}_2\text{O})]$, bakır $(\frac{1}{4})[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5(\text{H}_2\text{O})]$, nikel $(\frac{1}{4})[\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6(\text{H}_2\text{O})]$ ve çinko $(\frac{1}{4})[\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6(\text{H}_2\text{O})]$ olacak şekilde bir karışım hazırlanmıştır. Onarlı aspir tohumları deiyonize suyla yıkanmış, ağır metal karışımı ile karıştırılmış toprağa ekilmiş ve dört farklı seviyede 0 (kontrol), 60, 120 ve 180 mg/kg ağır metal uygulaması gerçekleştirilerek, 25/18 °C gündüz/gece sıcaklığında bir büyüme odasında ve 1500 lux'de 12 saatlik bir fotoperiyodunda bitkiler büyütülmüştür. 25 gün sonra hasat edilen bitkiler, kök ve sürgün uzunluğu ve taze biyokütle açısından değerlendirilmiştir. Aspir tohumlarının çimlenme yüzdesinin, farklı seviyelerde ağır metal karışımı uygulanması nedeniyle olumsuz yönde etkilendiği, ağır metal karışımının tohum çimlenmesini 0,01 olasılık düzeyinde önemli ölçüde inhibe ettiği, tohumların, ağır metal karışımı olmayan kontrollerde en iyi şekilde çimlendiği, çimlenme yüzdesinin 180 mg/kg uygulama seviyesinde belirgin şekilde bastırıldığı tespit edilmiştir. Kontrole oranla 60, 120 ve 180 mg/kg konsantrasyonundaki ağır metal karışımı uygulamalarının sırasıyla % 3,77, 7,54 ve 23,59 ile tohum çimlenmesini önlediği görülmüştür. Sürgün taze ağırlığı, toprağa eklenen karışım konsantrasyonuyla ters orantılı olarak ilişkili bulunmuş; 60, 120 ve 180 mg/kg konsantrasyonlarındaki ağır metal karışımı uygulamalarının sırasıyla % 10,43, % 45,10 ve % 56,12 düşüşle taze ağırlık artışını engellemiştir. Sonuç olarak Cd, Cu, Ni ve Zn gibi metallerin ortamda fazla miktarda bulunmasının tohum çimlenmesini ve fide büyümesini azalttığı belirlenmiş, ayrıca bu metallerin bitki gelişimini azaltan toksik etkilerin üretilmesinden sorumlu olduğu belirlenmiştir.

Prasad vd. (2012), nano ölçekli ZnO-NP'lerin bitki büyümesi ve gelişimi üzerindeki etkilerini 2008-2009 ve 2009-2010 yılları arasında Bölgesel Tarımsal Araştırma İstasyonunda (Tirupati, Hindistan), yürütülen tarla denemeleri ile araştırmışlardır. Çalışmada yerfistiği tohumları artan dozlarda (400, 1000 ve 2000 mg/L) ayrı ayrı ZnO-NP ve şelatlı bulk çinko sülfat (ZnSO_4) süspansiyonları ile ayrı ayrı muamele edilmiş ve bu

işlemin tohum çimlenmesi, çimlenme gücü, bitki gelişimi, çiçeklenme, klorofil içeriği, ürün verimi ve kök gelişimi üzerine etkileri incelenmiştir. Ortalama 25 nm boyutundaki 1000mg/L ZnO-NP dozu uygulaması fıstıkta hem tohum çimlenmesini hem de çimlenme gücünü arttırmıştır. Bu parçacıkların kök ve kök büyümesini arttırmada etkili olduğu saptanmıştır. Bitki başına kapsül verimi, şelatlı ZnSO₄ ile karşılaştırıldığında % 34 daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, şelatlı ZnSO₄'a (% 26,3) kıyasla daha düşük dozda 15 kez yapraktan uygulanan ZnO-NP uygulamasından daha fazla verim (% 29,5 kapsül verim) alınmıştır. Daha yüksek konsantrasyonlu (2000 mg/L) ZnO-NP'nin inhibe edici etkisi nedeniyle benzer çalışmalarda daha uygun dozların seçilmesi önerilmiştir. Nano ölçekli ZnO uygulanan tohumda daha yüksek miktarda Zn tespit edilmiş ve bu Zn'nin çimlenmeyi, kök ve yeşil aksam gelişimini, kuru kütle ağırlığını ve tohum verimini arttırdığı saptanmıştır. Şelatlı ZnSO₄ ile karşılaştırıldığında nano ölçekli ZnO'nun yaprak uygulamasıyla yaprak ve çekirdek tarafından önemli miktarda Zn alımı gözlenmiştir.

Khurana vd. (2012), bir saksı deneyinde, kumlu tın bünyeli birtoprağa artandozlarda Cd (0-10-20 ve 40 mg/kg) ve Zn (0 ve 20 mg/kg) uygulayarak 45 gün süre ile yetiştirilen mısır bitkisinin kuru madde verimi, Cd, Zn ve mikro besin elementi konsantrasyonları üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Kadmiyumun fitotoksik etkisinden dolayı kuru madde veriminde ciddi düzeyde azalma görülmüştür. Kuru madde verimi, herhangi bir Cd dozunda Zn uygulamasından etkilenmediği tespit edilmiştir. Üründe Cd konsantrasyonu ve alımı, Cd uygulama dozlarının artmasıyla kademeli olarak artmıştır. Kadmiyum konsantrasyonundaki artışın, Zn varlığında, Zn'siz uygulamadan daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Angelova vd. (2016), aspir bitkisinin kök, gövde, yaprak ve tohumlarında ağır metal (Pb, Zn ve Cd) birikimini tespit etmek ve bitkinin ağır metallerle kirlenmiş topraklarda yetiştirme olasılığını ve fitoremediasyon etkinliğini belirlemeye yönelik karşılaştırmalı araştırmalar yapmışlardır. Bu amaçla Bulgaristan'da Plovdiv yakınlarındaki Demir Dışı Metal İşleri (MFMW) tarafından kirlenmiş tarımsal alanda kirlilik kaynağından farklı mesafelerde (0,1-0,5-2,0 ve 15 km) kurulan deneme alanlarında çalışmalar yürütülmüştür. Deneme topraklarının total Cd (50-44-31 ve 3 mg/kg), Pb (1984-2429-877 ve 25 mg/kg) ve Zn (2029-2476-1431 ve 34 mg/kg) konsantrasyonları kaynaktan uzaklıklarına göre azalmasına rağmen sınır değerlerinden yüksek ölçülmüştür. Bitki analiz

sonuçları her üç ağır metalinde aspir bitkisinin köklerinde toprak üstü aksamalarına göre daha az biriktiğini ve metal birikimin sırasıyla yapraklar>saplar>kökler>tohumlar şeklinde dağılımı olduğunu göstermiştir. Yapraklarda ağır metal konsantrasyonları; Pb: 581 ile 5227 mg/kg, Zn: 652 ile 2559 mg/kg ve Cd: 148 ile 237 mg/kg arasında değişmiş ve bitkilerde kloroz ve nekrozlar gözlenmemiştir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlara göre aspir bitkisinin Pb, Cd ve Zn'ye toleranslı hiperakümülatör bir bitki olduğunu ve Pb, Cd ve Zn ile kirlenmiş toprakların fitoremediasyonunda başarı ile kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Ağır metallerin aspir gelişimini ve tohumun yağ kalitesini (yağ içeriği ve yağ asitleri bileşimi) etkilemediği içinde fitoremediasyon amaçlı yetiştirilecek bitkilerden elde edilecek tohumlarından yağ elde edilmesi ve yağın kullanılmasının fitoremediasyon maliyetini büyük ölçüde azaltacağı da belirtilmiştir.

Gowayed (2017), ZnO-NP'lerin Cd'nin neden olduğu stres üzerine mısırın (*Zea mays* L.) çimlenmesi ve mısır fidesinin antioksidan sistemi üzerindeki etkisini araştırmıştır. Bu amaçla, yürütülen çimlenme ve 15 gün süren saksı denemelerinde artan dozlarda ZnO-NP (0-250-500 ve 1000 mg/L) ve Cd (0-25-50 mg/L) ayrı ayrı ve her iki uygulamanın birlikte kombinasyonlarının uygulandığı mısır bitkisinde; çimlenme parametreleri (son çimlenme yüzdesi (FGP), ortalama günlük çimlenme (MDG), çimlenme hızının katsayısı (CVG), ortalama çimlenme süresi (MGT), çimlenme indeksi (GI), çimlenme stres tolerans indeksi (GSI), fide canlılığı indeksi (SVI) ve kuru madde stres tolerans indeksi (DMSI)), büyüme parametreleri (yeşil aksam ve kök, taze ve kuru ağırlıkları), serbest radikaller malondialdehit (MDA) ve indirgenmiş glutatyon konsantrasyonları (GSH) süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1), glutatyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2), glutatyon peroksidaz (GPX, EC 1.11.1.9) ve katalaz (CAT, EC 1.11.1.6) aktivitelerini incelemiştir. Sonuçlar, ZnO-NP'lerin (500 mg/L) uygulamasının, Cd konsantrasyonunu, MGT, MDA'yı düşürerek ve MDG, CVG, GSI, SVI ve DMSI'nin indüklenmesini teşvik etmenin yanı sıra GSH, SOD, GR, CAT ve GPX aktivitelerini arttırarak Cd toksisitesine karşı yüksek bir koruma sağladığını göstermiştir. Kadmiyum ile muamele edilmiş fidelere Cd seviyeleri, kontrol ile karşılaştırıldığında konsantrasyona bağlı olarak artmıştır. ZnO-NP uygulanmış fidelerin Cd düzeyleri Cd uygulanmamış fiderle karşılaştırıldığında azalma gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar, Cd ile muamele edilmiş fidelere kıyasla ZnO-NP uygulanmış fidelerin Cd düzeylerinin düştüğünü göstermiştir. Her iki uygulamada da yeşil aksamın Zn ve Cd konsantrasyonlarının

köklerdeki konsantrasyonlardan daha az olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan, yeşil aksamdaki Zn veya Cd konsantrasyonları, her iki uygulamada da kökteki konsantrasyona göre daha az bulunmuş ve bunun Zn ve Cd arasında etkileşime neden olan kimyasal ve fiziksel benzerliklerden kaynaklanabileceği bildirilmiştir.

Venkatachalam vd. (2017), *Leucaena leucocephala* bitkisi üzerine, ağır metal (Cd ve Pb) zararlanması nedeniyle oluşabilecek potansiyel fitotoksisite oksidatif stres belirtilerinin giderilmesinde ZnO-NP'lerin rolünü belirlemek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. ZnO-NP uygulamalarının Cd ve Pb'nin neden olduğu fitotoksisite üzerindeki potansiyel etkisini anlamak için yapılan çalışma, hidrofonic büyüme koşullarında *Leucaena leucocephala* fideleri kullanılarak yürütülmüştür. Bu amaçla nanoparçacık uygulaması için, ZnO NP'lerin ve iki ağır metalin (Cd ve Pb) kombinasyonlarıyla birlikte yedi farklı uygulama (Kontrol ya da Hoagland çözeltisi) 25 mg/L ZnSO₄, 25 mg/L ZnO-NP, 50 mg/L Cd, 50 mg/L Cd+25 mg/L ZnO-NP, 100 mg/L Pb ve 100 mg/L Pb+25 mg/L ZnO-NP) yapılmıştır. Araştırmacılar, 15 günlük bir uygulama gerçekleştirerek, ZnO nanopartiküllerinin *L. leucocephala* fidelerinde iyileştirici etkilerini, bitki büyümesi, biyokütle, metal birikimi, MDA içeriği, fotosentez gibi çeşitli fizyokimyasal parametreleri tespit etmek için pigment içeriklerini, toplam çözünür protein içeriklerini, antioksidan enzim aktivitesini ve genotoksisiteyi incelemişlerdir. Sonuçlar, 50 mg/L Cd ve 100 mg/L Pb ağır metal uygulamalarında, kontrol ile karşılaştırıldığında sürgün ve kök uzunluğunun önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Bununla birlikte, Zn ve ZnO-NP'lerle işlem görmüş bitkilerde sürgün (13,8 cm) ve kök (9,9 cm) uzunluğu artmış ve sürgün büyümesi, kontrol bitkisine göre % 10,4 oranında daha yüksek bulunmuştur. Ağır metallerle birlikte ZnO nanoparçacıklarının eklenmesiyle, yeşil aksam ve kök büyümelerindeki yüzde artış 50 mg Cd/L + 25 mg ZnO-NP/L uygulamasında sırasıyla % 27,2, 35,0 ve 100 mg Pb/L + 25 ZnO-NP mg/L uygulamasında ise sırasıyla % 20,4-27,9 olarak gerçekleşmiştir. Ayrıca, bitki biyokütlesi de kontrol grubuna kıyasla sırasıyla % 29,8, % 25,7 ve % 20,5 oranında (sırasıyla 25 mg ZnO-NP/L, 50 mgCd/L + 25 mg/L ZnO-NP ve 100 mgPb/L + 25 mg ZnO-NP uygulamalarında) önemli bir şekilde artmıştır (p<%0,05). Tek başına Cd ve Pb uygulamaları ile karşılaştırıldığında, ağır metal uygulamaları ile birlikte ZnO-NP uygulamasının, büyüme tolerans indeksini arttırdığı bulunmuştur.

Çalışmada, fide büyümesi, Cd ve Pb maruziyetini takiben ZnO-NP'lerin arttırılması ile önemli ölçüde artmıştır. Sonuçlar, ZnO-NP'lerin artışının fotosentetik pigmentte ve toplam çözüner protein içeriğinde bir artışa neden olurken; yapraklardaki malondialdehit (MDA-lipid peroksidasyon) içeriğinde önemli bir düşüşe neden olduğunu göstermiştir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve peroksidaz (POX) gibi antioksidan enzimlerinin miktarı, ZnO-NP etkisiyle yapraklarda artmıştır. ZnO nanopartiküllerinin oksidatif stresin neden olduğu toksisite üzerindeki iyileştirici etkisi, aynı zamanda, *Leucaena leucocephala* fidelerinin yaprak dokularındaki düşük olan MDA içeriği ve antioksidan enzim aktivitelerinin artan seviyesi ile de doğrulanmıştır. Ayrıca, ZnO-NP'lerin Cd ve Pb metalleri ile kombinasyon halinde eklenmesi, maruz kalan bitkilerin RAPD modelinde yeni DNA bantlarının varlığı ve/veya normal bantların bulunmaması gibi farklı genomik değişikliklere de neden olmuştur. Araştırmacılar, ZnO-NP'lerin ağır metal bulaşmış ortamın temizlenmesinde potansiyel bir rol oynadığını rapor etmişlerdir.

