



**HÜMİK ASİT UYGULAMALARININ AĞIR METAL
STRESİ ALTINDA YETİŞTİRİLEN TEREDE BİTKİ
GELİŞİMİ İLE BAZI FİZYOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİLERİ**

Zeynep ALIM

Yüksek Lisans Tezi

Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı

Prof. Dr. Ertan YILDIRIM

2020

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

**HÜMİK ASİT UYGULAMALARININ AĞIR METAL
STRESİ ALTINDA YETİŞTİRİLEN TEREDE BİTKİ GELİŞİMİ
İLE BAZI FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLER ÜZERİNE
ETKİLERİ**

(Effects of Humic Acid Treatments on Plant Growth, Some Physiological and Biochemical
Properties of Garden Cress Under Heavy Metal Stress)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zeynep ALIM

Danışman: Prof. Dr. Ertan YILDIRIM

Erzurum
Eylül, 2020

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Zeynep ALIM tarafından hazırlanan “**Hümik Asit Uygulamalarının Ağır Metal Stresi Altında Yetiştirilen Terede Bitki Gelişimi ile Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikler Üzerine Etkileri**” başlıklı çalışması **10 / 09 / 2020** tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Bahçe Bitkileri** Ana Bilim Dalı, **Sebze Yetiştirme ve Islahı** Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Ertan YILDIRIM
(Danışman) *Atatürk Üniversitesi*

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Halime ÜNLÜ
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Melek EKİNCİ
Atatürk Üniversitesi

Enstitü Yönetim Kurulunun
.... /.../.... tarih ve
sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN

Enstitü Müdürü

Bu çalışma Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: FBA-2019-7219

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, , şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak **Prof. Dr. Ertan YILDIRIM** danışmanlığında sunulan “**Hümkik Asit Uygulamalarının Ağır Metal Stresi Altında Yetiştirilen Tere de Bitki Gelişimi ile Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikler Üzerine Etkileri**” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	17	30
Kuramsal Temeller (Kaynak Özetleri)	10	30
Materyal ve Yöntem	15	35
Bulgular	12	20
Tartışma	4	20
Tezin Geneli	15	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5’den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Zeynep ALIM	Prof. Dr. Ertan YILDIRIM
13.8.2020	13.8.2020
İmza:	İmza:

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi, deneyim ve tecrübelerini benden esirgemeyen ve en iyi çalışma koşullarını bana sunarak beni destekleyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ertan YILDIRIM’a sonsuz teşekkürlerimi sunar ve en içten şükranlarımı arz ederim.

Çalışmalarım esnasında yol gösterici olan ve çok değerli katkılarını benden esirgemeyen çok kıymetli hocalarım Sayın Doç. Dr. Melek EKİNCİ ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Raziye KUL’a, mesleki eğitimimi almış olduğum Ziraat Fakültesi ve Fen Bilimleri Enstitüsü hocalarıma teşekkür ederim.

Çalışmamızın yürütülmesinde, “Hümk Asit Uygulamalarının Kadmiyum Stresi Altında Yetiştirilen Terede Bitki Gelişimi ile Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi” başlıklı ve “**FBA-2019-7219**” No’lu projemize maddi destek sağlayan Atatürk Üniversitesi BAP birimine teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca yapmış oldukları teşvik, destek ve sonsuz sabırlarından dolayı çok değerli ailem ve eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Zeynep ALIM

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HÜMİK ASİT UYGULAMALARININ AĞIR METAL STRESİ ALTINDA YETİŞTİRİLEN TEREDE BİTKİ GELİŞİMİ İLE BAZI FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Zeynep ALIM

Danışman: Prof. Dr. Ertan YILDIRIM

Amaç: Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda ağır metal (Cd) stres (0, 100, 200 ve 250 mg/kg) koşullarında yetiştirilen terede hümik asit (HA) uygulamalarının (0, 10, 15 ve 20 ml/L) bitki gelişimi ile bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkilerini belirlemek amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu tez çalışması, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma Seraları ve Laboratuvarlarında 2019 yılında yürütülmüştür. Denemede bitkisel materyal olarak tere (*Lepidium sativum* L.) Helen çeşidi kullanılmıştır. Ağır metal stresi şartlarında yetiştirilen terede HA uygulamalarının bitki gelişimi (kök uzunluğu, kök boğaz çapı, yaprak alanı, yaprak ve köklerin taze ve kuru ağırlıkları, vb.), bazı fizyolojik (yaprak klorofil değeri (SPAD), elektriksel iletkenliği (EC), yaprak su tutma kapasitesi (LWRC), vb.) ve biyokimyasal (Klorofil miktarı (klorofil-a, klorofil-b, karotenoid), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve peroksidaz (POD) enzim aktiviteleri, H₂O₂ analizi, MDA içeriği, vb.) parametreler üzerine etkileri belirlenmiştir. Ayrıca, makro ve mikro element analizleri ile birlikte tüm araştırılan parametrelerin istatistiksel analizleri de yapılmıştır.

Bulgular: Elde edilen verilere göre, Cd ve HA uygulamaları ve bu uygulamaların dozları arasında önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır. Kadmiyum stresi terede bitki gelişimi üzerine olumsuz etki göstermiş olup HA uygulamaları bu olumsuz etkiyi azaltmıştır. Kadmiyum stresi altında yetişen terede LWRC azalırken, EC artış göstermiştir. Bununla birlikte Cd stresi altında yetiştirilen terede HA uygulamaları bitki gelişimini olumlu etkilemiş ve LWRC içeriğini artırırken, EC'yi azaltmıştır. Ayrıca, 200 mg/kg'lık Cd uygulamasının, bitkinin karotenoid, klorofil-a ve klorofil-b miktarları, SOD, CAT ve POD enzim aktiviteleri, H₂O₂, MDA, prolin ve sakkaroz miktarları ve bitki mineral içerikleri üzerinde en büyük toksik etki gösterdiği ve HA uygulamalarının bu toksik etkiyi azalttığı belirlenmiştir.

Sonuç: Bu tez çalışmasında, elde edilen bulgular neticesinde Cd ağır metalinin terede bitki gelişimini, terenin bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerini, bitki mineral içeriklerini olumsuz etkilediği, fakat HA uygulamaları bu olumsuz etkiyi azalttığı saptanmıştır. Ayrıca, uygulanan HA doz oranlarının artışının incelenen bu parametreler üzerinde pozitif yönde önemli ölçüde etki gösterdiği belirlenmiş ve HA dozları arasında en iyi dozun 20 ml/L olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tere (*Lepidium sativum* L.), kadmiyum (Cd), hümik asit, bitki gelişimi, fizyolojik ve biyokimyasal özellikler.

Eylül 2020, 80 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

EFFECTS OF HUMIC ACID TREATMENTS ON PLANT GROWTH, SOME PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF GARDEN CRESS UNDER HEAVY METAL STRESS

Zeynep ALIM

Supervisor: Prof. Dr. Ertan YILDIRIM

Purpose: In this study, it was aimed to determine the effects of humic acid (HA) applications (0, 10, 15 and 20 ml/L) on the plant growth, some physiological and biochemical properties of garden cress that grown under different concentrations (0, 100, 200 and 250 mg/kg) of heavy metal (Cd) stress conditions.

Method: This thesis study was conducted in Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture Research Greenhouses and Laboratories in 2019. The cress (*Lepidium sativum* L.) Helen cultivar was used as plant material in the experiment. It was determined that the effects of HA applications on the plant growth (root length, root throat diameter, leaf area, fresh and dry weight of leaves and roots, etc.), some physiological (leaf chlorophyll value (SPAD), electrical conductivity (EC), leaf relative water content (LRWC), etc.) and biochemical (chlorophyll content (chlorophyll-a, chlorophyll-b, carotenoid), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) enzyme activities, H₂O₂ analysis, MDA content, etc.) parameters of garden cress grown under heavy metal (Cd) stress conditions. Moreover, the statistical analyzes of all investigated parameters were also made besides the macro and micro element analyzes.

Findings: According to the data obtained, significant differences emerged between the Cd and HA applications and the doses of these applications. Cadmium stress had a negative effect on plant growth in the garden cress and HA applications reduced this negative effect. While the LRWC decreased in the garden cress grown under Cd stress, the EC increased. However, HA applications positively affected plant growth of garden cress grown under Cd stress, and while increased the LRWC and decreased the EC. Furthermore, Cd application of 200 mg/kg had the greatest toxic effect on the plant's carotenoid, chlorophyll-a and chlorophyll-b amounts, SOD, CAT and POD enzyme activities, H₂O₂, MDA, proline and sucrose amounts and plant mineral contents, and it was determined that HA applications reduce this toxic effect.

Results: In this thesis, as a result of the findings obtained, it was determined that Cd heavy metal affects negatively on plant growth, some physiological and biochemical parameters and plant mineral contents of garden cress, however, HA applications reduce this negative effect. Furthermore, it was determined that the increase in the applied HA dose rates had a significant positive effect on the investigated parameters and the best dose among the HA doses was found to be 20 ml/L.

Keywords: Garden cress (*Lepidium sativum* L.), cadmium (Cd), humic acid, plant growth, physiological and biochemical features.

September 2020, 80 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	19
MATERYAL ve YÖNTEM	28
Bitkisel Materyal ve Sera Koşulları	28
Yöntem.....	28
Denemenin kurulması	28
Ortama hümik asit uygulanması ve tohum ekimi	30
Ölçüm, Tartım ve Analizler	33
Kök uzunluğu (cm/bitki)	33
Yaprak sayısı (adet/bitki)	33
Kök boğazı çapı (mm/bitki)	33
Yaprak alanı (cm ² /bitki).....	34
Yaprak klorofil değeri (SPAD)	34
Bitki yeşil aksam ve köklerde yaş ve kuru ağırlıklar (g/bitki)	35
Doku elektriksel iletkenliği (EC) (%)	36
Yaprak su tutma kapasitesi (LWRC) (%)	37
Klorofil miktarı (Klorofil-a, Klorofil-b ve Karotenoid) (mg/g).....	37
Antioksidan enzim aktiviteleri (eu/g yaprak).....	38
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) analizi (mmol/kg).....	40
Lipid peroksidasyon (MDA) analizi (nmol/g)	40
Sakkaroz analizi (%)	40
Prolin analizi (µg/g)	40

Mineral analizleri	40
İstatistiksel Analizler.....	41
ARAŞTIRMA BULGULARI	42
Kadmiyum ve Hümik Asit Uygulamalarının Tere Bitkisinin Büyüme Parametreleri Üzerine Etkisi.....	42
Kadmiyum ve Hümik Asit Uygulamalarının Tere de Elektriksel İletkenlik (EC), Yaprak Klorofil Değeri (CRV), Yaprak Su Tutma Kapasitesi (LWRC), Klorofil ve Karotenoid Miktarı Üzerine Etkisi.....	45
Kadmiyum ve Hümik Asit Uygulamalarının Tere Bitkisinin Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkisi	47
TARTIŞMA ve SONUÇ	54
KAYNAKLAR.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	67

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çevre, toprak, su ve havada bulunan ağır metallerin kaynakları.....	3
Tablo 2. Bazı ağır metallerin insan vücuduna etkileri	5
Tablo 3. EPA tarafından rapor edilen insan sağlığı için bazı ağır metallerin doğal suda maksimum bulunabilme seviyeleri	7
Tablo 4. Bazı önemli ağır metallerin ekolojik sınıflaması.....	8
Tablo 5. Çalışmada kullanılan ortama ait bazı fiziksel ve kimyasal özellikler	29
Tablo 6. Çalışmada oluşturulan deneme grupları	30
Tablo 7. Cd ve HA uygulamalarının terede yaprak taze, yaprak kuru, kök taze ve kök kuru ağırlığı üzerine etkisi	44
Tablo 8. Cd ve HA uygulamalarının terede kök boğaz çapı, yaprak alanı, kök uzunluğu ve yaprak sayısı üzerine etkisi	45
Tablo 9. Cd ve HA uygulamalarının terede CRV, EC ve LWRC değerleri üzerine etkisi....	46
Tablo 10. Cd ve HA uygulamalarının terede karotenoid, klorofil-a ve klorofil-b değerleri üzerine etkisi.....	46
Tablo 11. Cd ve HA uygulamalarının terede antioksidan enzim aktiviteleri (CAT, POD ve SOD) üzerine etkisi.....	48
Tablo 12. Cd ve HA uygulamalarının terede hidrojen peroksit (H ₂ O ₂), lipid peroksidasyon (MDA), prolin ve sakkaroz içeriği üzerine etkisi	49
Tablo 13. Cd ve HA uygulamalarının terede makro element içeriği üzerine etkisi	50
Tablo 14. Cd ve HA uygulamalarının terede mikro element içeriği üzerine etkisi	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Ağır metallerin insan vücuduna girişinin farklı yolları.....	2
Şekil 2. Periyodik cetvel (Bitki bilimine göre, siyah çerçeve içerisine alınmış metaller 1. alt grup ağır metalleri, mor çerçeve içerisine alınmış metaller 2. alt grup ağır metalleri ve kırmızı çerçeve içerisine alınmış metaloidler ise 3. alt grup ağır metalleri göstermektedir).....	6
Şekil 3. Bitkilerde Cd ağır metalinin soğurulması, taşınması, birikmesi ve detoksifikasyonunun genel gösterimi.....	14
Şekil 4. Hümik maddelerin sınıflandırılması	16
Şekil 5. Stevenson’a göre hümik asidin yapı modeli	17
Şekil 6. Ortamın hazırlanmasından inkübasyon aşamasına kadar yapılan işlem aşamalarını gösteren fotoğraflar; (a) toprak:kum (1:1 v:v) oranının hazırlanması, (b) Cd ağır metalinin ortama uygulanması, (c) Cd ağır metali uygulanmış ortamın homojen karışımının sağlanması, (d) Hazırlanan ortamın saksılanması, (e) Ortamın sulanması ve (f) Ortamın serada gruplar halinde inkübasyona bırakılması	29
Şekil 7. Hümik asit çözeltisinin hazırlanması ve deneme alanındaki ortamlara uygulanması aşamalarını gösteren fotoğraflar	31
Şekil 8. Hümik asit çözeltisinin hazırlanması ve deneme alanındaki ortamlara uygulanması aşamalarını gösteren fotoğraflar; (a) Seyreltme öncesi ve (b) Seyreltme sonrası	32
Şekil 9. Hasat öncesi denemenin son halini gösteren fotoğraflar; (a) 250 mg/kg Cd uygulaması, (b) 200 mg/kg Cd uygulaması, (c) 100 mg/kg Cd uygulaması ve (d) 0 mg/kg Cd uygulaması	32
Şekil 10. Kök uzunluğunun ölçülmesini gösteren fotoğraf.....	33
Şekil 11. Kök boğazı çapının ölçülmesini gösteren fotoğraf	33
Şekil 12. Bitki yaprak alanlarının belirlenmesi	34
Şekil 13. Klorofil miktarının belirlenmesine ait örnek bir fotoğraf	34
Şekil 14. Bitkilerin yeşil aksam ve köklerinin yaş ve kuru ağırlıklarının belirlenme aşamalarını gösteren fotoğraflar	35
Şekil 15. Doku elektriksel iletkenliklerinin belirlenme aşamalarını gösteren fotoğraflar	36
Şekil 16. Yaprak su tutma kapasitesinin belirlenmesini gösteren fotoğraf	37
Şekil 17. Klorofil analiz sürecine ait fotoğraflar	38
Şekil 18. 250 mg/kg Cd uygulamasının tere üzerine etkisi	42
Şekil 19. Cd ve HA uygulamalarının terede bitki gelişimi üzerine etkisi	43