Wang vd. (2018), arbusküler mikoriza mantarı *Funneliformis caledonium* ile infekteli ve infektesiz tatlı sorgum üzerinde ZnO-NP'lerinin ve Cd'nin birlikte etkilerini incelemiştir. Bu amaçla bitkiler, artan dozlarda ZnO-NP (0-50-250 ve 500 mg/kg) ve Cd (0 ve 5 mg/kg) uygulanmış bitkiler ve *F. caledonium* mantarı ile infekteli ve infektesiz topraklarda kontrollü koşullarda (12 saat aydınlık/12 saat karanlık, 5000 lux ışık şiddetinde, % 70-80 nemli, 30-33 / 25-28 °C sıcaklık) yetiştirilmişlerdir. Sonuçlar, tek başına veya kombinasyon halinde eklenen ZnO-NP'ler ve Cd uygulamalarının tümü *F. caledonium* mantarının kolonizasyonu üzerinde zararlı etkileri olduğunu göstermiştir. Yüksek dozlarda (250 ve 500 mg/kg) uygulanan ZnO-NP'ler tatlı sorgumda fitotoksik etkiye neden olarak bitki büyümesini engellemiş ve ZnO-NP'ler Cd ile sinerjistik toksisiteye yol açtıkları bildirilmiştir. Diğer yandan, daha düşük dozda (50 mg/kg) ZnO-NP'lerin bitki için toksik olmadığı ve bitki büyümesinde Cd ile antagonistik etkileşim içinde olduğu saptanmıştır. Kadmiyum uygulaması ile (5 mg/kg Cd) ZnO-NP'ler hem yeşil aksamda hem de köklerde Cd birikimini azaltmış ve bu sonuç Cd, Zn'nin yeşil aksama taşınmasını da azaltarak aralarında potansiyel bir antagonistik etkileşim olduğunu kanıtlamıştır. Yüksek dozlarda ZnO-NP uygulandığında, Cd kök Zn konsantrasyonlarını önemli ölçüde arttırırken, düşük ZnO-NP dozlarında ise yeşil aksam Zn konsantrasyonlarını düşürmüştür. Buna karşılık tüm ZnO-NP dozlarında, yeşil aksam ve kök Cd konsantrasyonları önemli ölçüde azalmıştır. Ayrıca, yüksek dozlarda ZnO-NP'ler

genellikle toprak enzim aktivitelerini inhibe etmiştir. Fakat Cd ilavesi önemli veya uyarıcı hiçbir etki göstermemiş ve ZnO NP'lerin inhibe edici etkilerini hafifletmiştir. Arbusküler mikorizal mantarı aşılama, bitki büyümesini ve P beslenmesini ve toprak enzim aktivitelerini arttırmıştır. Düşük doz ZnO-NP'lerin tek başlarına veya Cd ile kombinasyon halinde eklenmesiyle, arbusküler mikorizal mantarı inokülasyonu Zn konsantrasyonlarını düşürmüştür. Sonuç olarak, ZnO-NP'leri ile Cd arasında bitki büyümesi ve beslenmesi, bitki Zn ve Cd birikimi ve toprak enzimi aktiviteleri arasındaki karmaşık etkileşimler belirlenmiş ve arbusküler mikorizal mantarı aşılama ZnO-NP'lerin ve Cd'nin neden olduğu olumsuz etkilerin azaltılmasında etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Hussein vd. (2018), 7 mg/kg toplam Cd içeren toprakta yetiştirdikleri buğday bitkilerine ekimden sonra 2, 4, 6 ve 8. haftalarda ZnO-NP'leri sprey şeklinde uygulamışlardır. Araştırmacılar, bu uygulamaların buğdayda (*Triticum aestivum*) büyüme, verim, antioksidan enzimler, Cd ve Zn konsantrasyonları üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre ZnO-NP uygulamasının buğday bitkisinde büyümeyi, fotosentezi ve tane verimini arttırdığı; buna karşın buğday yeşil aksam, kök ve danelerdeki Cd konsantrasyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Buğday bitkisinin Cd konsantrasyonları kontrol grubu bitkilerine göre NP'lerin yaprak uygulamasında % 30-77 ve toprak uygulamasında ise % 16-78 oranında azaldığı saptanmıştır. ZnO-NP uygulamaları yapraklardaki elektrolit sızıntısını azaltırken, SOD ve POD aktivitelerini arttırmıştır. Bu çalışma, ZnO-NP'lerinin buğday bitkisinde Cd toksisitesini azalttığı, Cd konsantrasyonunu etkili bir şekilde düşürdüğü ve Zn konsantrasyonu ise yükselttiğini sonucunu ortaya çıkarmıştır.

Khan vd. (2019), 7,67 mg/kg toplam Cd ve 39,04 mg/kg Zn içeren kumlu tınlı bünyeye sahip toprakla hazırladıkları 5 kg'lık saksılara 4 farklı dozda (0-25-50 ve 100 mg/kg) ZnO-NP uygulamışlardır. Çalışmada, Cd ile kontamine olmuş toprakta tohum ekiminden sonra 125 gün boyunca normal ve kısıtlı sulama koşullarında yetiştirilen buğdayın Cd alımında ZnO-NP'lerinin etkinliği, kontrollü koşullarda (%68±5 nem, 29/20 °C gündüz/gece) incelenmiştir. Kontrol bitkisinin dokularında düşük biyokütle ve yüksek oksidatif stres gözlenmiş ve kuraklık stresi bitki biyokütlesini daha da azaltırken oksidatif strese de neden olmuştur. ZnO-NP uygulamaları ise, ya tek başına Cd stresinde ya da kuraklık ile birlikte kombinasyonlarında doku kuru ağırlığını arttırmış ve oksidatif stresi

azaltmıştır. Diğer yandan, kuraklık stresi, buğday dokularında ve tanelerindeki Cd içeriğini arttırırken, ZnO-NP'ler, toprakta biyolojik olarak kullanılabilir Cd'yi ve kökler tarafından Cd biriktirilmesini azaltarak dokularda ve tahıllarda Cd birikimini önemli ölçüde azaltmıştır. Bu bulgular, kirlenmiş topraklara NP uygulamasının buğday verimliliğini artırabileceğini ve toprak Cd kirlenmesini tek başına veya kısıtlı sulama koşullarında etkili bir şekilde azaltabileceğini göstermiştir.

Zhang vd. (2019), metal oksit nanoparçacıklarının (MNP'ler) yaygın olarak kullanılmasıyla tarım toprakları yavaş yavaş MNP'ler için birincil bir atık deposu haline gelmeye başladığını ve bu nanoparçacıkların bir arada buldukları ağır metallerin toksisitesi ve akıbeti üzerine etkilerinin çok fazla bilinmediğini bildirmişlerdir. Bu amaçla, araştırmacılar, ZnO-NP toprak-pirinç sisteminde Cd toksisitesi ve Cd biyobirikimine etkisini değerlendirmek için saksı denemesi yapmışlardır. Farklı miktarlarda ZnO-NP (0-50-100 ve 500 mg/kg ZnO-NP) ve üç farklı düzeyde (düşük dozda-Cd, 1,0 mg/kg; orta dozda-Cd, 2,5 mg/kg; yüksek dozda-Cd, 5,0 mg/kg) Cd çeltik toprağına ilave edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ZnO-NP'lerin eklenmesinin, toprak pH değerini önemli ölçüde arttırdığını ve toprak pH değerinin ZnO-NPkonsantrasyonundaki artışla arttığını göstermiştir. ZnO-NP'lerin eklenmesinden sonra, bitki boyunda ve Cd stresi altındaki biyokütlede azalma önlenerek artış sağlandığı bildirilmiştir. Ayrıca, kontrolle kıyaslandığında ZnO-NP ilavesiyle pirinç biyokütlesinde, 2,5 Cd mg/kg ve 5,0 mg Cd/kg dozlarında sırasıyla % 13-22 ve % 25-43 artış olduğu gözlenmiştir. Yüksek ZnO-NPkonsantrasyonun, rizosfer toprağında biyoyarayışlı Cd konsantrasyonunu artırabildiği belirtilmiştir. Yapılan araştırma, ZnO-NP'lerin, özellikle erken büyüme aşamasında, bitki büyümesini iyileştirebileceğini ve Cd'nin toksik etkilerini azalttığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte, yüksek konsantrasyonlu (500 mg/kg) ZnO-NP'lerin düşük dozda Cd ile kirliliğe toprağına eklenmesi, pirinç (*Oryza sativa* L) tarafından Cd birikimini önemli ölçüde kolaylaştırabildiği saptanmıştır. Diğer yandan yapılan çalışmada, düşük Cd stresinde (L-Cd ve M-Cd uygulama grupları), 50 ve 100 mg/kg ZnO-NP ilaveleri köklerde ve sürgünlerde Cd konsantrasyonunu hafifçe azalttığı tespit edilmiştir. Yeşil aksam ve pirinç bitkilerinin tanelerinde Cd birikmesi, kök hücre duvarı tutması, fazladan ksilem taşınması ve floem yeniden taşınması gibi birçok fizyolojik işlemle belirlenmiştir. Bitkilerdeki birikimi açısından Cd ve Zn arasında önemli etkileşimler meydana gelebileceği, Cd ve Zn'nin kök hücre plazma membranında ortak bir taşıma sistemini paylaşabileceği ve kök hücre plazma

zarında taşıma için rekabet edebileceği, Cd alımının Zn engellemesi ile ilgili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Rizwan vd. (2019 b), buğdayda ZnO-NP ve Fe-NP ile tohum çimlenmesinin, büyüme ve Cd birikimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla, buğday tohumları, 24 saat boyunca 0-25-50-75 ve 100 mg/L ZnO-NP'leri ve 0-5-10-15 ve 20 mg/L dozlarında da Fe-NP'leri ile priming yapılmıştır. Daha sonra tohumlar, uzun süre kanalizasyon suyu uygulaması sonucunda Cd ile kirlenmiş deneme toprağına ekilmiştir. Bitkiler, deneme boyunca tarla kapasitesinin % 60-70'i oranında sulanarak 124 gün boyunca büyütülmüştür. Deneme sonunda hasat edilen bitkilerin boyu, başak boyu ve yeşil aksam, kök, başak ve tanelerin kuru ağırlıkları, fotosentez, antioksidan enzimler ve buğdayda Cd, Zn ve Fe içerikleri analiz edilmiştir. Sonuçlar, nanopartiküllerin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında buğdayın fotosentezini pozitif olarak etkilediğini göstermiştir. Nanopartiküller Cd stresine maruz kalmış buğday yapraklarındaki elektrolit sızıntısını ve süperoksit dismutaz ve peroksidaz aktivitelerini azaltmıştır. NP'lerin uygulanmasıyla kökler, yeşil aksam ve danelerin Cd konsantrasyonları önemli ölçüde azalmıştır. Tohumlar daha yüksek NP'lerle muamele edildiğinde tanelerdeki Cd içeriği, dane için Cd eşik seviyesinin (0,2 mg/kg) altında bulunmuştur. ZnO-NP'lerinin uygulanması, Zn konsantrasyonları ve Fe-NP'ler, Fe konsantrasyonlarını, kökler, sürgünler ve tanelerde arttırmıştır. Araştırmacılar, yaptıkları çalışma sonucunda, genel olarak, NP'lerin buğdayda bitki biyokütlesinin ve besin elementleri konsantrasyonlarının artmasında ve Cd toksisitesinin azalmasında büyük rol oynadığını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Nanopartikül materyalleri ve seçim kriterleri

Yapılan denemede nanopartikül ZnO-NP uygulama materyali olarak kullanılmıştır. Çinko oksit NP, araştırmacı Dr. Birol Karakaya tarafından modifiye edilen sol/gel yöntemi ile Gebze- MAM'da sentezlenmiştir.

Tez çalışmasında uygulama materyali olarak çinko oksit nanopartikülü tercihinin en önemli kriteri, bu nanopartikülün İktisadi İşbirliği ve Gelişme Teşkilatı (OECD) tarafından öncelikli nanomateryallerden biri olarak belirlenmesidir (OECD, 2013).

3.1.2. Bitki materyali ve seçim kriterleri

Denemede bitki materyali olarak aspir (*Carthamus tinctorius*) bitkisinin Dinçer çeşidi kullanılmıştır. Aspir (*Carthamus tinctorius*) tohumları T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden sağlanmıştır.

Bu çeşit iklim (sıcaklık, kuraklık vb) koşullarına karşı dayanıklı olması, bol toprak üstü aksamı olan ve iyi boylanabilen, dikensiz, turuncu renkte çiçekleri olan, ve birçok kültür bitkisinin yetiştirilemediği yerlerde kolaylıkla yetiştirilebilen bir bitki (Özaşık, 2015; Şahin ve Taşlıgil, 2016; Babaoğlu, 2019) olmasından dolayı tez çalışmasında kullanılmıştır. Aspir bitkisinin kuraklığa dayanıklı, iklimsel seçiciliği olmayan bir bitki olması farklı ekolojik koşullarda kolayca yetiştirilme avantajına sahiptir. Ülkemizde de çorak alanlarda, kurak ve geçiş bölgelerinde yetiştirilebilecek bir bitkidir (Şahin ve Taşlıgil, 2016). Dinçer aspir çeşidi 90-100 cm'ye kadar büyüeyebilen, turuncu renkte çiçekleri olan bir bitkidir (Şahin ve Taşlıgil, 2016).

Aspir kullanılarak ağır metallerin giderimi üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlı kalmıştır (Köleli vd., 2018).



Şekil 3.1 Aspir bitkisi (Anonim, 2019)

3.2.Yöntem

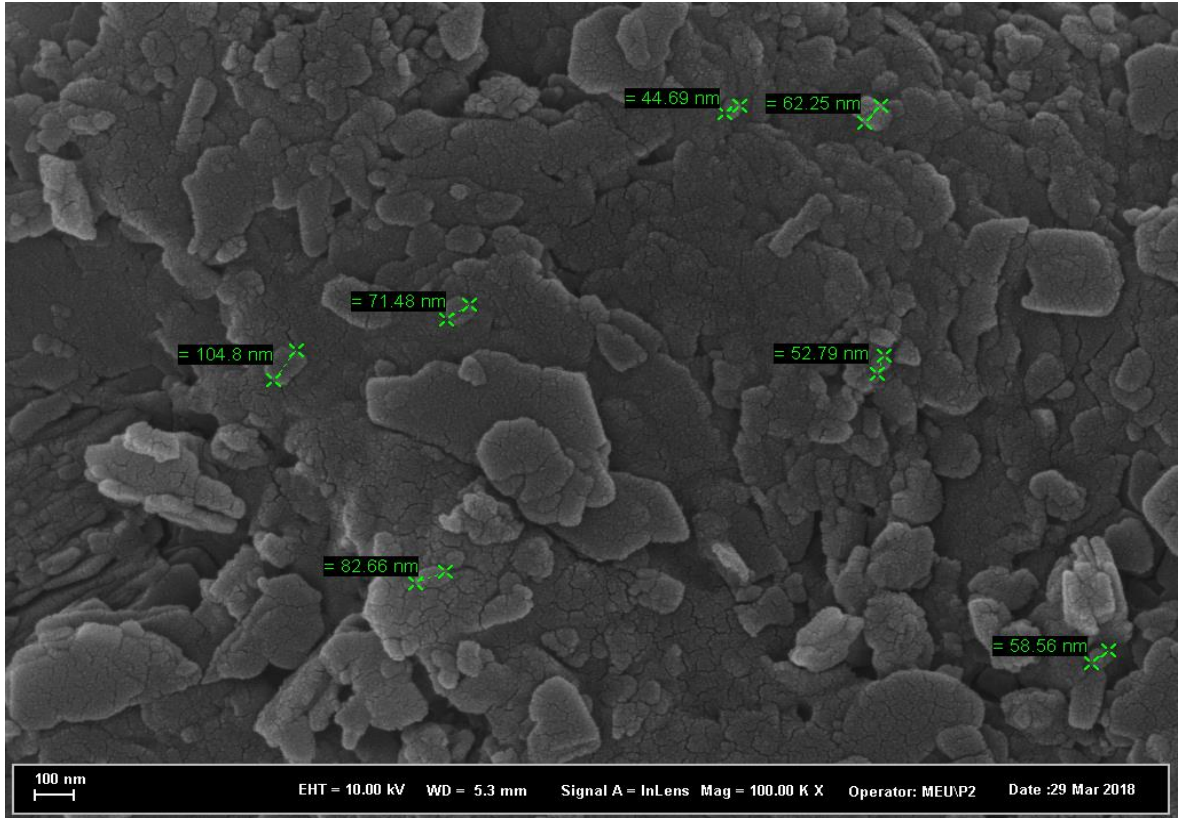
3.2.1. Nanopartiküllerin sentez ve karakterizasyonu

3.2.1.1 Çinko oksit nanopartikül (ZnO-NP) hazırlanması

Çinko oksit nanopartikül, modifiye edilen sol-jel yöntemine göre Dr. Birol Karakaya tarafından hazırlanmıştır. Bu nanopartikül öncelikle, konsantre ZnO-NP'ler sentezlenmiş ve daha sonra ise gümüş nitrat (AgNO_3) ile nano ZnO elde edilmiştir. Nanoboyutlu reçineler (polyvinilalkol türevi polimer ya da oligomerler) üretilen nanoparçacıkların stabilizasyonunda kullanılmıştır. Su solvent olarak kullanılmıştır.