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
(C ₆ H ₉ NO) _n	: Polivinilpolipirrolidon (PVPP)
μ	: Mikron
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
μmol	: Mikromol
ABA	: Absisik asit
ANOVA	: İki yönlü varyans analizi
APX	: Askorbat peroksidaz
ATSDR	: Toksik maddeler ve hastalık sicil dairesi
°C	: Santigrad derece
C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈	: Etilendiamin tetra-asetik asit (EDTA)
C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	: Sakkaroz
C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₆	: Riboflavin
C ₄ H ₄ N ₂ O ₂ S	: Tiyobarbitürik asit
C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	: Metiyonin
C ₅ H ₉ NO ₂	: Prolin
CAT	: Katalaz enzim aktivitesi
Cd	: Kadmiyum
CdSO ₄ ·8H ₂ O	: Kadmiyum sülfat octahidrat
CEC	: Katyon değişim kapasitesi
cm ²	: Santimetrekare
COH	: Hidroksil
COOH	: Karboksil
CRV	: Yaprak klorofil değeri
dk	: Dakika
EC	: Elektriksel iletkenlik
EDTA	: Etilendiamin tetra-asetik asit
EPA	: Çevre koruma ajansı
EU	: Enzim ünitesi

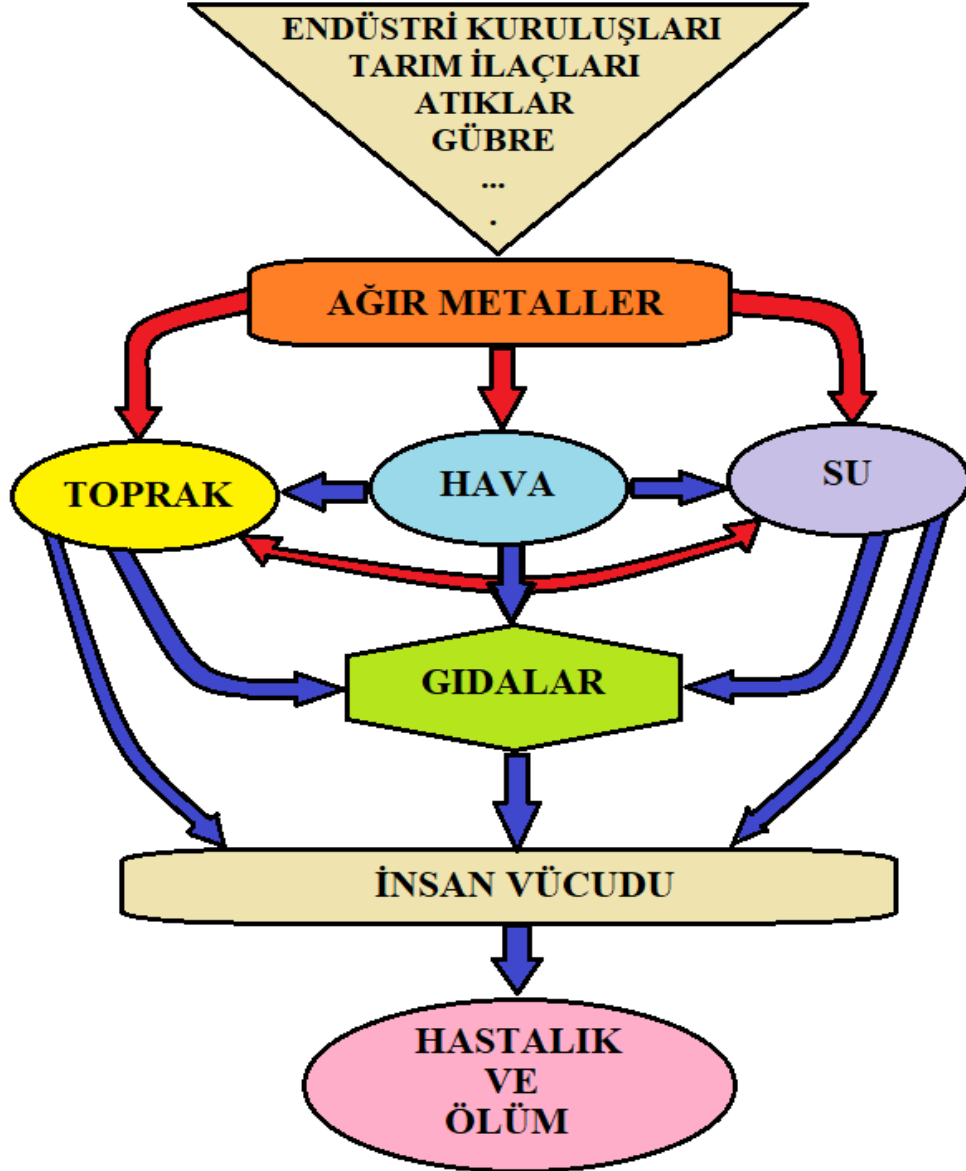
FA	: Fülvik asit
g	: Gram
GPOX	: Guaiacol peroksidaz
GST	: Glutohione-S-transferaz
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HA	: Hümik asit
HNO ₃ -H ₂ O ₂	: Nitrik asit-hidrojen peroksit
K ₂ O	: Potasyum oksit hmat
KA	: Kuru ağırlık
KH ₂ PO ₄	: Fosfat tamponu
L	: Litre
LWRC	: Yaprak su tutma kapasitesi
M	: Molar
MDA	: Malondialdehit: Lipid peroksidasyonu
mM	: Milimolar
NaH ₂ PO ₄	: Mono sodyum fosfat tamponu
NBT	: Nitro-blue tetrazolium
nm	: Nanometre
NPK	: Azot, fosfor ve potasyum bazal gübre
pH	: Asitlik veya bazlık ölçü birimi
POD	: Peroksidaz enzim aktivitesi
ppm	: Milyonda bir
PVPP	: Polivinilpolipirolidon
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Dakikadaki devir sayısı (d/dk)
SA	: Salisik asit
-SH	: Sülfhidril grubu
SOD	: Süperoksid dismutaz enzim aktivitesi
SPAD	: Klorofil değer birimi
TA	: Taze ağırlık
TBARS	: Tiyoarbitrik asit reaktif maddeleri
TU	: Turgorlu ağırlık
v:v	: Hacim:hacim
W	: Watt

GİRİŞ

Hem nüfus artışı hem de modern çağın gereksinimleri doğrultusunda yaygınlaşan ve giderek artan sanayileşme, çevresel kirliliğin yanısıra su ve tarım arazilerinde toprak kirliliğini önemli ölçüde etki etmektedir. Bu kirlilik durumuna çoğunlukla çeşitli nedenlerle doğaya salınan ağır metaller sebep olmaktadır. Su ve toprakta bulunan ağır metal kirliliği, çevresel kirliliğin yanısıra hem bitkiler üzerinde hem de bitkilerin tüketilmesi yolu ile insan sağlığı üzerinde ihmal edilemeyecek ölçüde olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Ağır metallerin insan vücuduna girişinin farklı yolları Şekil 1’de şematik olarak gösterilmiştir. Tarım alanlarında ağır metal kirliliğinin ana rolünü endüstri kuruluşları, belediye atıkları, evsel atıklar ve bilinçsiz uygulanan gübre ve kimyasal tarım ilaçları üstlenmektedir. Çevremizde, toprak, su ve havada bulunan ağır metallerin kaynakları Tablo 1’de verilmiştir (Özyürek 2016). Herhangi bir sebeple tarımsal alanlarda ağır metal konsantrasyonlarının toksik düzeyde bulunması bitkilerde fizyolojik ve metabolik aktivitelerin bozulmasına yol açarak strese neden olmaktadır. Bu sebeple, endüstriyel atık sularla ve diğer belirtilen yollarla kirlenen tarım alanlarında yetişen bitkilerde önemli ölçüde ürün kayıpları görülmektedir. Belirtilen bu durum, son zamanlarda ağır metal konsantrasyonlarına bağlı olarak yapılan bilimsel çalışmaların yaygınlaşmasına sebep olmuştur.

Çevre kirliliği, pedosfer, hidrosfer, atmosfer, litosfer ve biyosfer kalitesini etkilemektedir. Toprak ve su, tarımın sürdürülebilirliğine ve insanlığın medeniyetine dayanan değerli doğal kaynaklardır. Ne yazık ki bu kaynaklar, antropojenik faaliyetler nedeniyle azami istismara uğramış ve ciddi şekilde bozulmuş veya kirlenmişlerdir. Kanalizasyon suları ve endüstriyel atıkların bertaraf edilmesi büyük bir problemdir ve genellikle sebzeler de dahil olmak üzere bitki yetiştiriciliğinde kullanılan tarım alanlarına boşaltılırlar. Bu atık su, sulama yoluyla ağır metaller, tuzlar ve nitratlar ile çevreyi kirleterek çeşitli tehditler oluşturur (Achakzai *et al.* 2011). Bu tehditlerin başında bu atık sularla yetiştirilmiş bitkilerin depo ettiği ağır metal absorpsiyon miktarıdır. Çünkü bitkiler, kökleri vasıtasıyla çeşitli metalleri almak için doğal bir eğilime sahiptirler. Bitkilerin emilimi gerçekleştirdikleri bazı metal iyonları (Cu^{+2} , Co^{+2} , Fe^{+2} , Mo^{+2} , Mn^{+2} ve Zn^{+2} gibi) temel bitki mikro besinleri iken, bazıları (Hg^{+2} , Cd^{+2} , Ni^{+2} ve Pb^{+2} gibi) ise bitkiler için toksiktir. Bununla birlikte, bu toksik etkiler, aynı ürünün genotipinden genotipine göre de değişiklik göstermektedir (Liu *et al.* 2001). Toksik doz, iyon tipine, iyon konsantrasyonuna, bitki türlerine ve bitki büyüme aşamasına bağlıdır (Memon and Schröder 2009). Ayrıca, yeşil yapraklı sebzelerin metal alım farkları, ağır metallere toleransta

bitki farklılıklarına bağlıdır (Itanna 2002). Örneğin, yapraklı sebzelerin kök sebzeler ve baklagiller ile karşılaştırıldıklarında yüksek metal iyon biriktiricileri oldukları rapor edilmiştir (Alexander *et al.* 2006). Bu sebeple ağır metallerin bitki gelişimi, türü, bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkisini ortaya koyan bilimsel çalışmalar gerekli ve önemlidir.



Şekil 1. Ağır metallerin insan vücuduna girişinin farklı yolları

Ağır metal terimi, kimyasal özelliklerine, bulunabilirliklerine, biyolojik işlevlerine göre geniş çeşitlilik gösteren ve konsantrasyon seviyelerine bağlı olarak organizmalar için toksik olabilen hem esansiyel hem de esansiyel olmayan çok heterojen element grubunu içerir. Gerçekte “ağır metal” terimi, yoğunluğu 5 g/cm^3 ’den daha büyük olan metaller olarak tanımlanmaktadır. Tıpta ise ağır metal tanımı, elementlerin atomik ağırlıklarına bakılmaksızın tüm toksik özelliği taşıyan metaller olarak tanımlanır (Özbolat ve Tuli 2016). Bitki biliminde ise, “ağır metal” terimi periyodik cetveldeki elementler sistemi temel alınarak tanımlanmaktadır.

Tablo 1. Çevre, toprak, su ve havada bulunan ağır metallerin kaynakları (Özyürek 2016)

1. Metal İşletmeciliği ve Eritme İşlemleri	
Kaynaklar	Ağır metaller
a- Maden işlemlerinden çevreye rüzgarla yayılanlar	Cd, Hg, Pb, As
b- Metallerin eritilmesi	As, Cd, Hg, Pb, Sb
c- Demir ve çelik endüstrisi	Zn, Cu, Ni, Cr, Cd
d- Metal işletmeciliği	Zn, Cu, Ni, Cr, Cd
2. Endüstri	
Kaynaklar	Ağır metaller
a- Plastikler	Co, Cr, Cd, Hg
b- Tekstil	Zn, Al, Ti, Sn
c- Ev aletleri imalatı	Cu, Ni, Cd, Zn, Sb
d- Ağaç işletmeciliği	Cu, Cr, As
e- Rafineri	Pb, Ni, Cr
3. Havadaki Partikül ve Dumanlar	
Kaynaklar	Ağır metaller
a- Şehir, fabrika, vb.	Cd, Cu, Pb, Sn, Hg, V
b- Metal işletmeciliği	As, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sb, Ti, Zn
c- Taşıtlar	No, Pb, V, Cd
d- Fosil yakıtlar	As, Pb, Sb, U, V, Zn, Cd
4. Tarım	
Kaynaklar	Ağır metaller
a- Bitkisel gübreler	As, Cd, Mn, U, V, Zn
b- Hayvansal gübreler	As, Cu, Mn, Zn
c- Kireçler	As, Pb
d- Pestisitler	Cu, Mn, Zn
e- Sulama	Cd, Pb, Zn
f- Metal aşınması	Fe, Pb, Zn
5. Atıklar	
Kaynaklar	Ağır metaller
a- Lağım	Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, V, Zn
b- Kazma ve delmeler	As, Cd, Fe, Pb
c- Küller	Cu, Pb

Şekil 2’de verilen periyodik cetvelde gösterildiği gibi bitki biliminde kullanılmak üzere ağır metaller üç alt gruba ayrılarak tanımlanır. 1. alt grup, Lantanitler (atom numarası 57 ile 71 aralığında olan ağır metaller) ve Aktinitler (atom numarası 89 ile 103 aralığında olan ağır metaller) hariç tüm geçiş metallerini içeren gruptur. 2. alt grup, nadir toprak metalleri olarak isimlendirilen Lantanitler ve Aktinitler olarak sınıflandırılan metalleri içerir. 3. alt grup ise metaloidler olarak adlandırılan Alüminyum (Al), Galyum (Ga), Germanyum (Ge), Arsenik (As), Indiyum (In), Kalay (Sn), Antimon (Sb), Tellür (Te), Talyum (Tl), Kurşun (Pb), Bizmut

(Bi) ve Polonyum (Po)'dan oluşan ara geçiş metalleri ve yarımetallerin bulunduğu 12 tane heterojen elementten oluşan ve aynı zamanda “Kurşun (Pb) Grup” olarak tanımlanabilen gruptur (Appenroth 2010).

Yetmişten fazla element ağır metallere örnek olarak verilebilse de bu element grubu içerisindeki en önemli ağır metaller; Mangan (Mn), Demir (Fe), Gümüş (Ag), Arsenik (As), Kadmiyum (Cd), Bakır (Cu), Kobalt (Co), Paladyum (Pd), Alüminyum (Al), Krom (Cr), Civa (Hg), Nikel (Ni), Kurşun (Pb), Antimon (Sb) ve Çinko (Zn) dur. Bu ağır metaller, bitkiler, hayvanlar ve insanlar üzerindeki toksik etkileri nedeniyle çevresel kirlenici kategorisinde tutulur. Toprağın ağır metal kirliliği, doğal aktivitelerin yanı sıra antropojenik faaliyetlerden kaynaklanmaktadır. Madencilik, ergitme operasyonları ve tarım gibi antropojenik faaliyetler, yerel olarak topraktaki Cd, Co, Cr, Pd, As ve Ni gibi ağır metallerin seviyesini tehlikeli seviyelere kadar artırmıştır. Ağır metaller çevre şartlarına dayanıklı olduklarından doğada kalıcıdır ve toprak, bitki, insan ve diğer canlılarda birikmektedirler. Bu durum, biyoakümülyasyon; doğada bulunan ağır metallerin zaman içerisinde organizmalarda birikmesi şeklinde ve biyomagnifikasyon; besin zincirindeki en küçük canlılardan en büyük canlılara doğru gittikçe katlanarak birikmesi şeklinde oluşmaktadır. Bu sebeple, ağır metaller, bitki, hayvan ve insanları da içerisine alan tüm canlı organizmalar için hem hayati faaliyetlerin yürütülmesinde görev almaları hem de eksikliklerinin veya aşırı dozlarda bulunmalarının canlılığın devamlılığı ve kalitesi açısından genel sağlık durumunu direk etkilemeleri nedeniyle büyük önem taşırlar (Özyürek 2016). Nitekim, gıdaların tüketimi yoluyla birçok ağır metalin vücuda alınması ile bu metallerin vücutta lipid metabolizmasına veya proteinlere bağlanarak birikmesinin neticesi olarak insan sağlığı üzerinde uzun vadeli zararlı etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Rajeswari and Sailaja 2014). Örnek olması açısından bazı ağır metallerin insan vücuduna etkileri Tablo 2’de verilmiştir (Bat vd. 1998-1999).

Ağır metaller su ve toprak içerisinde hem çözünmüş formlarda (bu durum omurgalılar dahil çok çeşitli organizmalar üzerinde toksik etkilere sahiptir) hem de partikül halinde (tortular üzerine adsorbe edilmiş şekilde, asılı partikül madde veya kolloidler şeklinde, geçiş komplekslerinin içerisinde, Fe/Mn hidroksit ağlarında veya organik madde ve karbonatlarla bağlantılı şekilde) bulunabilirler. Ağır metal konsantrasyonlarının kentsel veya endüstriyel alanlarda doğal ortamlara göre çok daha fazla olduğu büyük ölçüde kabul edilmiştir (Rawat *et al.* 2003; Marcovecchio 2004; Breward 2003). Bu sebeple kentsel veya endüstriyel alanlarda ağır metallerin içme suyuna, tarımsal arazilere, sulama kanallarına veya trofik ağlara katılma olasılığı söz konusu olup insan popülasyonları üzerinde zararlı etkilerin oluşması olasıdır (Jha 2004; Obbard 2001; Quinn *et al.* 2003).

Ağır metaller, yapısal proteinler, enzimler ve nükleik asitler gibi hayati hücresel bileşenlere bağlanabilir ve işlevlerini etkileyebilirler. Ayrıca, ağır metaller, bazen vücudun sahte bir elemanı gibi işlev görerek belirli zamanlarda metabolik süreçlere bile müdahale edebilirler (Jaishankar *et al.* 2014). Genel olarak, ağır metaller uzun süreli maruz kalma, kanserojen, merkezi ve periferik sinir sistemi ve dolaşım etkilerine neden olabilir. Ayrıca, ağır metaller, bitki, hayvan ve insan dokularına hava solunması, diyet ve diğer kullanım yollarıyla girebilir. Motorlu taşıt emisyonları, As, Cd, Co, Ni, Pb, Sb, V, Zn, Pt, Pd ve Rh gibi havadaki kirleticiler açısından önemli bir kaynaktır. Endüstriyel ve tüketici atıklarından meydana gelen sızıntı ve asit yağmuru, topraklarda sıkışmış ağır metalleri serbest bırakarak bu işlemi şiddetlendirebilir. Ağır metallerin insan vücudunda depo edilmesinin genel hiyerarşik sırası; ekinlerin su alımı yoluyla ağır metaller maruz kalması, hayvanların bu bitkileri yemesi ve akabinde insanların doğrudan bu bitkileri veya bu bitkileri tüketmiş hayvan bazlı gıdaların yenilmesi şeklindedir (Rajeswari and Sailaja 2014).

Tablo 2. Bazı ağır metallerin insan vücuduna etkileri (Bat vd. 1998-1999)

Ağır metal	Etkileri
Civa (Hg), Kurşun (Pb), Alüminyum (Al)	Beyin hücrelerinin çalışmasını önlerler. Semptomları ağırlaşınca kadar kendini göstermeyebilir.
Selenyum (Se), Kadmiyum (Cd)	Ciğerlere zarar verir. Ciğer kanserine yol açar.
Civa (Hg), Kurşun (Pb), Kadmiyum (Cd), Selenyum (Se), Çinko (Zn) ve Bakır (Cu) tuzları	Böbreklere ve kanallarına zarar verir. Böbreklerin proteini absorbe etmelerini azaltır.
Çinko (Zn) ve Bakır (Cu) tuzları	Ciğerleri tahrip ederler. Bağırsaklarda kanamalara neden olur.
Arsenik (As)	Ciğer tümörüne sebep olur. Deri hastalıkları ve deri kanserine neden olur.
Kadmiyum (Cd)	Kemiklerde kalsiyum kaybına neden olur ve kemiğin kolayca kırılmasını sağlar. (Itai-itai hastalığı)
Civa (Hg), Kurşun (Pb), Arsenik (As)	Merkezi sinir sisteminde tahribat yapar, tansiyonu artırır ve depresyon yaratır. Bağırsaklarda korezyona neden olur.
Arsenik (As), Civa (Hg)	Kalbin normal çalışmasını engeller.
Kurşun (Pb)	Ovaryumlarda bozukluklara neden olur.

Grup	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Periyot	IA	IIA	IIIB	IVB	VB	VIB	VII B	VIII B			IB	IIB	IIIA	IVA	VA	VIA	VIIA	VIIIA
1	H Hidrojen 1,008																	He Helyum 4,0026
2	Li Lityum 6,94	Be Berilyum 9,0122																Ne Neon 20,180
3	Na Sodyum 22,990	Mg Magnezyum 24,305																Ar Argon 39,948
4	K Potasyum 39,098	Ca Kalsiyum 40,078	Sc Skandiyum 44,956	Ti Titanyum 47,867	V Vanadyum 50,942	Cr Krom 51,996	Mn Mangan 54,938	Fe Demir 55,845	Co Kobalt 58,933	Ni Nikel 58,693	Cu Bakır 63,546	Zn Çinko 65,38	Ga Galyum 69,723	Ge Germaniyum 72,630	As Arsenik 74,922	Se Selenyum 78,971	Br Brom 79,904	Kr Kripton 83,798
5	Rb Rubidyum 85,468	Sr Stronsiyum 87,62	Y İtiryum 88,906	Zr Zirkonyum 91,224	Nb Niobyum 92,906	Mo Molibden 95,95	Tc Teknesyum (98)	Ru Rutenyum 101,07	Rh Rodyum 102,91	Pd Paladyum 106,42	Ag Gümüş 107,87	Cd Kadmiyum 112,41	In İndiyum 114,82	Sn Kalay 118,71	Sb Antimon 121,76	Te Tellür 127,60	I Iyot 126,90	Xe Ksenon 131,29
6	Cs Sezyum 132,91	Ba Baryum 137,33	57-71	Hf Hafniyum 178,49	Ta Tantal 180,95	W Volfram 183,84	Re Renyum 186,21	Os Osmiyum 190,23	Ir İridyum 192,22	Pt Platin 195,08	Au Altın 196,97	Hg Cıva 200,59	Tl Talyum 204,38	Pb Kurşun 207,2	Bi Bizmut 208,98	Po Polonyum (209)	At Astatin (210)	Rn Radon (222)
7	Fr Fransiyum (223)	Ra Radyum (226)	89-103	Rf Rutherfordiy (267)	Db Dubniyum (268)	Sg Seaborgiyum (269)	Bh Bohriyum (270)	Hs Hassiyum (277)	Mt Meitneriyum (278)	Ds Darmstadtiy (281)	Rg Röntgeniyum (282)	Cn Kopernikyum (285)	Nh Nihoniyum (286)	Fl Fleroviyum (289)	Mc Moscovium (290)	Lv Livermoryum (293)	Ts Tennessine (294)	Og Oganesson (294)
			Lantanitler	La Lantan 138,91	Ce Seryum 140,12	Pr Praseodim 140,91	Nd Neodimyum 144,24	Pm Prometyum (145)	Sm Samaryum 150,36	Eu Evropiyum 151,96	Gd Gadolinyum 157,25	Tb Terbiyum 158,93	Dy Disprozyum 162,50	Ho Holmiyum 164,93	Er Erbiyum 167,26	Tm Tulyum 168,93	Yb İtterbiyum 173,05	Lu Lutesyum 174,97
			Aktinitler	Ac Aktinyum (227)	Th Toryum 232,04	Pa Protaktinyum 231,04	U Uranyum 238,03	Np Neptünyum (237)	Pu Plütinyum (244)	Am Amerikyum (243)	Cm Küriyum (247)	Bk Berkeleyum (247)	Cf Kaliforniyum (251)	Es Aynsteyniyum (252)	Fm Fermiyum (257)	Md Mendeleviy (258)	No Nobelyum (259)	Lr Lavrensiyum (266)

Şekil 2. Periyodik cetvel (Bitki bilimine göre, siyah çerçeve içerisine alınmış metaller 1. alt grup ağır metalleri, mor çerçeve içerisine alınmış metaller 2. alt grup ağır metalleri ve kırmızı çerçeve içerisine alınmış metaloidler ise 3. alt grup ağır metalleri göstermektedir).

Pb, Cr, As, Zn, Cd, Cu ve Hg kontamine alanlarda bulunan en yaygın ağır metallerdir. Bu metaller, besin zincirinde biyoakümülyasyon ve biyo-manyetikleşme riski nedeniyle mahsul üretimini azaltabildikleri için tehlikelidirler. Ağır metalin topraktaki akibeti ve taşınması, metalin topraktaki kimyasal formuna ve türüne önemli ölçüde bağlıdır. Ağır metaller ilk hızlı reaksiyonlarla adsorbe edilir, ardından yavaş adsorpsiyon reaksiyonları izlenir. Bu nedenle, değişen biyoyararlanım, hareketlilik ve toksisite ile farklı kimyasal formlara yeniden dağıtılır. Bu dağılımın iyon değişimi, adsorpsiyon ve desorpsiyon, sulu kompleksleşme, biyolojik immobilizasyon ve mobilizasyon, bitki alımı, mineral çökmesi gibi topraklardaki ağır metallerin reaksiyonları ile kontrol edileceğine inanılmaktadır (Rajeswari and Sailaja 2014).

Ağır metaller, hem bitkilerde hem de diğer canlılarda doğal olarak belirli sınır değerlerde bulunurlar. Çünkü canlı metabolizmasında yapısal olarak çeşitli görevlere sahiptirler. Bu sebeple, eksikliklerinde canlı organizmalarda bir takım yapısal bozukluklar oluşabilmekte ve birçok fizyolojik sorun gelişebilmektedir. Buna ek olarak, ağır metaller aşırı dozda alındığında veya hiç alınmadığında canlı organizmaların yaşam koşullarını tehdit edebilecek bir takım reaksiyonların gelişmesine sebep olabilirler. Bu duruma genel olarak ağır metal zehirlenmesi veya toksisitesi denilmektedir (Sossé et al. 2004). Nitekim, çevre koruma ajansı (*Environmental Protection Agency* (EPA)) tarafından insan sağlığını korumak için doğal suda bulunan ağır metallerin kabul edilebilir maksimum seviyeleri belirlenmiş ve rapor edilmiştir. Örnek olması açısından EPA tarafından belirlenen bazı ağır metallerin doğal suda bulunabileceği maksimum seviyeleri Tablo 3'te sunulmuştur.

Tablo 3. EPA tarafından rapor edilen insan sağlığı için bazı ağır metallerin doğal suda maksimum bulunabilme seviyeleri (EPA 1987)

Ağır metal	İzin verilebilir maksimum seviye	
	mg/m^3	$\mu mol/m^3$
Civa (Hg)	0,144	1,72
Kurşun (Pb)	5	24
Kadmiyum (Cd)	10	89
Baryum (Ba)	1000	7281
Nikel (Ni)	13,4	228
Gümüş (Ag)	50	464
Krom (Cr)	50	962
Demir (Fe)	300	5372
Mangan (Mn)	50	910

Bitkilerin büyümesi ve gelişmesi için mutlaka gerekli olan ve besin maddesi olarak kullanılan ağır metaller olduğu gibi bitki gelişimini olumsuz yönde etkileyen toksik ağır metaller de bulunmaktadır. Şekil 2'de sunulan ağır metaller arasında 1. alt grup ağır metallerden birçoğu bitki gelişimi için gerekli iken 3. alt grup ağır metaller bitkiler için toksiktir. Gerekli

olan ağır metallerin aşırı dozda olması yine bitki fizyolojisini olumsuz yönde etkileyerek toksik olabilmektedir. Tablo 4'te bazı önemli ağır metallerin bitki ve hayvanlar için gerekli olup olmadıkları ve kirlilik oluşturup oluşturmadığı sunulmuştur.

Tablo 4. Bazı önemli ağır metallerin ekolojik sınıflaması (Özyürek 2016)

Ağır metaller	Yoğunluk (g/cm ³)	Bitki ve Hayvan için gereklilik	Kirletici olup olmadığı
Gümüş (Ag)	10,5	---	K
Kadmiyum (Cd)	8,5	---	K
Krom (Cr)	7,2	G	K
Kobalt (Co)	8,9	G	K
Bakır (Cu)	8,9	G	K
Demir (Fe)	7,9	G	K
Civa (Hg)	13,6	---	K
Mangan (Mn)	7,4	G	---
Kurşun (Pb)	11,3	---	K
Molibden (Mo)	10,2	G	K
Nikel (Ni)	8,9	G	K
Platin (Pt)	21,5	---	---
Talyum (Tl)	11,9	---	K
Kalay (Sn)	7,3	---	K
Uranyum (U)	19,1	G	K
Vanadyum (V)	6,1	G	K
Tungsten (W)	19,3	G	K
Çinko (Zn)	7,1	G	K
Zirkon (Zr)	6,5	---	---

Bitkiler kökleri vasıtasıyla toprakta serbest hale geçebilen iyonları ve hareketli olan elementleri daha çabuk emme kabiliyetine sahiptirler. Ancak, toprakta çok kuvvetli bağ yapmış haldeki element ve iyonların bitkiye geçişi çok zor veya neredeyse mümkün değildir. Bunlara ek olarak, bitkiler için “antagonistik etki” denilen bir durum da söz konusu olabilir. Bu etki, bitkilerin besin elementlerinin toprakta veya sulama suyunda birbirlerinin yerine bağlanarak gerekli olan elementin alınmasını engelleme veya azaltma durumu olarak tarif edilir (Kafadar ve Saygıdeğer 2010). Bu durum bitkilerin fizyolojik özelliklerini ve büyümelerini olumsuz yönde etkilemektedir. Nitekim iz element denilen ve bitkiler için gerekli olan ağır metaller bitkilerin sağlıklı bir şekilde büyümesi ve gelişmesi için çeşitli görevleri yerine getirirler. Bu görevler, döllenme ve kusursuz tozlaşma, genetik materyal ve tohumların sağlıklı ve bol miktarda üretimi, çevresel faktörlere ve olumsuz durumlara karşı bitkilerin dayanıklılığı, çeşitli yararlı biyokimyasal ve metabolik olayların gerçekleştirilmesi ve meyve oluşumu şeklinde sıralanabilir. Bu iz element diye tarif edilen ve Tablo 4'te verilen bazı metallerin noksan olması durumu, bitkilerde kloroz, çeşitli nekrozlar, yapraklarda şekil bozukluğu, kuruma veya kahverengimsi-sarımsı lekeler şeklinde kendini belli eder. Bu durum oluştuğunda bitki

büyümesi ve gelişimi yavaşlayarak verim ve kalite düşer. Çünkü bitkilerin büyüme ve gelişme fonksiyonlarını eksiksiz bir şekilde yerine getirebilmesi için topraktan kökleri vasıtasıyla gerekli miktarda iz element (ağır metal) alarak depolamaları gerekmektedir (Özyürek 2016).