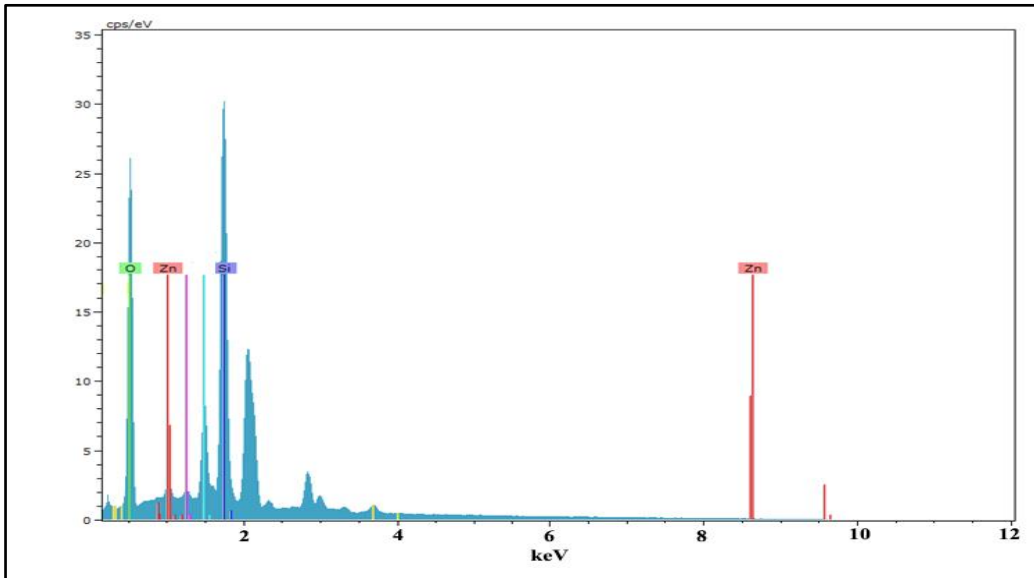
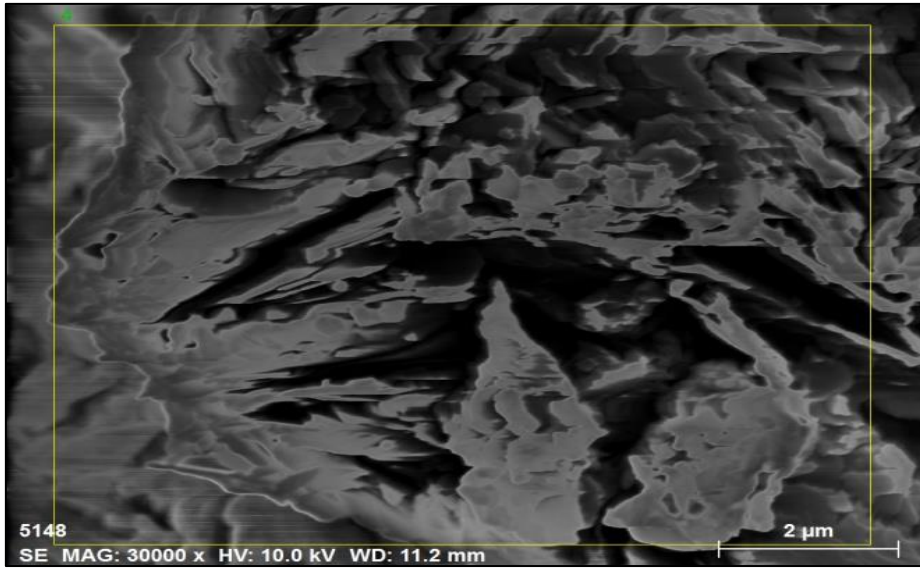
Çinko oksit-NP'lerinin şekil, parçacık boyutları ve yapısı ile ilgili özellikleri X-ışınları Toz Kırınımı (X-RD, Bruker, D8 Venture model) ve Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ve Taramalı Elektron Mikroskopu- Enerji Dağılımlı X- Işını Spektroskopisi (SEM-EDX, Zeiss, Supra 55 model) cihazları kullanılarak belirlenmiştir.

Elektron mikroskobu (SEM) ile görüntülenen ZnO-NP materyalinin görseli (Şekil 3.2) incelendiğinde ZnO-NP'lerin 100 nm'nin altında boyuta sahip olduğu ve en küçük boyutun ise 44,69 nm olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ZnO-NP'lerinin küresel şekilde morfolojik özelliklikte olduğu görülmüştür.



Şekil 3.2 Çinko oksit-NP'lerine ait SEM görüntüleri ($\times 100K$)

EDX analiz verilerine göre materyalin çoğunlukla Zn ve ZnO piklerine sahip olduğunu belirlenmiştir (Şekil 3.3). Ayrıca büyük oranda ZnO kompozisyonunda olduğunu belirlenmiştir.

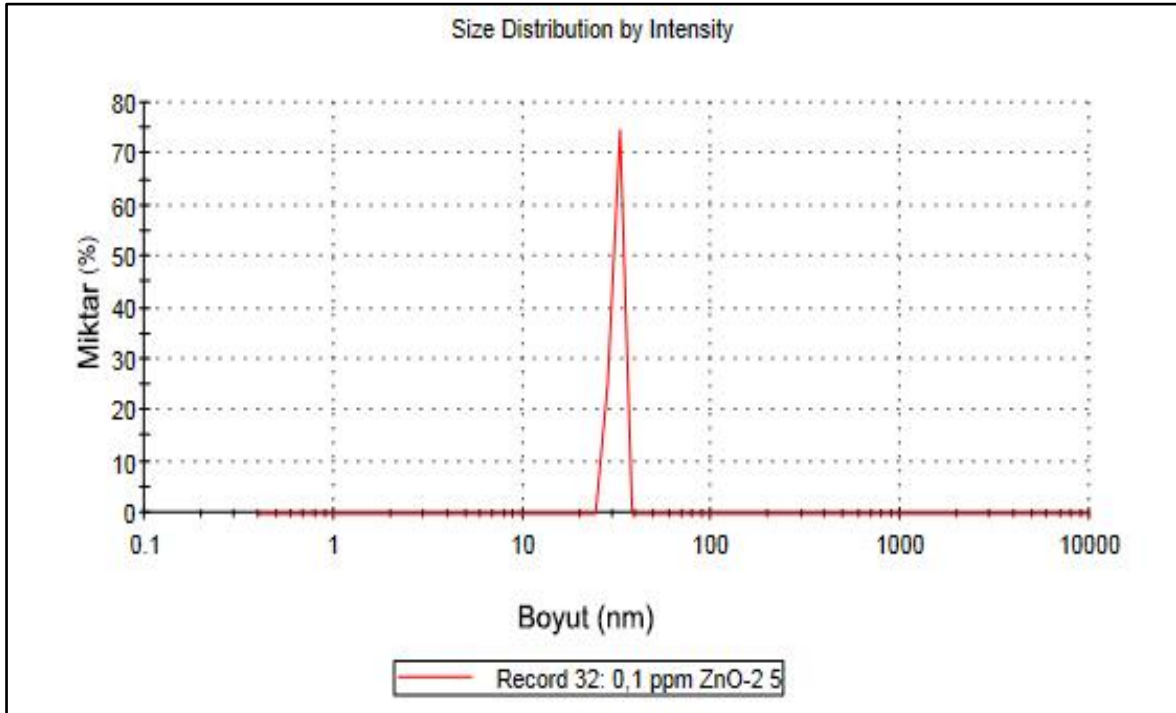


Spectrum: 4

El	AN	Series	unn. [wt. %]	C norm. [wt. %]	C Atom. [at. %]	C Error (1 Sigma) [wt. %]
O	8	K-series	33.20	30.31	59.02	3.70
Pt	78	M-series	30.97	28.27	4.52	1.20
Si	14	K-series	25.76	23.52	26.08	1.07
Pd	46	L-series	10.68	9.76	2.86	0.39
Al	13	K-series	4.43	4.05	4.67	0.23
Zn	30	L-series	2.15	1.96	0.93	0.16
Ca	20	K-series	1.76	1.61	1.25	0.09
Mg	12	K-series	0.57	0.52	0.67	0.06
Total:			109.52	100.00	100.00	

Şekil 3.3 Çinko oksit NP'lerine ait SEM - EDX spektrumu ve analiz verileri

Çinko oksit NP'lerinin boyut dağılım yoğunluğu verileri aşağıda verilmiştir (Şekil 3.4). Zeta potansiyeli verileri deneme materyali boyutunun ortalama olarak 30-50 nm arasında olduğunu göstermiştir. Ancak Şekil 3.5'de görülen pikin keskinliğinde anlaşılacağı gibi 24,4-32,7 nm civarında nanopartikülün daha fazla oluştuğu tespit edilmiştir.



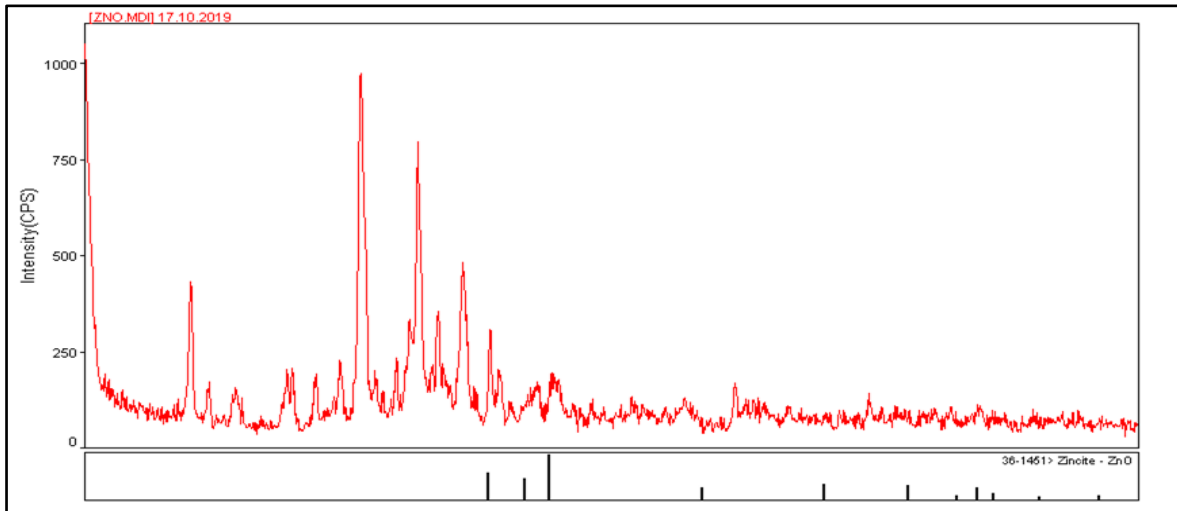
Şekil 3.4 ZnO-NP'nin parçacık boyut dağılımı

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 3.5 Çinko oksit'lerine ait taramalı zeta potansiyeli sonuçları

X-RD Sonucu

Deneme materyali olan ZnO-NP'lerin kristal yapıları X-RD (RadB-DMAX II Bilgisayar Kontrollü X-ışını Kırınım Difraktometresi) cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonuçları (Şekil 3.6), 2θ 'da karşılık gelen 100° , 002 101° , 102° 200° , 110° ve 112° 'de yer alan keskin piklerin ZnO-NP'lerin kristal yapısını gösteren pikler olduğu görülmektedir.



Şekil 3.6 X-RD yeşil ışık tayfları metodu ile sentezlenen ZnO-NP

Aşağıda verilen Debye-Scherrer's denklemine göre (Soren vd. 2018); (Eren ve baran 2019) ise ZnO-NP boyutunun 24,89 nm olduğu hesap edilmiştir.

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

Eşitlikte yer alan D, parçacığın kristal çapını (nm); K, sabit sayıyı (0.90); λ , dalga boyu X-ray'ı (1.5406 \AA); β , maksimum pikin yarı yükseklikteki genişliğini (rad.); θ , Bragg açısını göstermektedir (Denklem 1).

3.2.2 Su kültürü denemeleri

Su kültürü denemelerinde kullanılmak üzere Aspir tohumları torf perlit (1:1) karışımında çimlendirildikten sonra 2-3 yapraklı fide haline gelen ve hafif köklenmiş fideler pH'sı 5,2 olan Hoagland besin çözeltisine (Hoagland ve Arnon, 1950) aktarılmıştır. Bu çözelti her 2-3 günde bir yenilenmiştir. Çinko oksit NP'ler 0, 5, 10 mg/L dozlarında Hoagland besin çözeltisine ilave edilmiştir. Diğer yandan Cd ($\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ formunda) ise

artan dozlarda (0-3-6 mg/L) besin çözeltilisine uygulanmıştır. Bitkideki Cd toksik sınır değeri (3 mg/L) dikkate alınarak Cd dozları belirlenmiştir.

Deneme, kontrollü koşullara (16/8 saat ışık/karanlıkta, 25/20 °C sıcaklık ve % 60 nem, ışık yoğunluğu 10 klux) sahip iklim odasında 20 gün boyunca yürütülmüştür.

Aspir bitkisi her saksıda 2 bitki olacak şekilde 4,5 L'lik polietilen saksılarda yetiştirilmiştir. Hoagland ve Arnon'a, (1950) göre modifiye edilen bitkilerin yetiştirildiği besin çözeltilisinin içeriği aşağıda verilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Hoagland besin çözeltilisi içerisinde bulunan makro ve mikro besin elementleri ve derişimleri.

Makro Elementler	
*KH ₂ PO ₄	1 mM
KNO ₃	3 mM
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25 mM
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	2 mM
KCl	2,5x10 ⁻² mM
Mikro Elementler	
*MnSO ₄ .H ₂ O	1 µM
*CuSO ₄ .H ₂ O	0,25 µM
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	0,25 µM
H ₃ BO ₃	0,125 µM
FeEDTA	0,1 mM

*Zn içeren kimyasallar (KH₂PO₄ (≤0,2ppm), MnSO₄.H₂O (%0,005), CuSO₄.H₂O (%0,03), CdSO₄.8H₂O (% 0,002))

3.2.2.1 Fenolojik gözlemler

Çinko oksit NP'lerin deneme boyunca oluşturduğu farklılaşmalar 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. Bitkilerdeki bu değişiklikler fotoğraflanmıştır.

3.2.2.2 Klorofil içeriği

Cd ve ZnO-NP'lerin uygulanan farklı dozları ile bitki yaprakları üzerindeki toksik etkisinden dolayı, farklı klorofil içerikleri, klorofil ölçüm aleti (Konica-Minolta SPAD-502, Japon) ile saptanmıştır. Yukarıda bahsedilen morfolojik gözlemler ve klorofil ölçümleri gerçekleştirilerek, bitkiler hasat edilmiş ve analizleri yapılmıştır.

3.2.2.3 Bitki hasadı ve mineral analize hazırlanması

Bitki örnekleri kök ve vejetatif aksam olarak hasat edilmiştir. Bitki örnekleri öncelikle saf su ile yıkanmış, kurulandıktan sonra kurutma dolabında (65 °C'de sabit ağırlığa gelinceye kadar) kurutulmuştur. Bu işlemlerin ardından bitkilerin kuru ağırlıkları tespit edilerek analiz için bitki öğütme değirmeninde (Retsch MM-301, Almanya) öğütülmüştür.

3.2.2.4 Bitkilerde nanopartikül ve mineral element analizleri

Öğütülen kök ve yeşil aksam bitki örnekleri yaş yakma yöntemine göre mikro dalga fırında yakılmıştır (Müftüoğulları vd., 2012). Bu amaçla 0,2 g'lık bitki örneği, % 65'lik 5 mL HNO₃ % 35'lik 2 mL H₂O₂ ve 2 mL deiyonize su ile 45 dakika mikrodalga fırında (Cem, MARSXpress 6, ABD) çözünürleştirilmiştir. Daha sonra Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre (AAS, Analytic Jena novAA 350, Almanya) cihazı kullanılarak, elde edilen süzükten toplam metal konsantrasyonları (Cd, Zn, bakır (Cu), demir (Fe), mangan (Mn)) tespit edilmiştir.

Element analizlerinin doğruluğu, metal içeriği belli olan standart sertifikalı bir domates bitkisinin (SRM 1573a –Domates Yaprakları) aynı yöntemle analize tabi tutulması ile kontrol edilmiştir.

Bitkilerin yeşil aksam numunelerinde N analizi, Kjheldal yöntemine göre yapılmıştır (Bremner ve Mulvaney, 1982). K konsantrasyonları bitki numunelerinde flame fotometre (BWB-XP model) ile ölçülmüştür (Kacar, 1995).

Bitki örnekleri üzerinde gerçekleştirilen P analizi, sarı renk yöntemi esas alınarak yapılmış ve P konsantrasyonu spektrofotometre cihazı (Hitachi u-2000) kullanılarak ölçülmüştür (Kacar, 1995).

3.2.2.5 İstatistiksel analiz

Araştırma sonuçlarının değerlendirilmesi için yapılan varyans analizi, SPSS-20 istatistiksel analiz paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Duncan testi ile ortalamalar arasında yer alan farklar karşılaştırılmıştır. Homojen alt gruplar $p < 0,05$ 'te oluşturulmuştur.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

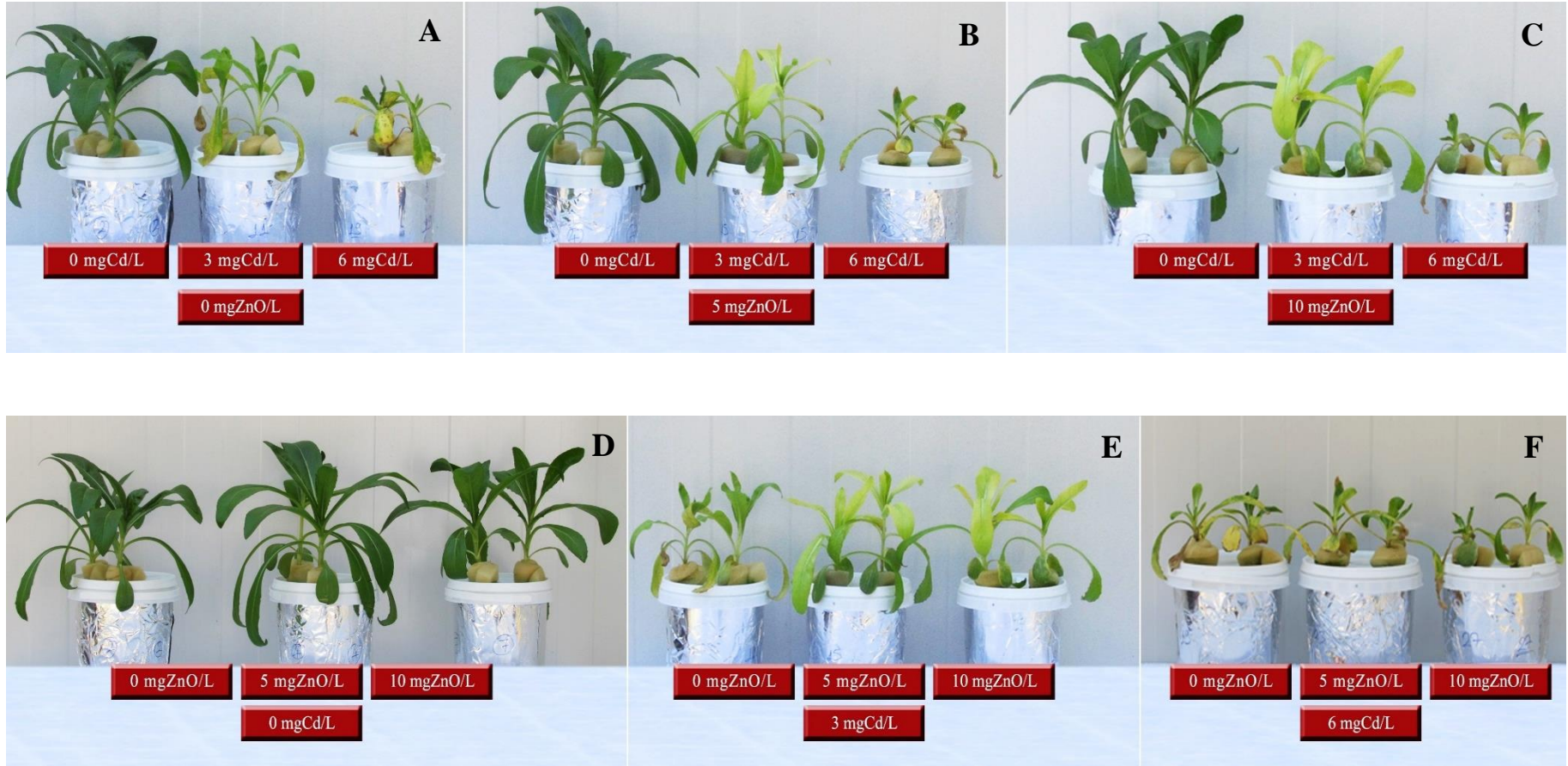
4.1 Aspir Su Kültürü Denemesi

Denemede ZnO-NP×Cd uygulamasının etkilerini görmek için, artan dozlarda (0-5-10 mg/L) ZnO-NP ve Cd (0-3-6 mg/L) besin çözeltilisine eklenmiş, bitkilerin tepkileri gözlemlenmiş ve analiz sonuçları değerlendirilmiştir.

4.1.1 Morfolojik gözlemler

Aspir bitkisinin gelişimini gösteren, Cd ve ZnO-NP uygulamalarının etkileri Şekil 4.1 A-F'de gösterilmiştir. Denemede ZnO-NP uygulanmamış artan dozlarda Cd uygulanmış bitkiler kontrolle kıyaslandığında Cd'nin şiddetli toksik etkisi bariz bir şekilde ortaya çıkmıştır (Şekil 4.1 A). Kontrol bitkisi bol yeşil aksamı ve yeşil yapraklı iken Cd uygulanmış bitkilerde kloroz ve nekrozlar olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1 A). 5 ve 10 mg ZnO-NP/L uygulanmış bitkilerde ise Cd uygulamaları ile bitkilerde kontrole göre gelişmede gerileme, 3 mg Cd/kg dozlarında şiddetli kloroz ve bodurlaşma, 6 mg Cd/kg dozlarında ise şiddetli nekroz ve bodurlaşma gözlenmiştir (Şekil 4.1 B-C). Diğer yandan Cd uygulanmamış artan dozlarda ZnO-NP uygulanmış bitki gelişimin iyi olduğu, bitki yapraklarının koyu yeşil renkli olduğu, ZnO-NP uygulamalarının bitki gelişimini olumlu yönde etkilediği gözlenmiştir (Şekil 4.1 D). Kadmiyum uygulamaları ile bitkilerin bodurlaştığı, yaprakların küçüldüğü ve yaşlı yapraklarda çok şiddetli klorozlar olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1 E-F).

Benzer şekilde 0 mg/L ZnO uygulamalarında bitki kökleri beyaz sağlıklı iken Cd uygulamasıyla köklerde gelişimin azaldığı, kök uçlarında kahverengi lekelerin olduğu ve ağırlıklı olarak köklerin kirli beyaz renkte olduğu gözlemlenmiştir. Kadmiyum dozundaki artışla kök gelişiminin çok zayıf olduğu, kök uçlarında ise kahverengi lekelerin yoğunlaştığı, biyomasın azaldığı, saçak ve kılcal köklerin çok az olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.1 Artan dozlarda çinko oksit-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin gelişimi üzerine etkisi.

4.1.2 Klorofil içeriği

Artan dozlarda uygulanan ZnO-NP (0, 5 ve 10 mg/L) ve Cd'nin (0, 3 ve 6 mg/L) deneme bitkilerinin, klorofil içerikleri, kök ve yeşil aksam kuru ağırlıkları üzerine etkilerini görmek için bitkiler kontrollü koşullarda 20 gün süre ile su kültüründe yetiştirilmiştir.

Çizelge 4.1'de Çinko oksit-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin, yeşil aksam (g/bitki), klorofil (SPAD Birimi) içeriği üzerine etkisinin istatistiksel analizinden elde edilen varyans analiz sonuçlarına göre önemli olduğu ($p<0,01$) görülmektedir.

Çizelge 4.1 Artan dozlarda çinko oksit-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin klorofil içeriğine etkisi

Uygulama Dozları (mg/L)		Klorofil (SPAD Birimi)
ZnO-NP ₀	Cd ₀	42,3ab
	Cd ₃	21,4c
	Cd ₆	6,2e
ZnO-NP ₅	Cd ₀	41,5b
	Cd ₃	8,5d
	Cd ₆	8,8d
ZnO-NP ₁₀	Cd ₀	42,9a
	Cd ₃	8,2d
	Cd ₆	8,9d
ZnO-NP Ortalama	ZnO-NP ₀	23,3a
	ZnO-NP ₅	19,6b
	ZnO-NP ₁₀	20,0b
Cd Ortalama	Cd ₀	42,2a
	Cd ₃	12,7b
	Cd ₆	8,0c
ZnO-NP		67,7**
Cd		5,6**
ZnO-NP × Cd		129,9**

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

Bitkilerin hasat öncesi yapılan klorofil ölçümlerinde en yüksek klorofil içeriğine (42,9 SPAD birimi) 10 mg/L ZnO-NP uygulanan ve Cd uygulanmayan bitkilerden elde edildiği görülmüştür. En düşük klorofil değeri (6,23 SPAD birimi) ise ZnO-NP uygulanmayan ve 6 mg/L Cd uygulamasından elde edilmiştir. Klorofil içerikleri ZnO-NP ve Cd uygulama ortalamaları bakımından, en yüksek 0 mg/kg ZnO-NP uygulamasında (23,3 SPAD birimi) ve Cd uygulanmamış bitkilerde (42,2 SPAD birimi) belirlenmiştir ve sonuçlar istatistiksel olarak ($p<0,01$) önemli bulunmuştur. Çinko oksit nanopartikül (ZnO-NP) ve Cd uygulamalarının ve ZnO-NP×Cd interaksiyonunun aspir bitkisinin klorofil içeriğine etkileri istatistiksel olarak ($p<0,01$) önemli bulunmuştur.

Kontrol bitkilerine kıyasla artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının yaprakların klorofil içeriği üzerine etkileri kontrol (ZnO-NP₀+Cd₀, ZnO-NP₅+Cd₀ ve ZnO-NP₁₀+Cd₀) gruplarına göre düşüş göstermiştir.

ZnO-NP uygulamasının klorofil içeriğine olan olumlu etkisi, Rizwan vd.nin (2019 b) bildirdiği sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Rizwan vd. (2019 b), yaptıkları çalışmada artan dozlarda ZnO-NP (0-50-75 ve 100 mg/L) ve Fe NP'lerle (0-10-15 ve 20 mg/L) tohum priming yapılan buğday bitkilerinin kontrole kıyasla istatistiksel olarak fotosentetik parametrelerde artışlara neden olduğunu saptamışlardır. Bu artışların kontrolle kıyaslandığında, 100 mg/L ZnO-NP uygulama dozunda bitkilerin klorofila'sı % 55, klorofili b'si % 133 karotenoid % 112, Pn'de % 77, Gs'de % 104 ve Tr'de % 103 oranında olduğu bildirilmiştir. Çalışmada NP'lerin, klorofil a, klorofil b, karotenoid gibi fotosentetik parametreleri kontrolle karşılaştırıldığında önemli ölçüde etkilemiştir. Bu parametrelerdeki eğilim artan NP seviyeleri ile daha büyük etkilere doğru yönelmiştir. Nanopartiküllerin uygulama dozlarındaki artışla fotosentetik parametrelerin konsantrasyonlarında artış gözlemlendiği ve bu parametrelerin en düşük konsantrasyonunun kontrolde, en yüksek konsantrasyonlarının ise NP'lerin en yüksek doz uygulamalarında ölçüldüğü rapor edilmiştir. Artan dozlarda ZnO-NP uygulamaları bitkilerin klorofil içeriklerine olumlu bir etki yaparken Cd uygulamaları ile klorofil içeriklerinde ciddi azalmalar belirlenmiştir. ZnO-NP dozlarındaki artışa rağmen Cd uygulanmış bitkilerin klorofil içeriklerindeki azalma önlenememiştir. Morfolojik gözlemler de bu sonucu desteklemektedir (Şekil 4.1).

4.1.3 Kuru ağırlıklar

Aspir bitkisinin yeşil aksam ve kuru ağırlığına hem ZnO-NP hem de Cd uygulamalarının ana etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2). Aspir bitkisinin yeşil aksamında en yüksek kuru ağırlık Cd uygulanmamış 5 ve 10 mg/L ZnO-NP uygulama dozlarında (sırasıyla 0,505 g ve 0,498 g) elde edilmiştir. Ortalamalar bakımından en yüksek kuru ağırlık ZnO-NP uygulanmış bitkilerde (0,272 g ve 0,278 g) elde edilirken Cd ortalamalarında ise en fazla yeşil aksam kuru ağırlığı Cd uygulanmamış bitkilerden (0,475 g) elde edilmiştir. Çinko oksit nanopartikül ve Cd uygulamalarının yeşil aksam kuru ağırlığı üzerine etkileri istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Diğer yandan ZnO-NP×Cd intereaksiyonunun aspir bitkisinin yeşil aksam kuru ağırlığı üzerine etkisi ise % 5 düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.2 Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin yeşil aksam kuru ağırlığına ve kök kuru ağırlığına etkisi

Uygulama Dozları (mg/L)		Yeşil Aksam Kuru Ağırlık (g)	Kök
ZnO-NP ₀	Cd ₀	0,422b	0,118a
	Cd ₃	0,181c	0,050c
	Cd ₆	0,125d	0,018d
ZnO-NP ₅	Cd ₀	0,505a	0,114a
	Cd ₃	0,213c	0,071b
	Cd ₆	0,115d	0,027d
ZnO-NP ₁₀	Cd ₀	0,498a	0,106a
	Cd ₃	0,202c	0,066b
	Cd ₆	0,116d	0,029d
ZnO-NP Ortalama	ZnO-NP ₀	0,243b	0,062b
	ZnO-NP ₅	0,278a	0,071a
	ZnO-NP ₁₀	0,272a	0,067ab
Cd Ortalama	Cd ₀	0,475a	0,113a
	Cd ₃	0,199b	0,062b
	Cd ₆	0,119c	0,025c
ZnO-NP		5,62**	2,49
Cd		563**	264,8**
ZnO-NP × Cd		3,63*	3,05*

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

En yüksek kök kuru ağırlığı Cd uygulanmamış bitkilerde elde edilirken; Cd uygulamalarındaki artışla kök kuru ağırlığında azalmalar görülmüştür. Aspir bitkisinde ortalamalar bakımından ZnO-NP uygulamalarında, en fazla kuru ağırlık 5 mg/L uygulamasından (0,071 g) ve Cd uygulamalarında ise 0 mg/L uygulamasından (0,113 g) elde edilmiştir. Denemedeki ZnO-NP×Cd interaksyonunun ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin kök kuru ağırlığına etkileri istatistiksel olarak ($p<0,01$) önemli bulunmuştur.

Yapılan çalışma ZnO-NP uygulamalarının aspir bitkisinin yeşil aksam ve kök kuru ağırlıklarını arttırdığını; ancak Cd uygulamalarının ise her iki aksamda kuru ağırlığı azalttığını göstermiştir. ZnO-NP'nin bitkide olumlu ve Cd'nin ise toksik etkilerinin olduğu sonucu çeşitli araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Rizwan vd., 2019 b; Zhang vd., 2019; Khan vd., 2019; Venkatachalam vd., 2017).