Ağır metaller yoğunluk, atomik ağırlık, atom numarası ve periyodik cetveldeki yerleri açısından diğer metallerden ayrılırlar. Kısaca ağır metallerin temel özelliklerini sıralayacak olursak;

- Periyodik tablonun orta, sağ ve en alt sıraları olmak üzere üç gruba ayrılırlar.
- Yüksek yoğunluklara sahiptirler.
- Doğada toksiktirler.
- Parçalanmazlar (yani doğada kaybolmazlar).

Ağır metaller olarak adlandırılan çevresel kirleticiler arasında en önemli yere sahip olan ağır metallerden birisi Cd'dur. Tarihsel olarak kadmiyuma maruz kalma olayı, 20. yüzyılın başlarında meydana gelmiştir. Japonya'da 1910 yılında Mitsui Madencilik ve Eritme Şirketi, madencilik faaliyetlerinin bir yan ürünü olarak Cd Jinzugawa nehrine bırakmıştır. Çevre sakinleri farkında olmadan Cd karışmış sulama suyunda yetiştirilen pirinçleri tüketmiş, kemik erimesi ve böbrek yetmezliği gibi hastalıkları yaşamaya başlamışlardı. Bu semptomların kaynağı net olarak bilinmiyordu ve o sırada düşünülen olasılıklar arasında "bölgesel veya bakteriyel bir hastalık veya kurşun zehirlenmesi" olarak yer alıyordu. Fakat asıl sebep Cd zehirlenmesiydi. Bu meydana gelen olay Cd ağır metalinin göz ardı edilemeyecek kadar toprak ve su kirliliğinde önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir. Kadmiyum, endüstriyel işletmelerde yaygın olarak bulunan son derece toksik bir metaldir. İzin verilen düşük maruz kalma limiti nedeniyle, eser miktarda kadmiyumun bulunduğu durumlarda bile aşırı maruziyet meydana gelebilir. Kadmiyuma uzun süreli maruz kalma böbreklerde fonksiyon bozukluğuna sebep olabilir. Kadmiyum biyo-kalıcıdır, yani bir kez emilir ve yıllarca insan vücudunda yerleşik kalır. Kadmiyuma yüksek maruziyet obstrüktif akciğer hastalıklarına yol açabilir ve akciğer kanserine sebep olabilir. Kadmiyum ayrıca insanlarda ve hayvanlarda kemik kusurlarına neden olabilir (Rajeswari and Sailaja 2014).

Kadmiyum (Cd) ağır metalinin bazı önemli özellikleri ve adsorbe edilmesi durumunda ortaya çıkacak sonuçlar aşağıdaki gibi maddeler halinde özetlenmiştir (Patrick 2003; Benavides *et al.* 2005; Yimsek 2007; Jarup and Akesson 2009; Satarug *et al.* 2011; Jaishankar *et al.* 2014; Rajeswari and Sailaja 2014; Mahurpawar 2015; Sharma *et al.* 2015; Özyürek 2016).

- Kadmiyum, geçiş metallerinin ikinci sırasında bulunan IIB grubu 5. Periyod 4d (son yörünge elektronları 4d orbitalinde bulunur) geçiş metalidir.
- Kadmiyum, bitkiler için 1. alt grup ağır metaller arasındadır.

- Kadmiyum'un atom numarası (Z) 48, atom ağırlığı (M) 112,41 akb (1 akb= $1,66 \times 10^{-27}$ kg), yoğunluğu (ρ) 8,65 g/cm³, erime noktası (T_M) 321,07 °C, kaynama noktası (T_B) 767 °C, değeriği +2 (Cd⁺²), molar hacmi (V) 13 ml/mol, mineral sertliği 2, özgül ısısı (C) 0,23 J/gK, ısı iletkenliği 0,97 W/cmK, elektrik iletkenliği $0,138 \times 10^6 \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, iyonlaşma enerjisi 867,8 kJ/mol, buharlaşma entalpisi 100 kJ/mol ve atomlaşma entalpisi 112 kJ/mol'dür.
- Kadmiyum, toksik maddeler ve hastalık sicil dairesi (ATSDR 2007, (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry 2007*))'ne göre en zehirli ağır metaller arasında yedinci sıradadır.
- Kadmiyum en çok iyonik formlarında toksiktir.
- Kadmiyum, gümüş beyazlığında, elektrik, seramik, pil ve akü sanayisinde kullanılan yumuşakça, kanserojen ve toksik bir ağır metaldir.
- Kadmiyumun suda çözünme özelliği, sınıfındaki ağır metallere göre en yüksektir ve bu nedenle doğada yayılım hızı yüksektir.
- Toprak için kadmiyum ağır metalinin toksik olma sınırı 3 mg/kg iken bitkilerde bu sınır 1 mg/kg'dır.
- Kadmiyum, çinko bileşikleri ile beraber doğada kadmiyum sülfür (CdS) olarak bulunur ve çinko, kurşun ve bakırın yan ürünü olarak üretilir.
- Kadmiyum, genellikle endüstride, elektrolizle kaplama ve galvanizleme proseslerinde, boya pigmentleri ve plastiklerde kullanılır.
- Kömür, motor yağları, taşıt lastikleri, böcek ilaçları ve fosforlu gübreler çevresel kadmiyumun ana kaynağıdır.
- Havadaki Cd tozlarının atmosferde birikmesi, tarımda Cd içeren gübrelerin kullanılması ve lağım suları ile sulama yapılması insanların tüketeceği ürünlerin kontaminasyonuna yol açarak Cd alımının artmasına yol açabilir.
- Kadmiyumun insan vücuduna girmesindeki en önemli kaynaklar alınan besinler ve tütün ürünlerinin tüketimidir.
- Deniz memelilerinden elde edilen ürünler, özellikle yüksek kadmiyum alımına sebep olabilir.
- Kadmiyumun topraktan bitkiye transferinin yüksek olması sebebiyle ağırlıklı olarak meyve ve sebzelerde bulunur.
- Kadmiyumun insan sağlığına yönelik en büyük tehditleri, böbrek hastalıkları, kemik erimesi ve akciğer hastalıklarıdır. Ayrıca aşırı maruz kalma kansere ve ölüme neden olabilir.

- Diyetle kalsiyum, protein, çinko, demir ve bakırın düşük oranda olması bağırsaktan Cd emilimini artırarak hastalıklara sebep olmaktadır.
- Aşırı kadmiyuma maruz kalmış bir insanda yüksek olasılıkla görülen hastalık ağırlı Osteomalazi'dir.

Yukarıdaki açıklanan bilgilere ek olarak, kadmiyum, bitki-toprak sistemindeki hareketliliği nedeniyle önemli bir sorundur. Kadmiyum, ortamda doğal olarak az miktarda bulunmasına rağmen (0,04-0,32 mM), bazı endüstriyel faaliyetten kaynaklanan serpinti ve fosfatlı gübrelerin ve biyosolitlerin tarımsal uygulamaları, bu ağır metalin topraktaki yoğunluğunu artırmıştır (Monteiro *et al.* 2009). Cd ağır metali ile kirlenmiş topraklarda yetişen bitkiler, herhangi bir görünür işaret olmadan büyük miktarlarda yenilebilir dokularda Cd'ü absorbe edebilir ve biriktirebilir, böylece bitkilerin yenilen kısımlarında bulunabilir (Monteiro *et al.* 2008) ve beslenmeyle insan vücuduna girer (McBride 2003). Avrupa'da yapılan bir saha çalışmasında (Peris *et al.* 2007), sebzelerin yenilebilir kısımlarında belirlenmiş eşiklerin üzerinde Cd ağır metalinin bulunduğu rapor edilmiştir. Bu nedenle, düşük konsantrasyonda Cd ağır metal alımına bile bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal tepkilerinin belirlenmesi üzerine yapılan bilimsel çalışmalar, tarımsal kaynakların ve ekosistemlerin uzun vadeli güvenliği ve korunması için kritik öneme sahiptir.

Bitkiler büyüme ve gelişimlerini tamamlayabilmek için maruz kaldıkları ağır metallere karşı çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar kaçınma ve tolerans stratejileri olarak ayrılmıştır. Bir çok bilim insanı bu mekanizmaların belirlenmesi ve bitki gelişimini olumlu yönde etkileyecek yöntemlerin geliştirilmesi için çeşitli çalışmaları yürütmüşlerdir. Yapılan çalışmalar ışığında, bitkilerin kemotaksi denilen bir takım hareketlerle büyüme ve gelişmelerine yön verdikleri saptanmıştır. Bhide *et al.* (1996), bitkilerin ağır metal ve toksik etki gösteren bileşikler içeren topraklardan kökleri vasıtasıyla kaçınarak, daha sağlıklı bir büyüme için kök gelişimlerini, besin maddesince zengin ve toksik açıdan zararsız bölgelere doğru yaptıklarını rapor etmişlerdir. Bunun yanı sıra, bitkiler, kemotaksi hareketleriyle kaçınmadıkları ve besin maddeleriyle birlikte topraktan veya sudan almak zorunda kaldıkları toksik metalleri için ise bu toksik etkiyi elimine edici bir takım mekanizmalar gerçekleştirmektedirler. Bu mekanizmalara örnek olarak terleme, reçine oluşturma ve büyük hücreler içerisindeki vakuollerde toksik metalleri hapsetmek verilebilir (Preetha *et al.* 2006). Ancak, bu geliştirilen mekanizmalar bitki türüne, çevresel stres faktörlerine, stres faktörünün karakteristiğine, strese maruz kalma süresine, bitki doku ve organlarının yapısına, gelişim durumuna ve evresine bağlı olarak değişmektedir. Yani, bu

tolerans ve direnç mekanizmaları spesifik olup bitki çeşidine göre değişim göstermektedir (Özyürek 2016).

Bitkilerin ağır metallerle karşı gösterdikleri direnç mekanizmalarından olan kaçınma mekanizması, Cd ağır metalinin sınırlanmasına yol açar. Bu sebeple, bitkilerin Cd ağır metaline karşı gösterdiği direnç mekanizması tolerans mekanizmasıdır. Bitkiler, kökleri vasıtasıyla aldığı Cd ağır metalini amino asitlere, proteinlere ve peptitlere bağlayarak biriktirir ve depolayarak hapsederler (Pál *et al.* 2006). Bitkilerin, Cd ağır metalinin neden olduğu hasarla başa çıkmak için geliştirdikleri diğer mekanizmalar; salisilik asit, jasmonik asit, nitrik oksit ve etilen gibi bazı stres sinyali molekülleri ile ilgilidir. Tüm bu bileşikler, Cd'nin toksik etkisine cevap vermek için hücrede yer aldıklarını düşündüren Cd tedavisi ile indüklenmiştir (Rodríguez-Serrano *et al.* 2006; Popova *et al.* 2012).

Birçok bitki Cd ağır metali ile kirlenmiş topraklarda yüksek Cd konsantrasyonlarında bile hayatta kalır, büyür ve gelişir. Araştırmalar, bu bitkilerin bazılarının organellerinin ve dokularının hipertolerant kapasitesi sergilediğini göstermiştir. Cd toksisitesi ile baş etme stratejileri, Cd ağır metalinin “hiperakümülyasyon” olarak tanımlanan alımını ve dağıtımını içerir. Öte yandan, bazı bitkiler hücreleri ve dokuları yıkımdan korumak için antioksidanlar tarafından ROS (*Reactive Oxygen Species*; reaktif oksijen türleri)'un temizlenmesini arttırmıştır. Bu nedenle, bitkilerde Cd toleransı mekanizması hem antioksidan savunmayı hem de hiperakümülyasyon savunmasını içerebilir (Rascio and Navari-Izzo 2011).

Hiperakümülatör, topraktan aşırı miktarda bir veya daha fazla ağır metali aktif olarak alan bitkiler için kullanılan terimdir. Hiperakümülyasyon yapan bitkiler için ağır metaller köklerde kalamazlar, sürgünlere taşınır ve topraküstü organlarında birikirler. Bu sebeple, hiperakümülyasyon yapan bitkiler fitotoksikite belirtisi göstermezler. Rascio ve Navari-Izzo (2011), 2011 yılına kadar yaklaşık 450 angiosperm türünü ağır metal hiperakümülatörleri (As, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Sb, Se, Tl ve Zn) olarak tanımlamışlardır. Bu belirtilen sayı bilinen angiosperm türünün yaklaşık % 0.2'sidir. Bununla birlikte, hiperakümülyasyon yapan yeni tesisler bulunmaya devam etmektedir (Rascio and Navari-Izzo 2011; Altınoğlu *et al.* 2012).

Bitkilerde, topraktan Cd ağır metalinin alımı esas olarak Ca^{+2} , Fe^{+2} , Mn^{+2} ve Zn^{+2} taşıyıcıları ile gerçekleşir (Rascio and Navari-Izzo 2011). Hiperakümülyasyon yapmayan bitkilerde, Cd alımı spesifik değildir. Örneğin, mısırdaki Cd ağır metalinin kök apoplastı üzerine güçlü adsorpsiyonu, bu metali topraktan almak için ana itici güç olarak işlev görebilir (Redjala *et al.* 2009); ancak sonuç pirinçte bunun tersidir (Lu *et al.* 2009).