Rizwan vd. (2019 b), ZnO-NP uygulamalarının bitkinin farklı aksamlarında kuru ağırlık artışına neden olduğunu bildirmiştir. Araştırmacılar kontrole kıyasla en yüksek kuru ağırlıkların 100 mg/L ZnO-NP ve 20 mg/L Fe-NP uygulamalarından elde etmişler ve 100 mg/L ZnO-NP uygulama dozunda yeşil aksam, kök, başak ve tane kuru ağırlıklarının kontrol bitkisine göre sırasıyla % 53, 46, 69 ve 74 oranında artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Zhang vd. (2019), farklı miktarlarda ZnO-NP (0-50-100 ve 500 mg/kg ZnO-NP) uygulanmış ve Cd (0-1,0-2,5 ve 5,0 mg Cd/kg) ile kontamine olmuş topraklarda yetiştirilen çeltik bitkisinde ZnO-NP uygulamasının Cd stresi altındaki bitki biyokütlesinde azalmayı önlediğini ve hatta uygulanan ZnO-NP'nin biyokütledartışa neden olduğunu bildirilmişlerdir. Kontrole kıyasla ZnO-NP uygulamasıyla pirinç biyokütlesinin 2,5 Cd mg/kg ve 5,0 mg Cd/kg dozlarında sırasıyla % 13-22 ve % 25-43 arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca artan dozlarda (0, 25, 50 ve 100 mg/kg) ZnO-NP uygulamalarının Cd ile kontamine toprakta yetiştirilen buğday bitkisinin kuru ağırlığını her iki stres (Cd ve kısıtlı sulama) koşullarında arttırdığı ve bitkideki oksidatif stresini de azalttığı Khan vd., (2019) tarafından rapor edilmiştir.

Çinko, bitkilerin büyümesinde ve gelişmesinde önemli bir rol oynayan temel mikro besin elementidir (Khan vd. 2019). Çinko, stresli koşullarında hücreyi korur, besinlerin homeostazı ve bitkilerde hücre yapısını ve anatomik özelliklerini geliştirir (Rizwan vd. 2019 a). Bu özelliği nedeniyle ZnO-NP'lerin bitkiyi ağır metal stresine karşı koruyarak

bitki biyokütlesini arttırıcı etkide bulunmaktadır. Kadmiyum ise aksine bitkiler için yararlı olmayan toksik bir elementtir ve hücrese seviyelerde hasara ve oksidatif strese neden olarak bitki büyüme ve gelişmesini azaltıcı etki göstermektedir (Khan vd., 2019; Rizwan vd., 2019 a). Çinkonun bitki metabolizmasındaki önemli rolü ile bitki büyümesine, klorofil içeriğinin artışına önemli katkısı olması ve Cd ise toksik etkisi ile bitkide strese ve hücrelerde hasara neden olması sonuçlarımızdaki etkilerin nedenini açıklamaktadır. Nitekim Khurana vd. (2012), kadmiyumun fitotoksik etkisinden dolayı mısır bitkisinin kuru madde veriminde ciddi düzeyde azalma görüldüğünü ve kuru madde veriminin Cd'nin toksik etkisinin artan dozlarda uygulanan Zn'den etkilenmediği bildirmişlerdir.

Venkatachalam vd. (2017), tek başına Cd ve Pb uygulamaları ile karşılaştırıldığında, ağır metal uygulamaları ile birlikte ZnO-NP uygulamasının, bitki büyüme tolerans indeksini arttırdığı belirtilmiştir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada, bitki biyokütlesinin kontrol grubuna kıyasla sırasıyla % 29,8, % 25,7 ve % 20,5 oranında (sırasıyla 25 mg ZnO-NP/L, 50 mgCd/L + 25 mg/L ZnO-NP ve 100 mgPb/L + 25 mg ZnO-NP uygulamalarında) önemli bir şekilde ($p < 0,05$) arttığını bildirilmişlerdir.

4.1.4 Yeşil aksam ve kök ZnO-NP ve Cd konsantrasyonları

Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin yeşil aksam ve köklerdeki Zn ve Cd konsantrasyonlarına ait veriler Çizelge 4.3'de verilmiştir.

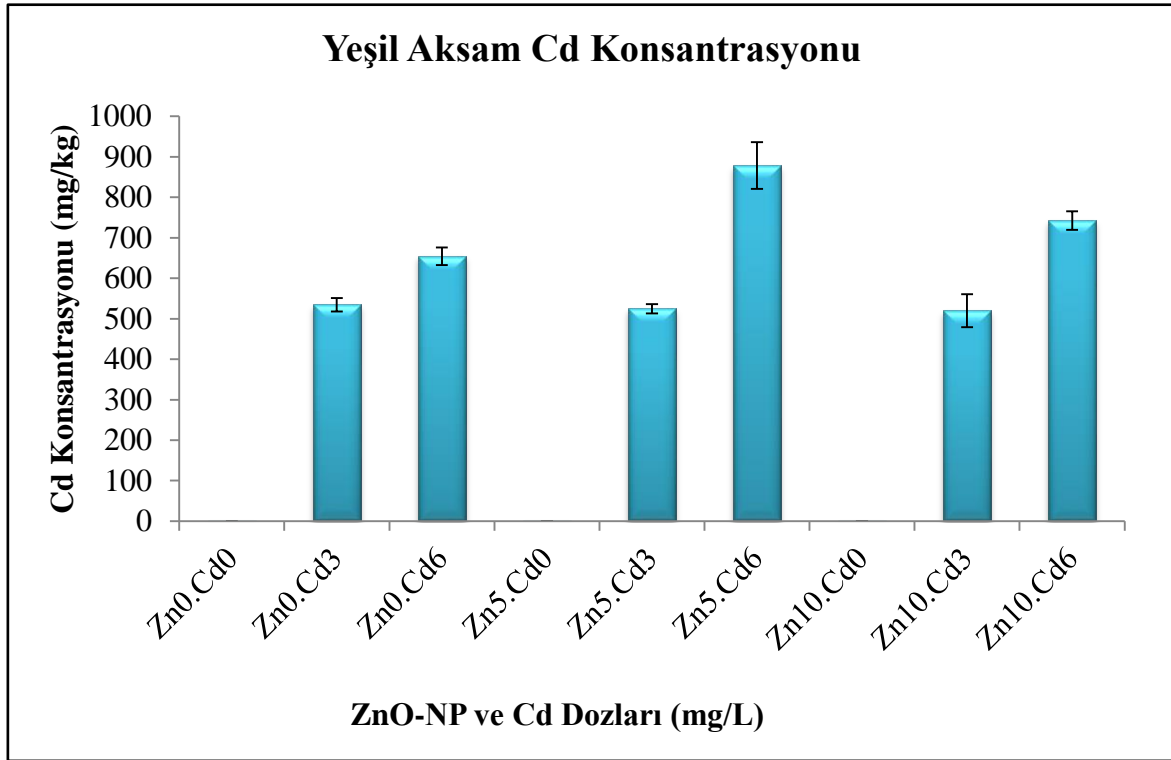
Çizelge 4.3 Aspir bitkilerine uygulanan ZnO-NP ve Cd dozlarının yeşil aksam Zn ve Cd konsantrasyonlarına ait veriler

Uygulama Dozları (mg/L)		Yeşil Aksam	
		Zn	Cd
		(mg/kg)	
ZnO-NP₀	Cd₀	6,2h	0,00e
	Cd₃	23,5g	534d
	Cd₆	37,4f	654c
ZnO-NP₅	Cd₀	39,1f	0,00e
	Cd₃	121,6b	524d
	Cd₆	79,7d	878a
ZnO-NP₁₀	Cd₀	51,4e	0,00e
	Cd₃	142,5a	520d
	Cd₆	100,0c	743b
ZnO-NP Ortalama	ZnO-NP₀	22,4c	396b
	ZnO-NP₅	80,1b	468a
	ZnO-NP₁₀	98,0a	421b
Cd Ortalama	Cd₀	32,2c	0,00c
	Cd₃	95,9a	526b
	Cd₆	72,4b	758a
ZnO-NP		276**	13,24**
Cd		183**	1526**
ZnO-NP×Cd		26,9**	14,86**

** : P<0,01 * : P<0,05

Farklı ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin yeşil aksam Zn konsantrasyonu üzerine etkisi 6,17 mg/kg (kontrol) ile 143 mg/kg (ZnO-NP₁₀+Cd₃) arasında değiştiği belirlenmiştir. Ortalamalar bakımından en yüksek Zn konsantrasyonu (97,97 mg/kg) 10 mg/L ZnO-NP uygulamasından elde edilmiştir. Kadmiyum uygulama ortalamalarından ise en yüksek Zn konsantrasyonu (95,9 mg/kg) 3 mg Cd/L uygulamasından elde edilmiştir. Çinko oksit nanopartikül uygulamalarının, Cd uygulamalarının ve ZnO-NP×Cd interreaksiyonunun yeşil aksam Zn konsantrasyonu üzerine etkileri istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur. En yüksek yeşil aksam Cd konsantrasyonu 878 mg/kg ile ZnO-NP₅+Cd₆ uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.2). Bu miktarı 743 mg Cd/kg ZnO-NP ve Cd birlikte uygulandığı

ZnO-NP₁₀ + Cd₆ dozu takip etmiştir. Ortalamalar bakımından Cd konsantrasyonu 5 mg ZnO/L uygulamasından (468 mg Cd/kg) ve 6 mg Cd/L uygulamasından (758 mg Cd/kg) elde edilmiştir. Her iki uygulamanın (ZnO-NP ve Cd) ve ZnO-NP×Cd interaksiyonunun yeşil aksam Cd konsantrasyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,01).



Şekil 4.2 Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin yeşil aksam Cd konsantrasyonuna etkisi

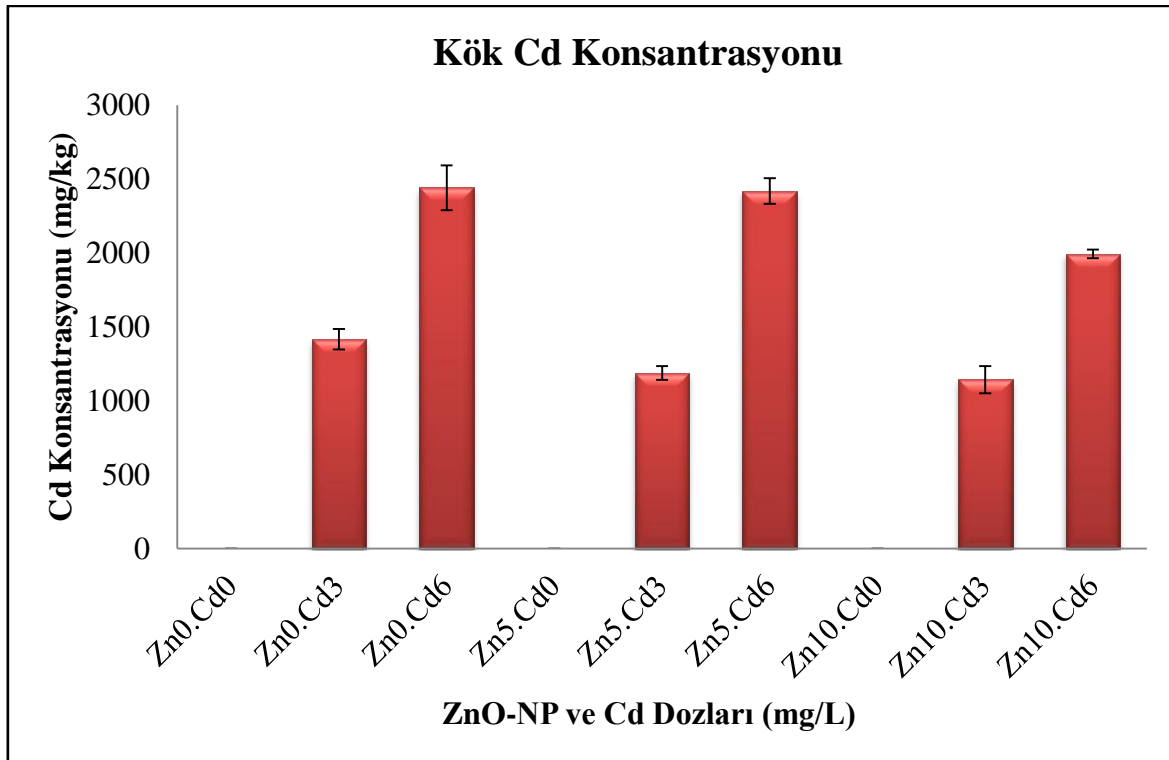
Aspir bitkisinin kök Zn ve Cd konsantrasyonlarına artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının etkisi Çizelge 4.4’de gösterilmiştir. En yüksek Zn konsantrasyonu (162 mg/kg) 10 mg/L ZnO-NP ve 6 mg/kg Cd uygulanan bitkilerde ölçülmüştür. Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin kök Zn konsantrasyonu üzerine etkisinin 19,6 mg/kg (ZnO-NP₀+Cd₃) ile 162 mg/kg (ZnO-NP₁₀+Cd₆) arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Çinko oksit nanopartikül uygulamalarının, Cd uygulamalarının ve ZnO-NP×Cd interaksiyonunun kök Zn konsantrasyonu üzerine etkileri istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur. ZnO-NP ve Cd dozlarındaki artışla köklerin Zn konsantrasyonunda da artış sağlanmıştır.

Çizelge 4.4 Aspir bitkilerine uygulanan ZnO-NP ve Cd dozlarının kök Zn ve Cd konsantrasyonlarına ait veriler

Uygulama Dozları (mg/L)		Kök	
		Zn (mg/kg)	Cd
ZnO-NP ₀	Cd ₀	22,1f	0,00e
	Cd ₃	19,6f	1417c
	Cd ₆	28,9f	2441a
ZnO-NP ₅	Cd ₀	64,6d	0,00e
	Cd ₃	41,8e	1188d
	Cd ₆	83,0c	2420a
ZnO-NP ₁₀	Cd ₀	99,0b	0,00e
	Cd ₃	76,3c	1144d
	Cd ₆	162,3a	1994b
ZnO-NP Ortalama	ZnO-NP ₀	23,5c	1286a
	ZnO-NP ₅	63,1b	1203b
	ZnO-NP ₁₀	112,6a	1046c
Cd Ortalama	Cd ₀	61,9b	0,00c
	Cd ₃	45,9c	1250b
	Cd ₆	91,4a	2285a
ZnO-NP		441**	20,7**
Cd		118**	1822**
ZnO-NP×Cd		30,9**	9,40**

** : P<0,01 * : P<0,05

Kök Cd konsantrasyonu, Cd uygulamaları ile artış göstermiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.3). Bitki kökünde en yüksek Cd konsantrasyonu (2441 mg/kg) 6 mgCd/L ZnO-NP uygulanmamış bitkilerden elde edilmiştir (Şekil 4.3). Kök Cd konsantrasyonları ZnO-NP uygulaması ortalamaları bakımından en yüksek (1286 mg/kg) 0 mg/kg ZnO-NP dozundan elde edilirken Cd uygulaması ortalamaları bakımından ise en yüksek (2285 mg/kg) 6mg Cd/L dozunda belirlenmiştir. Çinko oksit nanopartikül uygulaması ve Cd uygulamalarının ve ZnO-NP×Cd interaksiyonunun aspir bitkisinin kök Cd konsantrasyonuna etkileri istatistiksel olarak (p<0,01) önemli bulunmuştur. Sonuçlar ZnO-NP uygulamalarının yeşil aksam ve köklerin Zn konsantrasyonlarında artışa neden olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.3 Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin kök Cd konsantrasyonuna etkisi

Hiperakümülatör bitkiler toprak üstü aksamlarında (yeşil aksam) kuru ağırlık esasına göre % 0,01 ya da 100 mg/kg Cd biriktiren bitkilerdir. Normal bitkiler yeşil aksamlarında (birçok bitki türünde 0,03-5,0 $\mu\text{g Cd/g}$) çok düşük miktarlarda Cd biriktirebilirken bünyelerinde $>100 \mu\text{g Cd/g}$ biriktiren bitkiler Cd hiperakümülatörü bitkiler olarak tanımlanan önemli fitoremediasyon potansiyeline sahip bitkilerdir (Van der Ent vd., 2013). Yapılan tez çalışmasında, bitki köklerinde oldukça yüksek miktarda (2444 mg/kg) Cd birikmiştir. Ancak bu kadar toksik miktara rağmen aspir bitkisi hasat edilebilir yeşil aksamında Cd hiperakümülatör değeri 5,2 ile 8,7 kat fazla Cd biriktirmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.2). Bu sonuç aspir bitkisinin Cd fitoremediasyon potansiyelinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Benzer sonuçlar Gowayed (2017) ve Khan (2019) tarafından da bildirilmiştir. Gowayed (2017), yaptığı çalışmada yeşil aksamdaki Zn veya Cd konsantrasyonlarının, hem ZnO-NP hem de Cd uygulamasında kökteki konsantrasyona göre daha az bulunduğu ve bunun Zn ve Cd arasında etkileşime neden olan kimyasal ve fiziksel benzerliklerden kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Ayrıca, Cd ile muamele edilmiş mısır fidelerine kıyasla ZnO-NP uygulanmış fidelerin Cd düzeylerinin düştüğünü göstermiştir.