Mench and Martin (1991), köklerden salgılanan organik asitlerin düşük molekül ağırlığının, ağır metallerin çözünürlüğü ve mevcudiyetinde önemli bir rol oynadığını ve kök

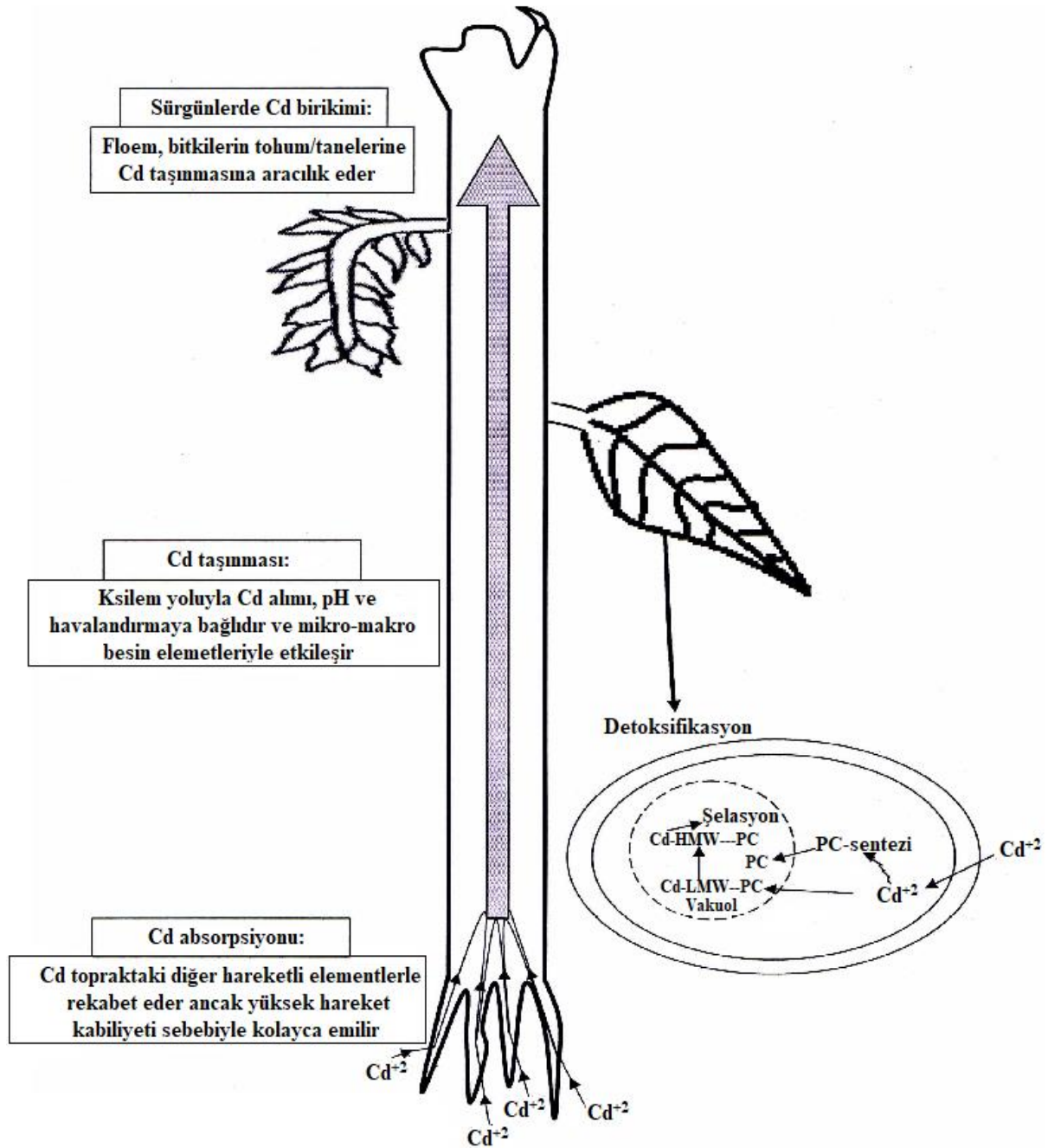
salgılanması ile Cd şelat kompleksine bağlanan Cd'un azaltılması durumunda Cd mevcudiyetinin azalacağını bildirmişlerdir. Buğday ve karabuğday gibi bazı bitkilerin kökleri, Cd'un köklere girmesini önlemek için oksalik asit, malik asit ve sitrik asit gibi Cd ile şelatlanabilen organik asit salgılanmaktadır. Ek olarak, organik fosfat asit ve Cd iyonlarının kombinasyonu, bitkiler için uygun olmayan kadmiyum fosfat kompleksleri üretebilir (Nazar *et al.* 2012). Toprakta bulunan Cd ağır metalini bitki tarafından emilimi, taşınması, akümüasyonu ve detoksifikasyonu örnek teşkil etmesi açısından Şekil 3'te gösterilmiştir.

Hiperakümüasyonlu bitkilerde Cd'da dahil olmak üzere ağır metallerin kökten sürgüne taşınması, hiperakümüasyon yapmayan bitkilerdekinden farklıdır. Bu strateji, kök hücrelerde topraktan alınan ağır metal iyonlarının çoğunu tutar, sitoplazmada şelasyonla detoksifiye eder veya vakuollerde saklar ve bu elementleri ksilem yoluyla hızlıca sürgüne aktarır. Bu, ağır metal iyonunun vakuollerden kolayca akmasını sağlayan kök hücre tonoplastının spesifik özelliklerini içerir (Rascio and Navari-Izzo 2011). Metal bağlayıcı ligandlar olarak çalışabilen hiperakümülatör köklerinde birçok küçük organik molekül bulunur. Ancak, hiperakümüasyon stratejilerinde farklı unsurların katkısı henüz tanımlanmamıştır.

Stresli koşullarda hayatta kalma, bitkinin, uyarıyı algılama, sinyal üretme ve iletleme metabolizmayı buna göre ayarlayan biyokimyasal değişiklikleri indüklemeye yeteneğine bağlıdır. Bu nedenle, stres toleransına aracılık eden sinyal moleküllerinin araştırılması, bitkilerin olumsuz çevreye nasıl alıştığını daha iyi anlamamızda önemli bir adımdır. Genel olarak, Cd ağır metalinin birkaç elementin (Ca, Mg, P ve K) alınmasına, taşınmasına ve kullanımına müdahale ettiği rapor edilmiştir (Kashem and Kawai 2007; Hermans *et al.* 2011; Hassan *et al.* 2005).

Bitki savunması çeşitli stratejiler benimsenerek başlatılabilir. Bunlardan birinin, çeşitli büyüme düzenleyicilerinin ve diğer kimyasalların dışsal kullanımının, bazı bitkilerdeki birçok strese karşı direnç üretmede faydalı olduğu kanıtlanmıştır. Ağır metal stresine karşı salisilik asit (SA), absisik asit (ABA) ve hümitik asit (HA) gibi kimyasalların dışsal kullanımı ve bu kimyasalların bitki büyüme ve gelişmesine gösterdiği etki, bitki fizyolojisi alanında yeni bir çalışma konusudur. Literatürde var olan çalışmalar incelendiğinde, SA ile tohum emiciliğinin mısır bitkilerinde büyüme, gelişme ve fotosentez ile ilgili fizyolojik süreçleri etkilediğini göstermiştir. SA'nın erken büyüme döneminde faydalı etkisinin bitkilerin Cd ağır metaline maruz kaldığında biriken hasarlardan kaçınmasına yardımcı olabileceği ve SA'nın alternatif olarak spesifik proteinlerin veya savunma ile ilgili enzimlerin ekspresyonunda yer alabileceği rapor edilmiştir. Ayrıca yapılan bu çalışmaların sonuçlarından elde edilen bulgulara göre, SA'nın çevresel değişimlere olabildiğince az zarar vererek ağır metalleri tolere edebilecek mahsuller

geliştirmek amacıyla bitkileri azaltılmış Cd içeriği için manipüle etmeyi amaçlayan stratejiler için iyi bir arka plan sağlayabileceği bildirilmiştir (Krantev *et al.* 2008; Popova *et al.* 2008, 2009, 2012).



Şekil 3. Bitkilerde Cd ağır metalinin soğurulması, taşınması, birikmesi ve detoksifikasyonunun genel gösterimi (Nazar *et al.* 2012)

Yukarıdaki paragrafta belirtilenlere ek olarak, SA'in Cd ağır metalinin bazı bitkilerde (mısır, bezelye, vb.) meydana getirdiği kümülatif hasar gelişimini önlediği, büyüme ve fotosentez üzerinde faydalı bir etki oluşturduğu, oksidatif hasarı azalttığı, membran stabilitesi üzerinde koruyucu bir etki meydana getirdiği belirtilerek, SA'in antioksidan sistemin ve lipid metabolizmasının düzenlenmesini içeren ve zar bütünlüğünün korunmasına yol açan genel bir

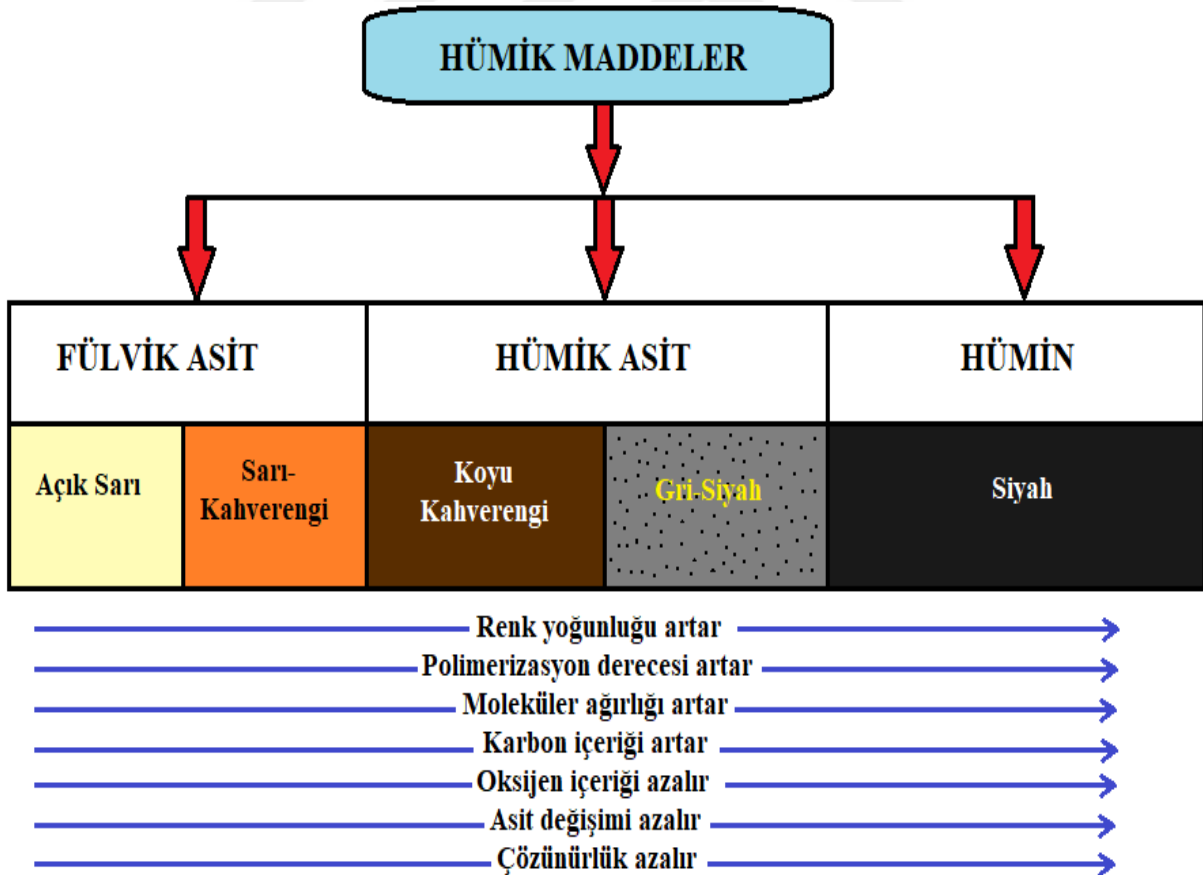
antistres tepkisi geliştirerek Cd toksisitesini dolaylı olarak azaltabileceği rapor edilmiştir (Krantev *et al.* 2008; Szalai *et al.* 2005; Popova *et al.* 2008, 2009, 2012)..

Salisilik asidin yanı sıra, absisik asidin (ABA) de Cd ağır metal toksisitesine karşı koruyucu bir etkisi olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmalardan bazıları incelendiğinde, bazı bitkilerde (pirinç, soya fasulyesi) ABA'nın Cd ağır metalinin toksisitesine karşı bitki toleransını artırdığı ve Cd⁺²'nin olumsuz etkilerini azaltarak yaprak, kök ve gövdede büyüme hızını artırdığı belirtilmiştir (Hsu and Kao 2003; Ghorbanli *et al.* 2000).

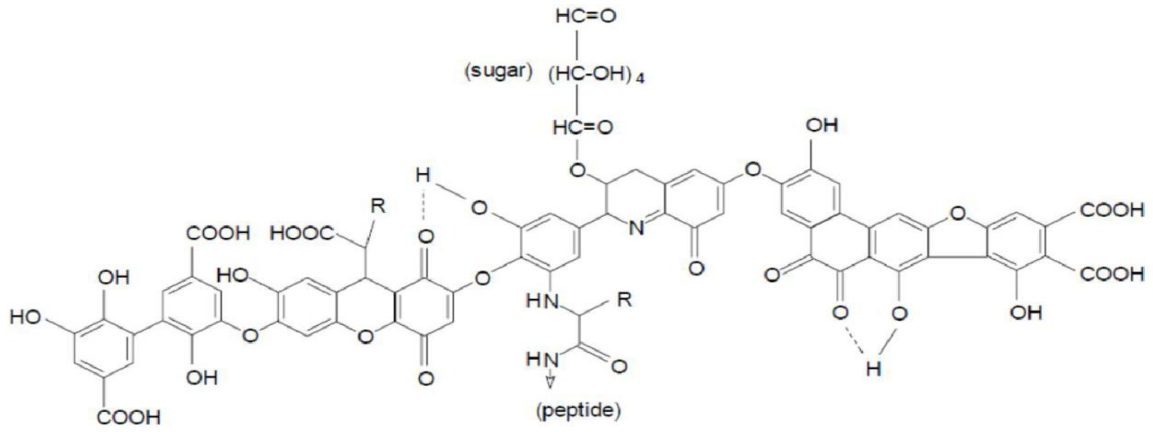
Salisilik asit ve absisik aside ek olarak bitkilerde direnç üretme mekanizmalarına faydalı olduğu düşünülen diğer bir bileşen ise hümitik asitlerdir (HA). HA'ler bitki gelişimini doğrudan ve dolaylı olarak etkileyen, topraktaki metaller ile bileşik oluşturarak çözünürlüğü ve biyolojik elverişliliği değiştiren ve toprağın bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini iyileştirerek bitkisel üretimi artıran önemli organik maddelerdir. Hümitik asitler, toksik ağır metal iyonlarıyla kuvvetli bağ oluşturması, ağır metal stresinin bitki gelişimi üzerine olan olumsuz etkilerini gidermesi bakımından bitkisel üretimde önemli bir potansiyel oluşturmaktadır (Özkay vd. 2016). Ayrıca, HA uygulanan toprakta yetişen bir bitkinin ağır metal adsorpsiyon oranının azalttığı ve topraklardaki ağır metallerin bitkiler tarafından kullanılabilirliğini ve topraktaki hareketliliğini azalttığı rapor edilmiştir (Haghighi *et al.* 2010). Dahası, toprağa HA uygulanmasının bitki büyümesi, bitki verimi ve bitkideki fizyolojik süreçleri iyileştirdiği rapor edilmiştir (Farouk *et al.* 2011). Bunlara ek olarak, marul fideleri (*Lactuca sativa* L.) üzerine yapılan bir çalışmada, HA uygulamasının marul yapraklarında fotosentetik oran ve klorofil, prolin ve fosfor (P) konsantrasyonları üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı, taze marul ağırlığını önemli ölçüde artırdığını, Cd toksisitesinin oluşturduğu olumsuzlukları büyük ölçüde ortadan kaldırarak marul yapraklarında biriken Cd konsantrasyonunda önemli ölçüde azalma meydana getirdiği ve bitki büyümesini artırdığı rapor edilmiştir (Haghighi *et al.* 2013).

Hümitik asitlerin temelini oluşturan hümitik maddeleri kısaca açıklayacak olursak; yüzyıllardır hümitik maddelerin menşei ve kimyasal yapısını belirlemek için çokça çalışma yapılmış, ancak halen bu maddelerin tüm yapısını tam olarak izah edici bir sonuca ulaşamamıştır. Yalnız, anayapısal gruplara ve değişik organik kimya moleküllerinin istatistiksel dağılımına göre hümitik maddeleri tanımlamak mümkündür. Hümitik maddeler, bütün kömürlerin en önemli kısmını teşkil eden ve bitkisel ve odunsal kısımların ya da ağaçların kimyasal değişimi sonucu meydana gelen organik maddelerdir (Kural 1998; Ay 2015). Hümitik maddeler, turba kömürü, kaynak suları, toprak, çökeltiler, kanalizasyon suları ve linyitte bulunan organik maddelerin çoğunu temsil eder. Hümitik maddeler, farklı ortamlarda çözünübilirliklerine göre gruplara ayrılırlar. Bu gruplama elemanları, Şekil 4'te şematik olarak

gösterildiği gibi fülvik asit (FA), hümik asit (HA) ve hümindir. Bu elemanların en önemlisi ise hümik asitlerdir. Topraktaki organik materyalin temel maddesi ise humustur. Humus genellikle bitki kısımlarının toprak altında uzun yıllar beklemesiyle oluşmakta ve ekolojik sistemde toprağın verimliliğini sürekli kılan ve gübrelerin alınımını kolaylaştıran bir maddedir (Öktem vd. 2017). “Humus” kelimesi ilk olarak 1841 yılında Von Liebig tarafından ortaya atılmış ve bu maddenin alkali ortamda çözünen kısımlarına da “Hümik asit” adını vermiştir (Ay 2015). Humus içerisindeki bileşenlerin büyük bir kısmını HA’ler oluşturur. HA’ler, bitkinin topraktan bazı besin maddeleri, vitamin ve iz elementlerin alımını kolaylaştırmaktadır (Öktem vd. 2017). HA’ler, genellikle koyu kahverengi ve gri-siyah renkli kolloidal çözeltilerdir. Hidrofilik özellik gösteren HA’lerin tadı nemli ortamlarda acıdır. HA’lerin elde edilme yöntemleri, hammadde değişikliği ve farklı özütleme işlemleri sebebiyle, HA’lerin molekül ağırlığı 300 ile 90000 g/mol aralığında değişmektedir (Ay 2015). HA’lerin yapısını oluşturan elementlerin tipi ve bulunma yüzdeleri, Karbon (C) %53,8-58,7; Oksijen (O) %32,7-38,3; Hidrojen (H) %3,2-6,2; Azot (N) %0,8-5,5 ve Kükürt (S) ise %0,1-1,5 aralığında değişmektedir (Schnitzer 1978; Ay 2015). Belirtilen bu elementleri yapısında barındıran HA’ın Stevenson’a (1982) göre yapı modeli Şekil 5’te verilmiştir.



Şekil 4. Hümik maddelerin sınıflandırılması (Stevenson 1982)



Şekil 5. Stevenson’a göre hümik asidin yapı modeli (Stevenson 1982)

Hümik maddelerin en önemli bileşenlerinden olan HA’ler, toprağın dokusunu ve yapısını fiziksel olarak iyileştirerek toprağa yumuşak ve kolay işlenebilirlik özelliği kazandırır. HA’ler killi, balçıklı ve sıkıştırılmış toprağı parçalayarak yumuşak ve geçirgen bir yapı oluşturması sebebiyle toprağın solunum (havalanma), drenaj ve su tutma kabiliyetini artırır. Ayrıca, HA’ler toprakta bakterilerin, kalsiyumun (Ca), çözünmeyen kalsiyum fosfattan fosforun, demir ve çözünmeyen demir fosfattan fosforun enzimatik olarak oluşumunu sağlarlar (Ay 2015; Bhardwaj *et al.* 1971; Benz *et al.* 1998). HA’ler yapısında bulunan doğal karbon ile topraktaki faydalı mikroorganizmaların çoğalması ve faaliyet yürütmesi için ortam sağlar. HA’lerin yapısındaki organik karbonun oksidasyonu ile ortaya çıkan enerji bitki kök bölgesindeki toprağı ılık tutması sebebiyle bitkinin soğuğa ve dona karşı direnci artar (Ay 2015). HA’ler toprağın pH dengesini düzenleyerek toprağın nötr halde kalmasını sağlar. HA’ler topraktaki organik madde miktarını artırır ve toprağın kimyasal özelliklerini iyileştirerek toprağa uygulanan bitki besin maddelerinin bitkiler tarafından alınmasını kolaylaştırır (Senn and Kingman 1973). Ek olarak, HA’ler ağır metallerle birleşerek, ağır metallerin bitkiler tarafından fazla miktarda alınmasını engellemektedir. Böylece, HA’ler bitkilerde kök gelişimini ve köklerin besin elementi alımını olumlu yönde etkilediği rapor edilmiştir (Lobartini *et al.* 1997). Bundan dolayı literatürde yapılan çalışmalar ışığında, HA’lerin bitkilerin büyümesi, gelişmesi, beslenmesi ve fizyolojik özellikleri üzerine dikkate değer ölçüde faydalı olduğu ve araştırılması gerektiği önem arz etmektedir.

Toprakların organik madde kapsamalarının arttırılması için birçok organik kaynak kullanılmakla birlikte, son yıllarda hümik asit toprağın organik madde kapsamının arttırılması ve bitkisel üretimde verimin yükseltilmesi için kullanılan materyallerin başında gelmektedir (Öktem vd. 2017). Çünkü, HA’ler topraklarda meydana gelen azot mineralizasyonu, nitrifikasyon ve respirasyon gibi biyokimyasal olaylar ile çeşitli enzimlerin aktivitelerinin arttırılması, hücre membranı geçirgenliği ve nükleik asit sentezi gibi metabolik olaylarda çok önemli rol aldığı rapor edilmiştir (Xue *et al.* 1994).

Yukarıdaki verilen bilgiler ışığında özet olarak anlaşılmaktadır ki, giderek artan nüfus artışı, teknolojinin gelişmesi, sanayileşmenin artışı ve endüstri kuruluşlarının artışı hem çevresel kirliliğe hem de su ve tarım arazilerinde toprak kirliliğine sebep olmaktadır. Bu kirliliğin temelini ise ağır metaller oluşturmakta ve bunun önüne geçilmesi neredeyse imkansız hale gelmektedir. Bu sebeple, tarım alanlarında yetiştirilen bitkilerin büyüme, gelişme ve fizyolojik özellikleri olumsuz etkilenecek ürün verimi negatif olarak büyük ölçüde etkilenmektedir. Bu durum insan sağlığını doğrudan ve dolaylı olarak negatif yönde etkilemektedir. Bundan dolayı, araştırmacılar insanlar tarafından çokça tüketilen sebzelerde bitkilerin büyüme, gelişme ve bazı fizyolojik özellikleri üzerine ağır metal stresinin etkisini belirlemek için odaklanmışlardır. Ayrıca, bu bitkiler üzerinde ki ağır metal toksisitesini azaltarak veya ortadan kaldırarak bitki büyümesi ve gelişmesini pozitif yönde etkileyecek yöntem ve teknikler üzerine yapılan çalışmalar son zamanlarda hızla artmaya başlamıştır. Bu çalışmalar, genellikle çeşitli büyüme düzenleyicilerinin ve diğer kimyasalların dışsal kullanımı yolu ile bitkilerde ağır metal stresine karşı direnç üretme mekanizmaları üzerine kurgulanmıştır. Bunlara ek olarak, hümitik asit (HA), fülvik asit (FA), salisilik asit (SA) ve absisik asit (ABA) gibi bazı kimyasallarının dışsal uygulamalarının ağır metal stresi altında yetiştirilen bitkilerde bitki gelişimi, büyüme, verim ve bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikler üzerine kurgulanmış çalışmalar gerekli ve önemlidir. Bu sebeple, bu tez çalışması, antik çağlardan beri tohumları, yaprakları, kökleri ve çiçekleri çeşitli hastalıkları tedavi etmek için düzenli olarak kullanılan (Mukhopadhyay *et al.* 2010) ve ağırlıklı olarak ılıman bölgelerde yetişen bir sebze türü olan terenin (*Lepidium sativum* L.), bitki gelişimi ve bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine;

- I. Kadmiyum (Cd) ağır metalinin bir etkisi olup olmadığına, eğer Cd ağır metal stresi terenin gelişimi ile beraber bazı fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerini etkiliyorsa bu etkinin nasıl olduğunu ve artan Cd ağır metal konsantrasyonunun belirtilen özellikleri nasıl değiştirdiğini belirlemek amacıyla,
- II. Kadmiyum (Cd) ağır metal stresinin olduğu ve olmadığı ortamlarda yetiştirilen terede belirtilen özellikler üzerine hümitik asit (HA) uygulamalarının bir etkisi olup olmadığına, eğer HA uygulaması her iki durumda da yetiştirilen terenin gelişimi ile beraber bazı fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerini etkiliyorsa bu etkinin nasıl olduğunu ve artan HA doz uygulamalarının belirtilen özellikleri nasıl değiştirdiğini belirlemek amacıyla,

kontrollü sera koşulları altında gruplandırılmış saksı denemesi şeklinde yapılmıştır.

KURAMSAL TEMELLER

Hızlı nüfus artışının sonuçları olarak ortaya çıkan enerji, ürün ve teknolojik buluş ihtiyaçları beraberinde, endüstri ve sanayileşmenin hızla ilerlemesine sebep olmuştur. Bu durum hem tarım alanlarında hem de çevrede ağır metal kirliliğine neden olmuş ve insanların yaşam alanlarında mevcut olan toksik ağır metal maruziyetinde artışa sebep olmuştur. Endüstri ve sanayileşmenin kirlettiği tarım arazilerinde yetişen bitkisel ve hayvansal gıdaların alımı ile insanoğlunun sağlığı önemli ölçüde etkilenmiş ve giderek tehlikeli hale gelmeye başlamıştır. Bu sebeple bilim insanları hem bu tehlikeyi bildirmek hem de bu tehlikenin önüne geçmek için birçok araştırma yapmışlardır. Bu araştırmalar arasında literatürde; ağır metallerin toksisitesi, mekanizması, biyolojik süreçlere ve insan sağlığı üzerine etkisi (Sağlam ve Cihangir 1995; Çağlarırnak ve Hepçimen 2010; Mudgal *et al.* 2010; Singh and Kalamdhad 2011; Jaishankar *et al.* 2014; Mahurpawar 2015; Sharma and Singh 2015; Özbolat and Tuli 2016; Zahra *et al.* 2017; Baghaie and Fereydoni 2019), hava, toprak ve suda ağır metal kirliliği ve kaynakları (Angelovičová and Fazekášová 2014; Rajeswari and Sailaja 2014; Iheanacho *et al.* 2017; Seven vd. 2018), bitkilerde ağır metal zararları ve korunma mekanizmaları (Ayhan vd. 2006), ağır metallerin bitkiler üzerine etkileri (Okcu vd. 2009; Appenroth 2010; Yılmaz 2015), ağır metallerin tarım uygulamalarındaki yeri ve etkisi (Zincircioğlu 2013; Kayastha 2014; Güleç vd. 2015; Özkan 2017; Meng 2017; Karcık ve Taşan 2018) gibi konularda çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmaların hemen hemen hepsinde bu tez çalışmasının giriş bölümünde bahsedildiği gibi ağır metallerin zararları, ağır metallerin bulaşma yolları, insan sağlığına olumsuz yönde etkisi, bitkilerin büyüme ve gelişmesine etkisi, ağır metallerin insan vücuduna giriş şekilleri ve korunma yolları gibi konularının detaylı bir şekilde incelemesi yer almaktadır. Bu çalışmalardan özet olarak; bitkilerde metal toksisitesi ve toleransının son 30 yılda geniş kapsamlı olarak incelenen bir konu olduğu, bitkilerde incelenen ağır metallerin bazılarının (Pb, Cd, Ag, Hg, As, Sb vb.) tamamen toksik olduğu bazılarının (Fe, Mo, Mn vb.) ise mikro besinler kadar önemli olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, Zn, Ni, Cu, Co, V ve Cr gibi metallerin ise iz elementler olarak yüksek veya düşük öneme sahip toksik metaller olduğu rapor edilmiştir. Dahası, bu çalışmalarda, bitkilerde aşırı miktarda ağır metal varlığında gözlenen toksisite semptomlarının, hücresel seviyedeki bir dizi etkileşime bağlı olabileceği ve toksisitenin, metallerin proteinlerdeki sülfiril gruplarına bağlanmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Bu durumun ise aktivitenin engellenmesine veya yapının bozulmasına neden olabileceği rapor edilmiştir. Bunlara ek olarak, ligand enzim grupları ile metal etkileşiminin, toksisitelerini büyük

ölçüde tanımladığı, enzimlerin inhibisyonu, katalitik olarak aktif grupların maskelenmesi veya protein denatürasyonundan kaynaklanabileceği ve ağır metal fazlalığının serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu uyurabileceği bildirilmiştir.

Tarımsal alanlarda ağır metallerin meydana getirdiği zararın azaltılmasına yönelik yapılan çalışmalarda ise ağır metallerin doğrudan veya dolaylı olarak insana ulaşmasını engelleme veya azaltma amacına odaklanılmıştır. Bu çalışmalardaki temel amaç, ağır metallerin bitkilerin büyüme ve gelişimine verdiği zararı önlenmek ve ağır metal içeren bitkiyi tüketen canlıların vücuduna ağır metal geçişini engellemeye yönelik mekanizmalar geliştirmektir. Bunlara ek olarak, bu tez çalışmasının doğrudan ilişkili olduğu ağır metal (özellikle Cd) ve humik asit (HA) uygulamaları ile ilgili literatürde var olan bazı önemli çalışmalar aşağıdaki gibi özetlenmiştir.

Benavides *et al.* (2005), bitkilerde kadmiyum (Cd) toksisitesi başlıklı derleme çalışmasında, ağır metallerin önemli çevresel kirleticiler olduğunu ve toksisitelerinin öneminin ekolojik, evrimsel, beslenme ve çevresel nedenlerle giderek artan bir sorun olduğunu belirterek bitkilerin, önemli olmayan metal iyonlarına maruz kalmadan kaynaklanabilecek potansiyel hasarı en aza indirmek için hücre içindeki metal iyonlarının konsantrasyonunu düzenlemek için homeostatik hücresel mekanizmalara sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, önemli bir çevre kirleticisi olan Cd ağır metalinin homeostazı, tutulumu, taşınması ve birikim mekanizmaları dahil olmak üzere metal toksisitesi ile ilgili bilgileri değerlendirmişler ve hücre duvarının, plazma zarının ve mikorizaların, hücreye Cd girişine karşı ana engeller ve fitoşelatin bazlı sekestrasyon ve bölümlendirme süreçleriyle ilgili bazı yönlerini de gözden geçirmişlerdir.

Tran and Popova (2013), Cd ağır metalinin bitkilerde büyüme ve bitki gelişimi, fotosentezde ki değişiklikler, stoma regülasyonu, enzimatik aktiviteler, su ilişkisi, mineral alımı, protein metabolizması ve membran fonksiyonu gibi toksik semptomları detaylı bir şekilde derlemişlerdir. Bitkilerde Cd kaynaklı oksidatif stresin araştırmacılar tarafından en çok odaklanıldığı konulardan biri olduğunu belirtmişlerdir.