Khan vd. (2019), yaptıkları çalışmada, Cd ile kirli toprağa artan ZnO-NP uygulamaları (0-25-50 ve 100 mg/kg) ile birlikte kök translokasyon faktöründe artış olduğunu saptamıştır.

Literatürde metallerin köklerden yeşil aksama translokasyonunun, köklerde daha yüksek metal konsantrasyonları olduğunda azaldığı bildirilmiştir (Khan vd., 2019; Rizwan vd., 2019 a, b). Bu translokasyon azalmasının, metal stresli bitki savunma sisteminin uyarılması ile ilgili olabileceğinin, bitkilerin metalleri şelatlama gibi farklı mekanizmalarla köklerde biriktirerek metal stresini tolere edebildiği belirlenmiştir (Rizwan vd., 2019 a, b). Bununla birlikte, düşük metal konsantrasyonlarında, bitki savunma sisteminin aktif olmayabileceği ve daha yüksek miktarda metalin yeşil aksama taşınabileceğini bildirmiştir (Khan vd., 2019).

Elde ettiğimiz sonuçların aksine Angelova vd. (2016), ağır metallerle (Pb, Zn ve Cd) kirlenmiş topraklarda yetiştirdikleri aspir bitkisinin her üç ağır metalinde köklerinde toprak üstü aksamalarına göre daha az biriktirdiğini ve metal birikimin sırasıyla yapraklar>saplar>kökler>tohumlar şeklinde dağılımı gösterdiğini saptamışlardır. Elde edilen sonuçlar yapraklarda ağır metalkonsantrasyonlarının; Pb: 581 ile 5227 mg/kg, Zn: 652 ile 2559 mg/kg ve Cd: 148 ile 237 mg/kg arasında değiştiğini göstermiştir. Araştırmacılar, aspir bitkisinin Pb, Cd ve Zn'ye toleranslı hiperakümülatör bir bitki olduğunu ve Pb, Cd ve Zn ile kirlenmiş toprakların fitoremediasyonunda başarı ile kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Çeşitli araştırmalardan elde edilen sonuçlardaki bu farklılıkların Zn ve Cd'nin, farklı koşullar altında birbirleriyle farklı etkileşime girdiği, Zn uygulamasının Cd'nin fitotoksitesini artırabileceği veya dengeleyebileceğinden kaynaklanabileceğini bildirilmiştir (Khurana vd., 2012).

Çinko, bitkilerin temel mikro besinlerinden biridir ve bitkilerde çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda rol oynar. Çinko, Cd ile kimyasal benzerliği nedeniyle bitkilerde Cd toksitesini hafifletebilir. Yayınlanan raporlar, Zn'nin bitki büyümesini artırarak, Cd alımını düzenleyerek, fotosentezi artırarak ve oksidatif stresi azaltarak bitkilerde Cd'nin toksik etkilerini azaltabileceğini göstermiştir (Rizwan vd., 2019 a). Literatürde Zn'nin

bitkiler tarafından Cd birikimi üzerindeki rolünün çok tartışmalı olduğu ve ortamdaki Cd ve Zn konsantrasyonları, maruz kalma süresi, bitki türleri ve genotipleri ve büyüme koşulları gibi çeşitli faktörlere bağlı olduğunu göstermiştir.

Hussein vd. (2018), yaptıkları araştırmada total 7 mg/kg Cd içeren toprakta yetiştirdikleri buğday bitkilerine belirli aralıklarla spreylen ZnO-NP'leri uygulamışlardır. Çalışmada, ZnO-NP'lerinin buğdayda Cd toksisitesini ve konsantrasyonunu etkili bir şekilde azaltabildiğini ve Zn konsantrasyonunu ise arttırdığını belirlemişlerdir. Buğday bitkisinin Cd konsantrasyonları kontrol grubu bitkilerine göre NP'lerin yaprak uygulamasında % 30-77 ve toprak uygulamasında ise % 16-78 oranında azaldığını saptanmıştır.

Rizwan vd. (2019 b) tarafından ZnO ve Fe-NP uygulanmalarının kök, yeşil aksam ve danedeki Cd konsantrasyonlarını önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları çalışma sonucunda genel olarak, NP'lerin buğdayda bitki biyokütlesinin ve besin elementleri konsantrasyonlarının artmasında ve Cd toksisitesinin azalmasında büyük rol oynadığını bildirmişlerdir.

Mısır bitkisinin Cd konsantrasyonu ve alımının, Cd uygulama dozlarının artmasıyla kademeli olarak arttığı Khurana vd. (2012) tarafından yürütülen bir saksı denemesinde tespit edilmiştir. Kadmiyum konsantrasyonundaki artışın, Zn varlığında, Zn'siz uygulamadan daha fazla olduğu ve bu durumun, toprağa uygulanan Zn'nin etkisiyle bitkilerde Cd içeriğini arttırdığı bildirilmiştir. Diğer yandan, kuraklık stresi, buğday dokularında ve tanelerindeki Cd içeriğini arttırırken, ZnO-NP'ler, toprakta biyolojik olarak kullanılabilir Cd'yi ve kökler tarafından Cd biriktirilmesini azaltarak dokularda ve tahıllarda Cd birikimini önemli ölçüde azaltmıştır. Bu bulgular, kirlenmiş topraklara NP uygulamasının buğday verimliliğini artırabileceğini ve toprak Cd kirlenmesini tek başına veya kısıtlı sulama koşullarında etkili bir şekilde azaltabileceğini göstermiştir (Khan vd., 2019).

4.1.5 Mineral besin elementi konsantrasyonları

Aspir 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 4.5’de verilmiştir. Uygulamaların yeşil aksam besin elementi konsantrasyonları üzerine etkilerinin istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

Farklı dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamaları ile aspir bitkisinin N, P, K, Cu ve Mn konsantrasyonları, kontrol (ZnO-NP₀+Cd₀, ZnO-NP₅+Cd₀ ve ZnO-NP₁₀+Cd₀) gruplarına göre düşüş göstermiştir. Ancak ZnO-NP ve Cd uygulamaları ile Fe konsantrasyonunun kontrol gruplarına göre yükseliş gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.5 Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir 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	4,78ab	1,02a	7,830bc	87,13d	4,04c	67,39a
	Cd₃	3,75de	0,563de	7,657cd	92,24c	1,85e	36,86c
	Cd₆	2,99f	0,591de	6,918de	116,29b	3,11d	39,00c
ZnO-NP₅	Cd₀	5,16a	0,593de	8,560ab	75,56f	4,75ab	61,33a
	Cd₃	4,49bc	0,840b	8,167abc	92,96c	3,83c	39,71c
	Cd₆	3,57e	0,525e	6,774e	128,46a	1,66e	39,22c
ZnO-NP₁₀	Cd₀	5,02a	0,629cd	8,823a	84,50de	4,30bc	49,92b
	Cd₃	4,43bc	0,849b	8,545ab	80,31e	4,97a	40,88c
	Cd₆	4,13cd	0,683c	7,670cd	117,92b	1,57e	37,77c
ZnO-NP Ortalama	ZnO-NP₀	3,84b	0,723a	7,469b	98,55a	2,998b	47,75a
	ZnO-NP₅	4,41a	0,652b	7,833b	98,99a	3,41a	46,75a
	ZnO-NP₁₀	4,52a	0,720a	8,350a	94,24b	3,62a	42,86b
Cd Ortalama	Cd₀	4,99a	0,746a	8,405a	82,40c	4,36a	59,55a
	Cd₃	4,22b	0,751a	8,123a	88,50b	3,55b	39,15b
	Cd₆	3,56c	0,599b	7,121b	120,89a	2,11c	38,66b
ZnO-NP		21,98**	8,20**	9,21**	9,86**	10,03**	4,45*
Cd		83,54**	37,64**	21,57**	612**	132**	94,65**
ZnO-NP×Cd		3,51*	70,77**	0,883ö.d	26,27**	51,95**	7,06**

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

En yüksek N konsantrasyonu, 5 ve 10 mg/L ZnO-NP uygulamalarının Cd uygulanmamış dozlarından elde edilmiştir (sırasıyla % 5,16 ve % 5,02), en düşük N konsantrasyonu ise % 2,99 ile ZnO-NP uygulanmamış 6 mg/L Cd uygulanmış bitkide belirlenmiştir. Ortalamalar bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek N konsantrasyonu 5 ve 10 mg/L ZnO-NP uygulamalarında (% 4,41 ve % 4,52), en düşük N konsantrasyonu ise kontrol bitkisinden elde edilmiştir (% 3,84). ZnO-NP uygulamaları ile bitkilerin yeşil aksam N konsantrasyonu artış göstermiştir. Kadmiyum ortalamaları yönünden en yüksek N içeriği % 4,99 ile Cd uygulanmamış, en düşük ise 6 mg/kg Cd uygulanmış bitkilerde belirlenmiştir. Kadmiyum uygulaması ile bitkilerin N konsantrasyonları azalmıştır. ZnO-NP ve Cd uygulamalarının N konsantrasyonuna etkisi $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunurken ZnO-NP×Cd interreaksiyonun N konsantrasyonu üzerine etkisinin $p<0,05$ düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır.

En yüksek P konsantrasyonu, ZnO-NP ve Cd uygulanmamış kontrol bitkisinde (% 1,02), en düşük P konsantrasyonu ise % 0,525 ile 5 mg/L ZnO-NP ve 6 mg/L Cd uygulanmış bitkide belirlenmiştir. Ortalamalar bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek P konsantrasyonu 0 ve 10 mg/L ZnO-NP uygulamalarında (% 0,723 ve % 0,720), en düşük P konsantrasyonu ise 5 mg/L ZnO-NP uygulamasından elde edilmiştir (% 0,652). Kadmiyum ortalamaları yönünden en yüksek P içeriği % 0,751 ile 3 mg/L Cd uygulanmasında ve % 0,746 ile Cd uygulanmayan grupta saptanmıştır. En düşük Cd ortalamasının % 0,599 ile 6 mg/L uygulamasında olduğu görülmüştür. Kadmiyum uygulamalarındaki artış ile bitkilerin P konsantrasyonları azalmıştır. ZnO-NP, Cd uygulamaları ve ZnO-NP×Cd interreaksiyonunun P konsantrasyonuna etkisi $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

En yüksek K konsantrasyonu Cd uygulanmamış ve 10 mg/L ZnO-NP uygulama dozunda elde edilmiştir (% 8,82), en düşük K konsantrasyonu ise % 6,77 ile 5 mg/L ZnO-NP ve 6 mg/L Cd uygulanmış bitkide belirlenmiştir. Ortalamalar bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek K konsantrasyonu 10 mg/L ZnO-NP uygulamasında (% 8,35), en düşük K konsantrasyonu ise kontrol bitkisinden ve 5 mg/L ZnO-NP uygulamalarından elde edilmiştir (sırasıyla % 7,47 ve % 7,83). Kadmiyum ortalamaları yönünden sonuçlar değerlendirildiğinde Cd dozlarındaki artışla birlikte yeşil aksam K konsantrasyonunun azaldığı saptanmıştır ($p<0,01$). En yüksek K içeriği % 8,4 ile Cd

uygulanmamış bitkilerde ve % 8,12 ile 3 mg/L Cd uygulanmış bitkilerde belirlenmiştir. Kadmiyum uygulaması ile bitkilerin K konsantrasyonları azalmıştır. ZnO-NP ve Cd uygulamalarının K konsantrasyonuna etkisi $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuş, diğer yandan ZnO-NP×Cd interreaksiyonunun önemsiz olduğu saptanmıştır.

Yeşil aksamın mikro besin elementi (Fe, Cu ve Mn) konsantrasyonlarına ZnO-NP ve Cd uygulamalarının etkisi istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5). En yüksek Fe konsantrasyonu 6 mg/L Cd ve 5 mg/L ZnO-NP uygulama dozlarında elde edilmiştir (128 mg/kg), en düşük Fe konsantrasyonu ise 75,6 mg/kg ile Cd uygulanmamış ve 5 mg/L ZnO-NP uygulanmış bitkide belirlenmiştir. Ortalamalar bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek Fe konsantrasyonu 0 ve 5 mg/L ZnO-NP uygulamalarında (sırasıyla 98,6 mg/kg ve 99 mg/kg), en düşük Fe konsantrasyonu ise 10 mg/L ZnO-NP uygulanan bitkiden elde edilmiştir (94,2 mg/kg). Cd ortalamaları yönünden en yüksek Fe içeriği 120,89 mg/kg ile 6 mg/L Cd uygulanan bitkilerde belirlenmiştir. Cd uygulaması ile bitkilerin Fe konsantrasyonları artmıştır. Aspirin yeşil aksam ZnO-NP×Cd interreaksiyonunun Fe konsantrasyonuna etkisi ise $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

En yüksek Cu konsantrasyonu 3 mg/kg Cd ve 10 mg/L ZnO-NP uygulama dozlarında elde edilmiştir (4,97 mg/kg), en düşük Cu konsantrasyonu ise 1,57 mg/kg ile 6 mg/L Cd ve 10 mg/L ZnO-NP uygulanmış bitkide belirlenmiştir. Ortalamalar bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek Cu konsantrasyonu 5 ve 10 mg/L ZnO-NP uygulamalarında (3,41 mg/kg ve 3,62 mg/kg), en düşük Cu konsantrasyonu ise ZnO-NP uygulanmamış bitkiden elde edilmiştir (2,998 mg/kg). Cd ortalamaları yönünden en yüksek Cu içeriği 4,36 mg/kg ile Cd uygulanmamış, en düşük Cu konsantrasyonu ise mg/L Cd uygulanmış bitkilerde belirlenmiştir. Yeşil aksam Cu konsantrasyonu üzerine ZnO-NP×Cd interreaksiyonunun etkisi $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

En yüksek Mn konsantrasyonu ZnO-NP ve Cd uygulanmamış gruptan elde edilmiştir (67,4 mg/kg). En düşük Mn konsantrasyonu ise 36,9 mg/kg ile ZnO-NP uygulanmamış ve 3 mg/L Cd uygulanmış bitkide belirlenmiştir. Ortalamalar bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek Mn konsantrasyonu 0 ve 5 mg/L ZnO-NP uygulamalarında (sırasıyla 47,8 mg/kg ve 46,8 mg/kg), en düşük Mn konsantrasyonu ise 10

mg/kg ZnO-NP uygulanmış bitkiden elde edilmiştir (42,9 mg/kg). Cd ortalamaları yönünden en yüksek Mn içeriği 59,6 mg/kg ile Cd uygulanmamış, en düşük Mn konsantrasyonu ise 3 ve 6 mg/L Cd uygulanmış bitkilerde belirlenmiştir (sırasıyla 39,2 mg/kg ve 38,7 mg/kg). Cd uygulaması ile bitkilerin Mn konsantrasyonları azalmıştır. ZnO-NP uygulamasının Mn konsantrasyonuna etkisi $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunurken, Cd uygulamaları ve ZnO-NP×Cd interreaksiyonunun Mn konsantrasyonuna etkisi ise $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Ortalamalar bakımından değerlendirildiğinde ZnO-NP uygulamaları ile yeşil aksamda Fe ve Mn konsantrasyonları azalırken Cu konsantrasyonu artış göstermiştir. Kadmiyum uygulamaları ise yeşil aksam Cu ve Mn konsantrasyonu üzerine azaltıcı etkide bulunurken Fe konsantrasyonunda artışa neden olmuştur.

ZnO-NP ve Cd uygulanmalarının aspir bitkisinin kök makro (P ve K) ve mikro (Fe, Cu ve Mn) besin elementleri konsantrasyonu üzerine etkileri Çizelge 4.6'da verilmiştir. Uygulamaların aspir bitkisinin kök besin elementi konsantrasyonları üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.

En yüksek P konsantrasyonu Cd uygulanmamış ve sırasıyla 10-5-0 mg/L ZnO-NP uygulamalarından elde edilmiştir (% 1,27, % 1,20 ve % 1,15), en düşük P konsantrasyonu ise % 0,71 ile 10 mg/L ZnO-NP ve 3 mg/L Cd uygulanmış bitkide belirlenmiştir. Ortalamalar bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek P konsantrasyonu ZnO-NP uygulanmamış bitkide (% 1,04), en düşük P konsantrasyonu ise 5 ve 10 mg/L ZnO-NP uygulamalarından elde edilmiştir (sırasıyla % 0,937 ve % 0,950). Kadmiyum ortalamaları yönünden en yüksek P içeriği % 1,207 ile Cd uygulanmamış grupta, en düşük P konsantrasyonu ise 3 mg/L Cd uygulamasında saptanmıştır. Kontrol ile kıyaslandığında ZnO-NP ve Cd uygulamaları ile köklerin P konsantrasyonlarında azalma gözlenmiştir. ZnO-NP uygulamalarının P konsantrasyonuna etkisinin $p<0,05$ düzeyinde önemli olduğu, Cd uygulamaları ve ZnO-NP×Cd interreaksiyonunun P konsantrasyonuna etkisinin ise $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6 Artan dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının aspir 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
ZnO-NP ₀	Cd ₀	1,15a	9,05a	1056e	6,66c	181,8a
	Cd ₃	0,84bcd	7,66b	2466c	21,8b	29,5d
	Cd ₆	1,13a	6,43c	4522a	22,6b	53,4c
ZnO-NP ₅	Cd ₀	1,20a	8,14ab	1462d	12,4c	60,0c
	Cd ₃	0,73cd	9,06a	2585c	27,7ab	33,5d
	Cd ₆	0,89b	8,12ab	4790a	30,4a	84,9b
ZnO-NP ₁₀	Cd ₀	1,27a	7,05bc	1316de	9,72c	36,0d
	Cd ₃	0,71d	9,11a	2584c	30,0a	39,4d
	Cd ₆	0,87bc	7,31bc	3540b	30,0a	53,7c
ZnO-NP Ortalama	ZnO-NP ₀	1,04a	7,71b	2681b	17,0b	88,2a
	ZnO-NP ₅	0,937b	8,44a	2945a	23,5a	59,5b
	ZnO-NP ₁₀	0,950b	7,82b	2480c	23,2a	43,0c
Cd Ortalama	Cd ₀	1,207a	8,08a	1278c	9,58b	92,6a
	Cd ₃	0,760c	8,61a	2545b	26,5a	34,1c
	Cd ₆	0,961b	7,28b	4284a	27,6a	64,0b
ZnO-NP		4,28*	3,96*	16,81**	10,75**	138**
Cd		66,77**	11,44**	703**	81,86**	225**
ZnO-NP×Cd		4,68**	8,27**	16,27**	0,67 ö.d.	215**

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

En yüksek K konsantrasyonları, sırası ile 3 mg/L Cd ve 10 mg/L ZnO-NP uygulamasında (% 9,11), 3 mg/L Cd ve 5 mg/L ZnO-NP uygulamasında (% 9,06) ve kontrol uygulamasında (% 9,05) belirlenmiştir. En düşük K konsantrasyonu ise % 6,43 ile ZnO-NP uygulanmamış ve 6 mg/kg Cd uygulanmış bitkide belirlenmiştir. Ortalamalar bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek K konsantrasyonu 5 mg/L ZnO-NP uygulamasında (% 8,44), en düşük K konsantrasyonu ise kontrol bitkisinden ve 10 mg/L ZnO-NP uygulamalarından elde edilmiştir (sırasıyla % 7,71 ve % 7,82). Cd ortalamaları yönünden en yüksek K içeriği % 8.08 ile Cd uygulanmamış bitkilerde ve % 8,61 ile 3 mg/L Cd uygulanmış bitkilerde belirlenmiştir. ZnO-NP uygulamalarının K konsantrasyonuna etkisinin p<0,05 düzeyinde önemli olduğu, Cd uygulamaları ve ZnO-

NP×Cd intereaksiyonunun K konsantrasyonuna etkisinin ise $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunduğu tespit edilmiştir.

Mikro besin elementi konsantrasyonları üzerine ZnO-NP ve Cd uygulamalarının etkisi % 1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan ZnO-NP×Cd intereaksiyonunun köklerin Cu konsantrasyonu üzerine etkisi önemsiz bulunurken Fe ve Mn konsantrasyonu üzerine etkisinin istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır.

En yüksek Fe konsantrasyonu 6 mg/L Cd ve ZnO-NP uygulanmamış grup (4522 mg/kg) ile 5 mg/L ZnO-NP ve 6 mg/L Cd uygulanmış bitkilerden elde edilmiştir (4790 mg/kg). En düşük Fe konsantrasyonu ise 1056 mg/kg ile kontrol grubunda saptanmıştır. Ortalamalar bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek Fe konsantrasyonu 5 mg/L ZnO-NP uygulamalarında (2945 mg/kg), en düşük Fe konsantrasyonu ise 10 mg/L ZnO-NP uygulanan bitkiden elde edilmiştir (2480 mg/kg). Kadmiyum ortalamaları yönünden en yüksek Fe içeriği 4284 mg/kg ile 6 mg/L Cd uygulanan bitkilerde belirlenmiştir. Kadmiyum uygulaması ile bitki köklerindeki Fe konsantrasyonları artmıştır. ZnO-NP, Cd uygulamaları ve ZnO-NP×Cd interreaksiyonunun Fe konsantrasyonuna etkisi $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

En yüksek Cu konsantrasyonları, 6 mg/L Cd ve 5 mg/L ZnO-NP uygulanan grupta (30,4 mg/kg), 3 mg/L Cd ve 10 mg/L ZnO-NP uygulanan grupta (30,0 mg/kg), 6 mg/L Cd ve 10 mg/L ZnO-NP uygulanan grupta (30,0 mg/kg) saptanmıştır. En düşük Cu konsantrasyonları ise 6,66 mg/kg ile kontrol grubunda ve 12,9 mg/kg ile 5 mg/L ZnO-NP uygulanmış ve Cd uygulanmamış grupta belirlenmiştir. Ortalamalar bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde ZnO-NP ve Cd uygulamaları kök Cu konsantrasyonunu arttırmıştır. En yüksek Cu konsantrasyonu 5 ve 10 mg/L ZnO-NP uygulamalarında (23,5 mg/kg ve 23,2 mg/kg), en düşük Cu konsantrasyonu ise ZnO-NP uygulanmamış bitkiden elde edilmiştir (17,0 mg/kg). Cd ortalamaları yönünden en yüksek Cu içeriği 5 ve 10 mg/L Cd uygulamalarında (26,5 mg/kg ve 27,6 mg/kg), en düşük Cu konsantrasyonu ise 9,58 mg/kg ile Cd uygulanmamış bitkilerde belirlenmiştir. Kadmiyum uygulaması ile bitkilerin Cu konsantrasyonları artmıştır. ZnO-NP ve Cd uygulamalarının Cu konsantrasyonuna etkisi

$p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuş, fakat ZnO-NP×Cd intereaksiyonunun önemsiz olduğu saptanmıştır.

En yüksek Mn konsantrasyonu ZnO-NP ve Cd uygulanmamış gruptan elde edilmiştir (182 mg/kg). En düşük Mn konsantrasyonu ise 29,5 mg/kg ile ZnO-NP uygulanmamış ve 3 mg/L Cd uygulanmış bitkide belirlenmiştir. Ortalamalar bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek Mn konsantrasyonu ZnO-NP uygulanmamış bitkilerde (88,2 mg/kg), en düşük Mn konsantrasyonu ise 10 mg/L ZnO-NP uygulanmış bitkiden elde edilmiştir (43,0 mg/kg). Kadmiyum ortalamaları yönünden en yüksek Mn içeriği 92,6 mg/kg ile Cd uygulanmamış, en düşük Mn konsantrasyonu ise 3 mg/L Cd uygulanmış bitkilerde belirlenmiştir (34,1 mg/kg). ZnO-NP, Cd uygulamaları ve ZnO-NP×Cd intereaksiyonunun Mn konsantrasyonuna etkisi $p < 0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Bitkilerin besin elementi konsantrasyonları, genel bitkiler için, Jones vd. (1999) bildirdiği sınır değerlerine göre % N (% 2,50-4,00 yeterli ve > 4 fazla) 6 mg/kg Cd uygulamalarında yeterli iken ZnO-NP kontrol ve diğer uygulama dozlarıyla fazla bulunmuştur. Yeşil aksam P (% 0,25-1,00) ve Fe (50-200 mg/kg) konsantrasyonları yeterli K ($< 1,00$) fazla, Cu (4-5 mg/kg) düşük ve Mn konsantrasyonu ise kontrol (ZnO-NP₀ ve Cd₀) bitkisi dışındaki tüm uygulamalarda düşük (< 50 mg/kg) düzeylerde olduğu saptanmıştır. Literatürde ZnO-NP ve Cd'nin birlikte uygulamalarının bitki besin elementi içerikleri üzerine çalışmalar çok sınırlıdır. Bu nedenle çalışmadan elde edilen sonuçları destekleyen ya da aksini gösteren az sayıda çalışma aşağıda yer almıştır.

Khurana vd. (2012) yaptıkları çalışmada tüm Cd uygulama dozlarında Cd'nin Zn ve Fe ile sinerjistik ilişki gösterirken, Mn ve Cu ile antagonistik bir ilişki sergilediğini tespit etmişlerdir. Mısır sürgünlerindeki Cu konsantrasyonu, Zn uygulamasından bağımsız olarak Cd uygulamasından olumsuz etkilendiği saptanmıştır. Çinko uygulaması, Cd uygulamasının tüm seviyelerinde Cu konsantrasyonunu arttırmıştır. Mısır bitkisinin yeşil aksamındaki Mn konsantrasyonu Zn oranlarından bağımsız olarak, Cd uygulamasında tutarlı bir azalma göstermiştir. Bu durum Cd ve Mn arasındaki antagonistik etkiden kaynaklanabilen bir azalma olabilir. Ayrıca Patel vd. (1976), Mn konsantrasyonunun Cd uygulamasından dolayı azaldığını da gözlemlemişlerdir. Öte yandan, bu çalışmada elde

edilen bulguların aksine Narwal vd. (1993), Mn konsantrasyonunun Cd ilavesiyle arttığını, toprağa uygulanan çinkonun tüm kadmiyum uygulama oranlarında Mn konsantrasyonunu arttırdığını bildirmiştir.

Başka bir çalışmada Cd birikiminin yapraklarda bulunan gerekli besin elementlerinin düzeyleri üzerindeki antagonistik etkisi, su kültürü denemesinde de Adhikari vd. (2006) tarafından gözlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

İnsan aktiviteleri sonucu her geçen gün çevre ağır metallere kirlenmektedir. Özellikle tarım topraklarında oluşan ağır metal kirliliği bu topraklarda yetiştirilen bitkilere geçerek besin zincirine dahil olmakta ve canlı hayatını tehdit etmektedir. Bitki yetiştirilerek ağır metallere topraklardan temizlenmesi yöntemi olan fitoekstraksiyon, ucuz, çevre dostu, etkili bir yöntemdir. Ancak ıslah süresinin uzun olması, değişken hava koşulları ve yüksek konsantrasyonlu kirleticilerin yarattığı fitotoksik etki gibi olumsuzluklar bu yöntemin yaygın kullanımını sınırlamaktadır. Fitoekstraksiyon yönteminin verimliliğini artırmak için son yıllarda nanomalzemelerin, özellikle metal bazlı nanopartiküllerin kullanılması yoluna gidilmiştir.

Bu tez çalışmasında, kadmiyum ile kirlenmiş toprakların temizlenebilmesi için fitoekstraksiyon yönteminin ve nanoteknolojinin aynı anda kullanılması ve nanopartiküllerin denemede kullanılan bitkiler üzerindeki farklı etkilerinin saptanması amaçlanmıştır. Bu nedenle bitki materyali olarak; ülkemizde bilinirliği her geçen gün artan, kullanımı giderek yaygınlaşan, farklı iklim koşullarına dayanıklı, yeşil aksamı fazla, ülkemizin hemen hemen her yerinde yetiştirilebilen, aspir bitkisi kullanılmıştır. Hoagland besin çözeltisi ortamında yetiştirilen aspir bitkilerine 20 gün boyunca kontrollü koşullarda (16/8 saat ışık/karanlıkta, 25/20 °C sıcaklık ve % 60 nem, ışık yoğunluğu 10 klux), artan dozlarda (0-5-10 mg/L) ZnO-NP ve Cd (0-3-6 mg/L) eklenmiş ve bitkilerin ZnO-NP ve Cd uygulamalarına verdikleri tepkileri gözlemlenerek analiz sonuçları değerlendirilmiştir.

Elde edilen morfolojik gözlemlere göre Cd uygulanmamış ancak artan dozlarda ZnO-NP uygulaması gerçekleştirilmiş bitkilerde gelişimin iyi ve bitki yapraklarının koyu yeşil renkte olduğu gözlemlenmiştir. Ancak Cd uygulaması ile bitkilerde gelişimin bozulduğu, bitkilerin bodurlaştığı, kök uçlarında kahverengi lekeler oluştuğu ve kökün ağırlıklı olarak kirli beyaz renge döndüğü, yapraklarda ise şiddetli nekroz ve klorozların olduğu tespit edilmiştir. Bu bulguları klorofil ölçüm sonuçları da desteklemiştir. Bitki yapraklarının klorofil içeriği ZnO-NP uygulaması ile olumlu etkilenmiş, Cd uygulamaları klorofil içeriğini ciddi oranda azaltmıştır. Bitkilerin hasat öncesi yapılan klorofil ölçümlerinde; en yüksek klorofil içeriğine 42,93 SPAD ile Cd uygulanmayan 10 mg/L

ZnO-NP uygulanan bitkilerde ulaşılmıştır. En düşük klorofil değeri olan 6,23 SPAD ise ZnO-NP uygulanmamış 6 mg/L Cd uygulama grubunda ölçülmüştür. Çinko oksit nanopartikül (ZnO-NP) ve Cd uygulamalarının ve ZnO-NP×Cd intereaksiyonunun aspir bitkisinin klorofil içeriğine etkileri istatistiksel olarak ($p<0,01$) önemli bulunmuştur. Farklı dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamalarının, klorofil içeriği üzerine etkileri incelendiğinde kontrolgruplarına göre düşüş gösterdiği saptanmıştır.