Ayhan vd. (2006), bitkilerde ağır metal zararları ve korunma mekanizmaları adı altında yaptıkları derlemede, yüksek derişimlerdeki ağır metallere maruz kalan bitkilerde yapısal ve işlevsel değişikliklerin oluştuğunu ve bu değişikliklerin ağır metallerin moleküllere bağlanmasıyla doğrudan ve serbest radikal oluşumunu artırması ile de dolaylı olarak etkilediğini rapor etmişlerdir. Ayrıca, bitkilerin ağır metal zararından korunma mekanizmalarının sakınma, biriktirme ve savunma olmak üzere üç farklı şekilde gerçekleştiği ve toksisite durumunun bitkinin türüne, maruz kalınan ağır metal çeşidine ve derişimine bağlı olarak değişiklik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Jali *et al.* (2016), Cd, Cu, Pb, Cr ve Hg gibi ağır metallerin başlıca çevre kirleticileri olduğunu ve tüm ağır metaller arasında Cd'un, toprak bilimi ve bitki beslenmesi uzmanlarına göre canlılara karşı potansiyel zararlılığı, toksisitesi ve topraktaki göreceli hareketliliği nedeniyle bitkiler için esansiyel olmayan bir metal olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, bitkilerde büyüme geriliği, fotosentetik aktivitenin değişmesi, stoma hareketindeki değişim, enzimatik aktiviteler, protein metabolizması, zarın işleyişi gibi olaylara Cd'un yan etkileri ve toksik semptomları detaylı bir şekilde rapor edilmiştir.

Akounianakis *et al.* (2008), sera koşullarında saksılarda yaptıkları bir çalışmada, hindiba (*Cichorium endivia*, L.) ve rokanın (*Eruca sativa*, Mill.) yenilebilir bitki kısımlarında Cd konsantrasyonu ve Cd'un bitki verimi üzerindeki etkileri belirlemek amacıyla, bitki yetiştirme ortamlarına sırasıyla 0, 5, 10 ve 20 mg/kg oranlarında Cd karıştırarak bitkilerin büyümesini sağlamışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, hindiba ve roka bitkilerinin taze ve kuru ağırlıklarının Cd uygulamasından etkilenmediğini ve toksisite belirtileri gözlenmediğini belirtmişlerdir. Ayrıca, yenilebilir bitki bölümlerinde artan Cd uygulaması ile Cd konsantrasyonundaki artış, kuadratik ve lineer regresyon ile karakterize edilmiş ve elde edilen sonuçlara göre hem hindiba hem de roka bitkilerinin Cd biriktirdiği belirlenmiştir.

Loi *et al.* (2017), Cd ağır metalinin marulun bitki gelişimi ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkisini incelemişler ve Cd'un marul gelişimine toksik etkisi olduğunu göstermişlerdir. Çalışmada, Cd'un marulda bitki boyunu % 29,7-77,5, yaprak sayısını % 16,4-61,3 ve yaprak yüzey alanını % 34,5-99 aralığında azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca, toprakta 5-100 mg/kg konsantrasyonlarında Cd bulunmasının, bitkilerde klorofil içeriğinin % 15,6-38,1 oranında azalmasına neden olduğunu rapor etmişlerdir. 10-100 mg/kg Cd konsantrasyonunda klorofil b içeriğinin ve 20-50 mg/kg konsantrasyonlarında ise karotenoidlerin % 40 oranında azaldığını saptamışlardır. Ek olarak, topraktaki 5-100 mg/kg Cd konsantrasyonları ile serbest prolin içeriğinde % 20-26 oranında azalma olduğu ve kontrol grubu ile karşılaştırılma neticesinde 2 mg/kg Cd konsantrasyonunda, % 66,2 prolin içeriği ve % 59,9 malondialdehit içeriği artışına neden olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, verim bakımından, çalışılan tüm konsantrasyonlarda % 49,6-99,6 oranında azalma görülmüş ve bitkilerde metal birikim düzeyi, marul için izin verilen kadmiyum seviyesinden (0.03 mg/kg) daha yüksek çıktığı rapor edilmiştir.

Pavel *et al.* (2013), ağır metallerden Cr ve Cd'un 30, 60, 90, 120, 150 ve 300 mg/L konsantrasyonlarının tohum çimlenmesi ve büyümesi üzerindeki fitotoksik etkilerini incelemişler ve metal iyonlarının tohum çimlenme süreci üzerinde inhibe edici etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, kök gelişiminin hem test edilmiş metal iyonundan

hem de konsantrasyonundan etkilendiği ve ağır metal konsantrasyonlarının artışıyla birlikte incelenen parametreler üzerine olumsuz etkinin arttığını tespit etmişlerdir.

Pirdosti *et al.* (2018), yaptıkları bir çalışmada, 0, 6, 9 mg/L Cd uygulamalarının tere de bitki gelişimini ve yaprakta birikim oranını incelemişler ve en yüksek bitki yüksekliğinin (32,67 cm), yaprak sayısının (30,83), kök uzunluğunun (14,5 cm), kuru kök ağırlıklarının (0,34 g), sürgünlerinin (1,52 g) ve taze kök ağırlıklarının (2,27 g) kontrolde ve 6 mg/L kadmiyum klorit uygulamasında olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, Cd konsantrasyonu arttıkça kök ve yapraklarda birikim oranının arttığını rapor etmişlerdir.

Saleh (2001), yürüttüğü bir çalışmada turp (*Raphanus sativus*) ve roka (*Eruca sativa*) fidelerini, toprak içeren kaplarda büyütmüş ve 50, 100 ve 200 ppm Cd ve Pb konsantrasyonları içeren çözeltilerle 4 hafta boyunca her 3 günde bir sulamıştır. Artan Cd ve Pb konsantrasyonlarının hem turp hem de rokada taze ve kuru ağırlıkları önemli ölçüde arttırdığı ve bitki boyunu önemli ölçüde azalttığını belirlemiştir. Toplam klorofil içeriğinin çalışılan her iki bitkide de artan Cd ve Pb konsantrasyonlarıyla arttığını rapor etmiştir. Tüm konsantrasyonlarda Cd ve Pb ile muamelenin peroksidaz ve askorbik asit oksidaz aktivitelerini önemli ölçüde arttırdığını belirlemiştir. Ayrıca, iki ağır metal konsantrasyonunun arttırılmasının, yeni protein bantlarının ortaya çıkmasına neden olduğunu ve besin çözeltilesindeki Cd ve Pb konsantrasyonlarının arttırılmasının ise bu iki ağır metalin turp ve rokada alımını ve birikmesini önemli ölçüde arttırdığını tespit etmiştir. Çalışılan iki bitkide Fe birikiminin, Cd ve Pb konsantrasyonlarının artışıyla önemli ölçüde azaldığını belirlemiş ve elde edilen sonuçlardan turp ve rokanın toksik metalleri tolere etme ve biriktirme kabiliyetlerine sahip olduğunu belirlemiştir. Sonuç olarak, turp ve rokanın kirli topraklar için metal süpürücü olarak kullanılmasını önermiştir.

Pereira *et al.* (2011), yürüttükleri bir çalışmada, 0; 1,3; 3 ve 6 mg/kg Cd uygulamalarının marulda bitki gelişimi ve verimini olumsuz etkilediğini ve marulun yenilebilir kısımlardaki Cd konsantrasyonun kabul edilebilir sınırı aştığını rapor etmişlerdir.

Çıkılı *et al.* (2016), doğal ışık altında sera koşullarında yetiştirilen dört farklı Solanaceae familyası bitkisinde (domates, *Solanum lycopersicum* L.; biber, *Capsicum annuum* L.; patlıcan, *Solanum melongena* L. ve altınçilek, *Physalis peruviana* L.) kadmiyum toksisitesinin etkisi ve bitki gelişimi, Cd'un biyoakümülyasyonu, Cd'un translokasyonu ile metal besin iyonlarının (potasyum (K), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), sodyum (Na), demir (Fe), mangan (Mn), bakır (Cu) ve çinko (Zn)) akümülyasyonunu araştırmışlardır. Bu amaç doğrultusunda, deneme toprağına beş farklı konsantrasyonda Cd (0; 2,5; 5; 10 ve 20 mg/kg) uygulamışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, domates hariç, diğer bitkilerin gövde ve kök kuru biyokütlelerinin artan

Cd düzeylerine bağı olarak azaldığını, gövde kuru biyokütlesindeki yüzde azalma temel alındığında domatesin Cd'a toleranslı olduğunu ve diğer bitkilerin ise Cd'a duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, altınçilek bitkisinde gövde Cd içeriği ve kök Cd alımı hariç, bitkilerde gövde ve kökün Cd içerikleri, Cd alımları ve toplam akümülyasyon oranlarının artan Cd konsantrasyonuna bağı olarak arttığını saptamışlardır. Ek olarak, Cd translokasyonuna göre bitkiler küçükten büyüğe altınçilek<biber<patlıcan<domates şeklinde sıralanmıştır. Ayrıca, altınçileğin gövdesindeki tüm metal iyonlarının akümülyasyonunun artan Cd uygulamalarıyla arttığı ve biber ve patlıcanda ise Zn ve Cu hariç iki değerlikli metal besin iyonlarının akümülyasyonu artarken tek değerlikli metal besin iyonu olarak K akümülyasyonunun sadece biberde azaldığı rapor edilmiştir.

Munzuroglu and Geçkıl (2002), buğday (*Triticum aestivum* L.) ve hıyar (*Cucumis sativus* L.) bitkilerinin fide döneminde Hg, Cd, Co, Cu, Pb ve Zn ağır metallerinin etkisini incelemişlerdir. Belirtilen bitkilere bu ağır metallerin farklı konsantrasyonlarını uygulayarak stres altında yetişen bitkilerde kök uzunluklarını incelemişlerdir. Elde edilen bulgular neticesinde, her iki bitkide de Cd ağır metalinin Pb ağır metaline göre kök uzunluklarında daha fazla azalmaya sebep olduğunu belirlemişlerdir.

Poschenrieder *et al.* (1989), yaptıkları bir çalışmada, ağır metallerin bitkilerin kök, gövde ve yaprak büyüme oranlarına negatif yönde etki gösterdiklerini kanıtlamak için fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisine 3 µM konsantrasyona sahip Cd ağır metalini 48 saat süreyle uygulamışlardır. Elde edilen bulgular sonucunda, stres altında yetişen fasulye bitkisinin yaprak hücrelerinde genişlemenin negatif yönde etkilendiğini ve hücre duvarı elastikliğinin azaldığını rapor etmişlerdir.

Özkay vd. (2016), Cu, Pb ve Cd stresi altında yetiştirilen marulda hümit asit (HA) uygulamalarının etkisini incelemişlerdir. Araştırmada, ağır metal uygulamalarının marulda toksik etki yaptığını ve lipit peroksidasyonuna yol açtığını belirlemişlerdir. Ayrıca, ağır metal uygulamalarının antioksidan enzim aktivitesini artırdığı ve HA uygulamalarının marulda ağır metal stresinin oluşturduğu olumsuz etkiyi azalttığını rapor etmişlerdir.

Sözüdoğru vd. (1996), 0, 30, 60, 90 ve 120 ppm konsantrasyonlarındaki HA uygulandığı besin çözeltilisinde yetiştirilen fasulye bitkisinin büyümesi, gelişimi, besin maddelerinin alımı ve diğer bazı fizyolojik özelliklerin incelenmesi üzerine yaptıkları araştırmada, HA uygulamalarının fasulye bitkisinin kuru ağırlıkları üzerine önemli bir etkisinin olmadığını ve kontrole göre HA uygulamalarının fasulye bitkisinde yaprakların N, P, Fe, Mn ve Zn kapsamlarını arttırdığı rapor edilmiştir.

Fagberno and Agbolla (1993), teak ağacı (*Tectona grandis* L.) fidesinin gelişimi, büyümesi ve besin elementlerinin alımı üzerine HA uygulamalarının etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki HA altında yetiştirilen fidelerin bitki kuru ağırlıkları, besin elementi içerikleri, besin elementlerinin alımları ve tohumların çimlenmesi durumları incelenmiştir. Sonuç olarak, artan HA konsantrasyon uygulamalarının belirtilen parametrelere olumlu yönde etki gösterdiği rapor edilmiştir.

Farouk *et al.* (2011), turp bitkisinin bazı fizyolojik özellikleri üzerine Cd ağır metalinin zararlı etkileri ve bu etkilere hümkik asit ve kitosan uygulamaların rolü üzerine yaptıkları bir çalışmada, 100 ve 150 mg/kg Cd'un turpta yaprak sayısının yanı sıra sürgün ve kök taze ve kuru ağırlıklarını da önemli ölçüde azalttığını belirlemişlerdir. Ayrıca, klorofil, toplam şekerler, azot, fosfor, potasyum, bağıl su içeriği ve çözünür proteinlerin yanı sıra toplam amino asit içeriklerinin de azaldığını gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte, toprak ilavesi olarak 100 ya da 200 mg/kg konsantrasyonunda kitosan ya da hümkik asidin uygulanmasının yukarıda belirtilen bütün parametreleri arttırdığını ve bitki dokularında kadmiyum konsantrasyonlarını azalttığını rapor etmişlerdir. Sonuç olarak, 200 mg/kg konsantrasyonundaki kitosanın, kadmiyum stresinin turp bitkisi gelişimi üzerindeki zararlı etkilerini önlemede her iki konsantrasyonda da hümkik asitten daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Sergieiev *et al.* (2012), Cu ve Cd stresi altında yetiştirilen tritikale de HA uygulamalarının biyometrik parametreler, bazı stres belirteçleri ve yaprak ve köklerinde enzimatik aktiviteler üzerine etkilerini incelemişlerdir. Uygulanan ağır metallerin, stres markeri prolin ve malondialdehit içeriğini ve guaiacol peroksidaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon-S-transferaz aktivitelerini arttırdığını belirlemişlerdir. Bununla birlikte, HA uygulamalarının bu etkileri tersine çevirdiğini gözlemlemişlerdir. Elde edilen bulgular neticesinde, katalaz aktivitesinin HA uygulamalarından önemli ölçüde etkilenmediğini rapor etmişlerdir. Sonuç olarak, serbest tiyol içeren bileşiklerin sadece Cd uygulanmış bitkilerin köklerinde arttığını ve HA uygulamalarının ağır metal toksisitesine karşı koruyucu etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Chaab *et al.* (2015), Cr ve Cd stresi altında yetiştirilen mısırdaki bazı fizyolojik özellikler üzerine HA uygulamalarının etkisini incelemişlerdir. Elde edilen bulgular neticesinde, Cr ve Cd stresi altında yetiştirilen mısırdaki kuru ağırlığın ve toplam klorofil içeriğinin azaldığını belirlemişler ve HA uygulamasının ağır metallerin meydana getirdiği olumsuz etkileri azalttığını saptamışlardır. Ayrıca, SOD aktivitesinin HA uygulamasıyla arttığını ve çözünür proteinin ise azaldığını gözlemlemişlerdir. Ek olarak, CAT aktivitesinin, HA uygulamasıyla Cr ve Cd'un düşük konsantrasyonlarında arttığını ve bu ağır metallerin yüksek konsantrasyonlarında ise azaldığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, bitkilerde ağır metallerin

oksidatif stresinden dolayı oksijen türlerinin birikmesinin HA uygulamalarında farklı tepkilere neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Qian *et al.* (2010), Cd ve Cu ağır metal stresi altında yetiştirilen saz (*Vallisneria spiralis* L.) bitkisinin bu ağır metalleri alımı üzerine HA uygulamalarının etkisini araştırmışlardır. Elde edilen bulgular neticesinde, saz bitkisinin topraktaki Cd ve Cu alımında önemli ölçüde ağır metallerin uzaklaşabildiğini ve HA uygulamalarının ağır metal alımını azaltmada etkin olduğunu rapor etmişlerdir.