Bitkilerin yeşil aksam ve kök kuru ağırlıklarında da klorofil ve morfolojik gözlem sonuçlarına benzer sonuçlar elde edilmiştir. Aspir bitkisinin yeşil aksam ve kök kuru ağırlıklarını ZnO-NP uygulamaları arttırırken, Cd uygulamaları ise bitki kuru ağırlığını azaltmıştır. Çinko oksit nanopartikül ve Cd uygulamalarının yeşil aksam kuru ağırlığı üzerine etkileri istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Diğer yandan ZnO-NP×Cd intereaksiyonunun aspir bitkisinin yeşil aksam kuru ağırlığı üzerine etkisi ise $p<0,05$ düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır. Ayrıca ZnO-NP×Cd interaksiyonunun ve Cd uygulamalarının aspir bitkisinin kök kuru ağırlığına etkileri istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Aspir bitkisinin ZnO-NP ve Cd uygulamaları ile yeşil aksam ve kök Zn konsantrasyonları sırası ile (6,17 ile 142,5 mg Zn/kg ve 19,60 ile 162,3 mg Zn/kg) arasında değişmiştir. ZnO-NP uygulaması ile yeşil aksam ve kök Zn konsantrasyonu artmıştır. Cd en fazla bitki köklerinde birikmiştir ve kök gelişimini zayıflatmıştır. Bu nedenle yeşil aksama daha az Cd taşınmış olabilir. Buna rağmen aspir bitkisi yeşil aksamında Cd hiperakümüülasyon değerinin 5,2 ile 8,7 katı Cd biriktirmiştir.

Köklerin P ve K konsantrasyonları üzerine ZnO-NP uygulamalarının etkisi $p<0,05$ düzeyinde, Cd uygulamaları ve ZnO-NP×Cd intereksiyonu ise $p<0,01$ düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır.

Mikro besin elementleri konsantrasyonlarına ZnO-NP ve Cd uygulamalarının etkisi % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Her iki uygulamanın interaksiyonu köklerin Cu konsantrasyonuna etkisi önemsiz bulunurken, Fe ve Mn konsantrasyonlarına etkisi istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Bitkilerin yeşil aksam besin elementi konsantrasyonları ise genel bitkiler için belirlenen sınır değerlerine göre; % N

fazla (6 mg Cd/kg dozu hariç), P ve Fe konsantrasyonları yeterli, K fazla, Cu ve Mn (kontrol ZnO-NP₀ ve Cd₀ hariç) düşük düzeylerde olduğu belirlenmiştir. Uygulama dozları ile besin elementlerinin ilişkisinin de araştırılarak uygun uygulama dozlarının belirlenmesi gerekmektedir.

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlara dayanarak, gelecekte yapılacak çalışmalar için şu önerileri yapılabilir:

Fitoekstaksiyon yönteminin verimliliğini arttırmak için nanomalzemelerin kullanılması, nanoteknoloji ve fitoremediasyon teknolojisinin gelişimi ile birlikte ortaya çıkan bir fikirdir. Ancak bu iki teknolojinin birlikte kullanılması pratik uygulamalarda birçok zorlukları da beraberinde getirebilir. Özellikle kullanılacak metal bazlı nanopartiküllerin toprak ekosisteminde yaratabileceği olası çevresel riskinin bilinmemesi kaygı vericidir. Uygulanacak nanopartiküllerin topraktaki hayvanlar, bitkiler ve mikrobiyal topluluklar için toksik etkisinin de araştırılması önem arz etmektedir. Bu nedenle, hem toksisiteyi tam olarak anlamak için nanopartiküllerin çevresel riskleri hakkında daha fazla araştırma yapılmasına hem de olası riskleri en aza indirmek için araştırmaya ihtiyaç vardır. Diğer yandanecek çalışmalarda nanopartiküllerin fitoremediasyonun verimliliği üzerine etkisi ile ilgili yapılacak çalışmalarda kullanılacak bitki türlerine, kirleticilere, toprak türlerine ve hava koşullarına karşı olası tepkilerinin ayrıca araştırılması gerekmektedir.

Benzer denemelerin farklı dozlarda ZnO-NP ve Cd uygulamaları ile önce saksı sonra tarla denemeleri ile test edilmelidir. Ağır metal uygulanmış ortamlarda aspir bitkisi dışında hiperakümülatör bitkiler yetiştirilerek farklı NP'ler uygulanarak bitkilerdeki değişimler detaylı fizyolojik testlerle belirlenmelidir.

Genel olarak, kirlenmiş topraklardan ağır metallerin arındırılmasında bitki yetiştirilerek temizlenmesi yöntemi olan fitoekstraksiyonun etkinliğini artırmak için nanomalzemelerin kullanılması, etkili bir strateji olabilir. Ancak bu uygulama halen keşif ve girişim aşamasındadır. İleride yapılacak daha fazla araştırmaya ve bu çalışmalardan elde edilecek deneyimlere ihtiyaç duyulmaktadır. Kısacası, nanomalzemelerin fitoekstraksiyon tekniğindeki uzun vadeli performansı için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adhikari, T., Tel-Or, E., Libal, Y., Shenker, M., 2006, Effect of cadmium and iron on rice (*Oryza sativa* L.) plant in chelator-buffered nutrient solution, *J. Plant Nutr.*, 29, 1919-1940.
- Angelova, V.R., Perifanova-Nemska, M.N., Uzunova, G.P., Kolentsova, E.N., 2016, Accumulation of heavy metals in safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 10(7), p.410-415.
- Asri, F. Ö., Sönmez, S., 2006, Ağır Metal Toksikitesinin Bitki Metabolizması Üzerine Etkileri, *Derim*, 23(2), s.36-45.
- ATSDR, 2019, The ATSDR 2017 Substance Priority List, The Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) of the U.S. Department of Health and Human Services, <https://www.atsdr.cdc.gov/SPL>, erişim tarihi: 18.12.2019
- Babaoğlu M., 2019, Dünya'da ve Türkiye'de Aspir Bitkisinin Tarihi, Kullanım Alanları ve Önemi, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/ttae/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=58> erişim tarihi: 02/09/2019.
- Bremner, J.M. ve Mulvaney, C.S., 1982, "Total nitrogen", In: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeny, (Eds.), *Methods of Soil Analysis*, American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, p.1119-1123.
- Chen, M., Xu, P., Zeng, G., Yang, C., Huang, D., vd., 2015, Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: applications, microbes and future research needs, *Biotechnol. Adv.*, 33, 745–755.
- Çağlarırnak, N., Hepçimen, A. Z., 2010, Ağır metal toprak kirliliğinin gıda zinciri ve insan sağlığına etkisi, *Akademik Gıda*, 8(2), 31-35.
- Dağhan, H., Uygur, V., Köleli, N., Arslan, M., Önder, D., vd., 2011, Ağır metallerce kirlenmiş toprakların fitoekstraksiyon tekniğiyle arıtımı, TÜBİTAK Projesi, TOVAG-108-O-161 nolu Proje Kesin Sonuç Raporu, s.108.
- Daghan, H., 2011. Doğal kaynaklarda ağır metal kirliliğinin insan sağlığı üzerine etkileri *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, Mustafa Kemal University, *Journal of Agriculture Faculty*, 16(2):15-25, ISSN 1300-936.2.
- Dağhan, H., Köleli, N., Uygur, V., Arslan, M., Önder, D., vd., 2012, Kadmiyum ile kirlenmiş toprakların fitoekstraksiyonla arıtımında transgenik tütün bitkisinin kullanımının araştırılması, *Toprak ve Su Dergisi*, 1:1-6.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Daghan, H., 2018, Effects of TiO₂ nanoparticles on maize (*Zea mays* l.) growth, chlorophyll content and nutrient uptake, *Applied Ecology and Environmental Research*, 16, 6873-6883.
- Daghan, H., 2019, Transgenic tobacco crops for phytoremediation metals and metalloids. Chapter 13, 279-297, In: *Transgenic Plant Technology Forremediation of Toxic Metals and Metalloids*, Editor: Majeti Narasimha Vara Prasad. Publisher: Academic Press, Elsevier, London, United Kingdom, ISBN: 9780128143896, <https://www.elsevier.com/books/transgenic-plant-technology-for-remediation-of-toxic-metals-and-metalloids/prasad/978-0-12-814389-6>.
- Duffus, J.H., 2002, heavy metals a meaningless term? IUPAC Technical Report, *Pure and Applied Chemistry*, 74:793-807.
- Eren, A. and Baran, M.F., 2019, Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles (AgNPs) from maize (*Zea mays* L.), *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(2): p.4097-4105.
- Esetlili, B.Ç., Anaç, D., 2015, Ağır metal kirliliği ve fitoremediasyon, <http://apelasyon.com/Yazi/263-agir-metal-kirliligi-ve-fitoremediasyon>. Mayıs 2015, Sayı: 18, erişim tarihi:18.09.2019.
- Eskier, U., 2017, Kadmiyum Nedir? (Özellikleri, Kullanımı, Zararları). <https://www.makaleler.com/kadmiyum-nedir-ozellikleri-kullanimi-zararlari>, erişim tarihi: 24/09/2019.
- 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, *Environ. Sci. Technol.* 51, 11308-11316.
- 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): 1-11.
- Haisel, D., Cyrusová, T., Vaněk, T., Podlipná, R., 2019, The effect of nanoparticles on the photosynthetic pigments in cadmium—zinc interactions. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(4): 4147-4151.
- Hoagland, D.R, Arnon D.I., 1950, The water culture method for growing plants without soil, *The College of Agriculture, University of California, California Agriculture Experiment Station Circular*, Berkeley, 347, 1-32.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Houshmandfar, A., Moraghebi, F., 2011, Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc on seed germination and seedling growth of safflower, *African Journal of Agricultural Research*, 6(5): 1182-1187.
- Huang, D., Qin, X., Peng, Z., Liu, Y., Gong, X., vd., 2018, Nanoscale zero-valent iron assisted phytoremediation of Pb in sediment: impacts on metal accumulation and antioxidative system of *Lolium perenne*, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 153, 229–237.
- 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.
- ICdA, 2019, Cadmium, The International Cadmium Association (ICdA). <https://www.cadmium.org/home>, erişim tarihi: 23/09/19.
- Jones J.B. Jr., Wolf, B., ve Mills, H.A., 1991, *Plant Analysis Handbook: A Practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide*, Micro - Macro Publishing, Athens, GA.
- Kacar, B., 1995, Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri, III. Toprak Analizleri, A.Ü. Ziraat Fak. Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları No:3, Ankara, s.704.
- Khan, Z.S., Rizwan, M., Hafeez, M., Ali, S., Javed, M.R., vd., 2019, The accumulation of cadmium in wheat (*Triticum aestivum*) as influenced by zinc oxide nanoparticles and soil moisture conditions, *Environmental Science and Pollution Research*, 26(19):19859-19870.
- Khurana, M., 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.
- Köleli, N., Eker, S., Cakmak, I., 2004, Effect of zinc fertilization on cadmium toxicity in durum and bread wheat grown in zinc-deficient soil, *Environmental Pollution*, 131(3):453-459.
- Köleli N., Dağhan H., Demir A., Coşkun Y., Doğaroğlu, Z.G., 2018, Çoklu Metaller (Cd, Pb ve Zn) Kirlenmiş Topraklarda Yağlı Tohumlu Bitkilerin Fitoremediasyon Kapasitesinin Araştırılması ve Elde Edilen Biyokütlenin Değerlendirilmesi, TÜBİTAK, Proje No: 115-Y-337 nolu proje Kesin Sonuç Raporu, s.120.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mousavi, S.M., Motesharezadeh, B., Hosseini, H.M., Alikhani, H., Zolfaghari, A.A., 2018, Root-induced changes of Zn and Pb dynamics in the rhizosphere of sunflower with different plant growth promoting treatments in a heavily contaminated soil, *Ecotoxicol, Environ. Saf.*, 147: 206–216.
- Müftüoğlu, M.N., Türkmen, C., Çıkkılı Y., 2012, *Toprak ve Bitkide Verimlilik Analizleri*, Kriter Yayınevi, İstanbul, ISBN:978-605-4613-32-8.
- Narwal, R.P., Singh, M., Singh, J. P., Dahiya, D.J. 1993, Cadmium-zinc interaction in maize grown on sewer water irrigated soil, *Arid Soil Res Rehab.*, 7, 125-131.
- OECD, 2013, Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials, No.37, ENV/JM/MONO(2013) 2, [http://search.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2013\)2&doclanguage=en](http://search.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2013)2&doclanguage=en), 16.06.2014 Kahvecioğlu, Özge, et al. "Metallerin çevresel etkileri-I." *Metalurji Dergisi*, 136(2003): 47-53.
- Özaşık, İ., 2015, Aspir (*Carthamus tinctorius L.*)’de bitki sıklığının verim ve tohumluk kalitesine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla bitkileri Ana Bilim Dalı, s.69.
- Patel, P.M., Wallace, A., Mueller, R. T. 1976, Some effects of Cu, Co, Cd, Zn, Ni and Cr on growth and mineral element concentration in *Chrysanthemum*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 101, 553–556.
- Prasad, T.N.V.K.V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., vd., 2012, Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut, *Journal of plant nutrition*, 35(6):905-927.
- Qayyum, M.F., Rehman, M.Z., Ali, S., Rizwan, M., Naeem, A., vd., 2017, Residual effects of monoammonium phosphate, gypsum and elemental sulfur on cadmium phytoavailability and translocation from soil to wheat in an effluent irrigated field, *Chemosphere*, 174: 515-523.
- Rizwan, M., Ali, S., Abbas, T., Rehman, M.Z., Hannan, F., vd., 2016, Cadmium minimization in wheat: a critical review, *Ecotoxicol Environ Saf.*, 130: 43-53.
- Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M., Ibrahim, M., Tsang, D.C., vd., 2017, A critical review on effects, tolerance mechanisms and management of cadmium in vegetables, *Chemosphere* 182:90–105.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rizwan, M., Ali, S., ur Rehman, M.Z. ve Maqbool, A., 2019 a, A critical review on the effects of zinc at toxic levels of cadmium in plants, *Environmental Science and Pollution Research*, 26(7), p.6279-6289.
- Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., vd., 2019 b, Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat, *Chemosphere*, 214: 269-277.
- Seven, T., vd., 2018, Hava ve Toprakta Ağır Metal Kirliliği, *Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2018, 1.2: 91-103.
- 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, *J. Environ. Manag.*, 170: 88–96.
- Şahin, G., Taşlıgil, N., 2016, Stratejik önemi artan bir endüstri bitkisi: Aspir (*Carthamus tinctorius L.*), *Türk Coğrafya Dergisi*, (66):51-62.
- Tran, T.A., Popova, L.P., 2013, Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects, *Turkish Journal of Botany*, 37(1), p: 1-13.
- Uygur, V., Dağhan, H., Önder, D., 2014, Bazı hiperakümülatör bitkilerin su stresi koşullarında ağır metal alım yeteneklerinin belirlenmesi, *TÜBİTAK, Proje No: 110-O-837 nolu proje Kesin Sonuç Raporu*, s.174.
- Wang, M., Chen, L., Chen, S., Ma, Y., 2012, Alleviation of cadmium-induced root growth inhibition in crop seedlings by nanoparticles, *Ecotoxic Environment Safety*, 79:48-54.
- Wang, F., Adams, C.A., Shi, Z., Sun, Y., 2018, Combined effects of ZnO NPs and Cd on sweet sorghum as influenced by an arbuscular mycorrhizal fungus, *Chemosphere*, 209:421-429.
- Venkatachalam, P., Jayaraj, M., Manikandan, R., Geetha, N., Rene, E.R., vd., 2017, Zinc oxide nanoparticles (ZnO-NP) alleviate heavy metal-induced toxicity in *Leucaena leucocephala* seedlings: a physiochemical analysis, *Plant Physiology and Biochemistry*, 110:59-69.
- Van der Ent, A., Baker, A.J.M., Reeves, R.D., Pollard, A.J., Schat, H., 2013, Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction, *Plant and Soil*, 362, 319-334.
- Xing, J., Hu, T., Cang, L., Zhou, D., 2016, Remediation of copper contaminated soil by using different particle sizes of apatite: a field experiment, *Springerplus* 5, 1182.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Zhang, R., Zhang, N., Fang, Z., 2018, In situ remediation of hexavalent chromium contaminated soil by CMC-stabilized nanoscale zero-valent iron composited with biochar, *Water Sci. Technol*, 77, 1622–1631
- 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.
- Zhu, Y., Xu, F., Liu, Q., Chen, M., Liu, X., vd., 2019, Nanomaterials and plants: Positive effects, toxicity and the remediation of metal and metalloid pollution in soil, *Science of The Total Environment*.