Sushera *et al.* (2007), Cd stresi altında yetiştirilen ladin (*Ceratophyllum demersum* L.) bitkisinde Cd birikimine Zn ve H uygulamalarının etkisini araştırmışlar ve elde edilen sonuçlara göre bitki yetiştirme ortamında Zn ve HA konsantrasyonlarının artışının Cd alımını sınırlandırdığını tespit etmişlerdir. Benzer bir çalışma olarak, Chen and Zhu (2006), çorak topraklarda bitki biyokütlesi ve ağır metal alımı üzerine H ve karbon (C) dışsal uygulamalarının etkisini araştırmışlar ve HA ve C kaynaklarının hem bitki biyokütlesini artırdığını hem de toprakta bulunan kurşun ve kadmiyum ağır metallerini bağlayarak bitki tarafından alımını azalttığını rapor etmişlerdir. Ek olarak, Boruvka and Drabek (2004), toprak organik maddesinin Cd ve Pb ağır metallerini bünyelerinde sabitleyebilme yeteneklerine yönelik yürüttükleri çalışmada, fulvik ve hümik asitlerin topraktaki ağır metalleri bağlayarak (kompleksler oluşturarak) bitkilerce alımını engellediğini rapor etmişlerdir.

Haghighi *et al.* (2010), marul (*Lactuca sativa* L.) bitkisinde Cd ağır metalinin HA'e bağlanması ile toksisitesinin azalmasını araştırmışlardır. Bu çalışmada, Cd-HA kompleksinin, enzim aktiviteleri (süperoksit dismutazlar, peroksidazlar), Cd mevcudiyeti ve biyokütle üzerindeki etkisi kontrole göre değerlendirilerek marulda hidroponik bir sistemle incelenmiştir. Bu incelemede üç grup oluşturulmuştur. Bu gruplardan ilki kontrol grubu, ikincisi Cd ağır metalini uygulanan grup (0, 2 ve 4 mg/L konsantrasyonlarda) ve üçüncü grup ise HA uygulanan (0, 100 ve 1000 mg/L) bitki grubudur. Elde edilen bulgular neticesinde, enzim aktivitelerinin artan Cd oranları ile önemli ölçüde arttığı, yaprakların Cd içeriğinde belirgin bir artış ($P<0.05$) olduğu ve bu artışın biyokütlenin önemli ölçüde azalmasına neden olduğu ($P<0.05$) rapor edilmiştir. Ayrıca, bitkinin büyüdüğü ortama uygulanan HA'in bitki tarafından metal adsorpsiyonunu azalttığı sonucuna varılacağını ve HA'in topraklardaki ağır metallerin kullanılabilirliğini ve hareketliliğini azaltmak için de kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Haghighi *et al.* (2013), HA bitki dokularındaki Cd konsantrasyonunu azaltabilen bir bitki büyüme uyarıcı bileşiği olduğunu belirterek büyüme ortamına HA eklenmesinin marul yapraklarında Cd konsantrasyonu üzerinde nasıl bir etki oluşturacağını belirlemeyi amaçlamışlardır. Topraksız bir deneyde, marul fideleri (*Lactuca sativa* L.) üç doz Cd (0, 2 ve

4 mg/L kadmiyum klorür (CdCl_2) ve üç doz HA (0, 100 ve 1000 mg/L) uygulamalarına maruz bırakılmış ve elde edilen sonuçlara göre, HA uygulamasının marul yapraklarında fotosentetik oran ve klorofil, prolin ve fosfor (P) konsantrasyonları üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını ve taze marul ağırlığını önemli ölçüde arttırdığını rapor etmişlerdir. Buna karşılık, artan Cd konsantrasyonunun fotosentetik hızda azalmaya, taze ağırlık azalmasına ve yaprak klorofil konsantrasyonunu azalmasına sebep olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, büyüme ortamına HA ilavesiyle yaprak Cd konsantrasyonunda önemli bir azalmanın olduğunu ve HA uygulamasının, bitki büyümesini iyileştirmek ve yenilebilir marul kısımlarında Cd birikimini azaltmak için kullanılabileceği rapor edilmiştir.

Chaab *et al.* (2015), farklı dozlarda toprağa uygulanan Cr (0, 100 ve 200 ppm) ve Cd (0, 50 ve 100 ppm) mısırdaki sürgün kuru ağırlığı, klorofil içeriği, çözünür protein içeriği ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivitesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Elde edilen bulgular neticesinde, Cr ve Cd doz miktarlarının artırılmasının filiz kuru ağırlığını ve toplam klorofil içeriğini azalttığını, organik maddenin özellikle HA uygulamasının ağır metallerin olumsuz etkilerini azalttığını, CAT ve SOD parametrelerinin Cd ve Cr ağır metallerine duyarlı olduğunu, bitkilerdeki ağır metallerin oksidatif stresine bağlı olarak oksijen türlerinin kümelenmesinin davranışlarda farklı tepkilere neden olduğunu, mısırın Cr ve Cd ağır metallerine maruz kalmasının sürgün kuru ağırlığını ve pigment içeriğini azalttığını, toplam çözünür protein içeriğinin ağır metal türü ve konsantrasyonuna bağlı olmaksızın azaldığını, SOD aktivitesinin artan Cr ve Cd konsantrasyonları ile arttığını ve CAT aktivitesinin artan Cr ve Cd konsantrasyonları ile azaldığını rapor etmişlerdir.

Chaab *et al.* (2016), kirlenmiş toprak ve bitkilerde Cd ve Cr ağır metallerinin hareketliliği ve konsantrasyonları üzerine organik gübre ve hümitik asidin etkilerini araştırmışlardır. Araştırma sürecinde yapılan deney üç aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu aşamalar toprak Cd ve Cr ve organik madde (organik gübre ve hümitik asit) kompozisyonlarından oluşturulmuştur. Elde edilen bulgular neticesinde, organik maddelerin uygulanmasının toprak sütununda Cd ve Cr hareketini arttırdığı, hümitik asitin topraktaki Cd ve Cr hareketliliği üzerinde organik gübreden daha etkili olduğu, toprak kolonunun alt derinliklerinde Cd ve Cr hareketliliğinin arttığı, organik madde uygulamasının ve topraktaki ağır metal konsantrasyonlarının artışının sürgün ve köklerdeki Cd ve Cr konsantrasyonunu artırdığı rapor edilmiştir. Ayrıca, mısır bitkisinde sürgünlerdeki Cd artışının bu elementin yüksek hareketliliğinden kaynaklandığı, Cr konsantrasyon oranının mısır bitkisinin kökünde sürgününden daha fazla olduğu, mısır bitkisinin kök ve sürgünlerinde biriken Cd ve Cr konsantrasyonlarına bakıldığında hümitik asitin organik gübreden daha etkin olduğu rapor

edilmiştir. Sonuç olarak, bitkilerde Cr'un düşük hareketliliği ve köklerde Cr birikme sebebinin bitki filizinde Cr konsantrasyonunun azalmasından ve biyoakümülyasyondan kaynaklanabileceği belirtilmiştir.

Öztürk (2011), farklı dozlarda HA ve Cd uygulamalarının hıyar (*Cucumis sativus* L.) bitkisinde Cd birikimine ve fide gelişimine etkilerini araştırmıştır. Araştırmada, HA'in üç (0, 1000 ve 2000 ppm) ve Cd'un beş (0; 0,5; 2; 8 ve 32 ppm) farklı dozları kullanılarak hıyar fideleri kontrollü koşullarda yetiştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, artan Cd konsantrasyonlarının sürgün ve köklerde Cd birikimini ($P<0,01$) arttırdığı ve fide gelişim kriterlerini olumsuz yönde etkilediği, HA'in ise sürgün yaş ağırlığını ($P<0,05$) ve kök yaş ağırlığını ($P<0,01$) artırdığını bildirmiştir.

Öktem vd. (2017), sıvı olarak toprağa uygulanan farklı dozlardaki HA seviyelerinin kırmızı mercimek (*Lens culinaris Medic.*) bitkisinde verim ve bazı verim unsurlarına etkisini belirlemek amacıyla dört tekrarlamalı denemeyi tesadüf parsel deneme desenine göre yürütmüşlerdir. Farklı HA doz düzeylerini (kontrol, 2 L/da, 4 L/da, 6 L/da ve 8 L/da) toprağa uygulayarak tane verimi, bitki boyu, ilk bakla yüksekliği, bin tane ağırlığı, hasat indeksi ve bakla sayısı değerlerini ölçmüşlerdir. Sonuç olarak, en düşük tane verimi değerini kontrol parseli verirken en yüksek tane verimi değerini ise 8 L/da HA uygulamasından elde ettiklerini ve bitki boyu, bakla yüksekliği, bakla sayısı bakımından en düşük değerleri de kontrol parselinden elde ettiklerini rapor etmişlerdir.

Alak ve Müftüoğlu (2014), topraktaki organik madde kaynaklarından biri olan hümit asidin (HA) artan doz uygulamalarının alınabilir potasyum üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Naylon örtülü ısıtmasız seradaki saksılarda yetiştirilen mısır bitkisine 6 farklı dozda (0, 2, 4, 6, 8 ve 10 L/da) HA uygulayarak yetiştirilen bitkilerde yaprak sayısı, bitki boyu, gövde çevresi, kök kuru ve yaş ağırlığı, gövde kuru ve yaş ağırlığı, toprakta alınabilir potasyum miktarı, bitki kök ve gövdesindeki toplam potasyum parametrelerini araştırmışlardır. Sonuç olarak, bitki tarafından alınan potasyum miktarının artan HA doz uygulamasıyla rakamsal olarak bir artış göstermekte olduğunu, fakat bu artışın istatistiksel olarak bir önem taşımadığını rapor etmişlerdir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitkisel Üretim Uygulama ve Araştırma Merkezi uygulama seralarında yürütülmüştür. Araştırma, farklı dozlarda uygulanan kadmiyum (Cd) stresi altında yetişen tere (*Lepidium sativum* cv Helen) bitkisinin büyümesi ile bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine hümkik asit uygulamasının etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Bitkisel Materyal ve Sera Koşulları

Denemede bitkisel materyal olarak antik çağlardan beri tohumları, yaprakları, kökleri ve çiçekleri çeşitli hastalıkları tedavi etmek için düzenli olarak kullanılan (Mukhopadhyay *et al.* 2010) ve ağırlıklı olarak ılıman bölgelerde yetişen bir sebze türü olan tere (*Lepidium sativum* cv Helen) tohumları kullanılmıştır. Tere bitkileri polietilen saksılar içerisinde sıcaklık ve nem kontrollü serada yetiştirilmiştir. Yetiştirme sürecinde ortalama gece sıcaklığı $17(\pm 2)^{\circ}\text{C}$, ortalama gün sıcaklığı $22(\pm 2)^{\circ}\text{C}$ ve ortalama hava nemi 24 ± 5 olarak belirlenmiştir.

Yöntem

Denemenin kurulması

Bu tez çalışmasında kurulan deneme, dört tekrarlamalı olarak tesadüf parsel deneme desenine göre kurulmuştur. 1 litre hacmindeki 144 adet saksı, 1:1 (v:v) oranında bahçe toprağı:kum karıştırılarak hazırlanmış ortamla doldurulmuştur. Saksı analizlerinin yapılabilmesi için toprak önce 4 mm'lik bir elekten ve daha sonra 2 mm'lik elekten geçecek şekilde sera içerisinde kurutulmuş ve eleme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Ortam hazırlanırken, 144 adet saksı hem kadmiyum (Cd) uygulamasının hem de hümkik asit (HA) uygulamasının etkisini analiz edebilmek için her bir grup 36'şar saksı içermek kaydıyla 4 farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grup kontrol grubu olarak seçilmiş olup yapısında Cd ağır metali bulundurmamaktadır (0 mg/kg Cd). Cd ağır metal stresini inceleyebilmek için, ikinci, üçüncü ve dördüncü gruplara sırasıyla 100, 200 ve 250 mg/kg'lık konsantrasyonları olacak şekilde kadmiyum ağır metal bileşiğı ($\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) ortama katılarak homojen karışım sağlanmıştır. Bu işlem sonrasında ortamlar sulandıktan sonra serada gruplar halinde 3 haftalık inkübasyona bırakılmıştır. Ortama ait bazı fiziksel ve kimyasal özellikler Tablo 5'te verilmiş olup ortamın

hazırlanmasından inkübasyon aşamasına kadar yapılan işlemlere ait fotoğraflar örnek teşkil etmesi açısından Şekil 6’da sunulmuştur.

Tablo 5. Çalışmada kullanılan ortama ait bazı fiziksel ve kimyasal özellikler

Özellik	Birim	Miktar
Kum	%	33
Silt	%	34
Kil	%	33
Organik madde	%	1,2
pH	---	5,61
Kasyon değişim kapasitesi	cmol(+)/kg	15,5
Elektriksel iletkenlik	dS/m	1,15
Toplam azot (N)	%	1,15
Fosfor (P)	mg/kg	15,5
Çinko (Zn)	mg/kg	2,3
Bakır (Cu)	mg/kg	1,1
Demir (Fe)	mg/kg	0,5
Mangan (Mn)	mg/kg	1,8
Kadmiyum (Cd)	mg/kg	0,05
Potasyum (K)	cmol(+)/kg	2,2
Kalsiyum (Ca)	cmol(+)/kg	11,0
Magnezyum	cmol(+)/kg	2,25
Tekstür Sınıfı	---	Tınlı



Şekil 6. Ortamın hazırlanmasından inkübasyon aşamasına kadar yapılan işlem aşamalarını gösteren fotoğraflar; (a) toprak:kum (1:1 v:v) oranının hazırlanması, (b) Cd ağır metalinin ortama uygulanması, (c) Cd ağır metali uygulanmış ortamın homojen karışımının sağlanması, (d) Hazırlanan ortamın saksılanması, (e) Ortamın sulanması ve (f) Ortamın serada gruplar halinde inkübasyona bırakılması

Ortama hümik asit uygulanması ve tohum ekimi

Üç haftalık inkübasyon sonrası ortama, hümik asit çözeltisi hazırlanarak uygulama işleminden önce, bir önceki başlıkta izah edilen 4 farklı grup kendi içlerinde de her bir grup 9 adet saksıdan oluşacak şekilde 4 farklı alt gruba ayrılmıştır. Denemenin tüm gruplarını gösteren tablo Tablo 6’da verilmiştir. Bu tablodan da anlaşılabileceği gibi ana gruplar Cd konsantrasyonuna göre oluşurken alt gruplar uygulanan hümik asit derişimine göre oluşmuştur. Kendi içlerinde 4 farklı alt gruba ayrılan ortamlara sırasıyla 0, 10, 15 ve 20 ml/L konsantrasyonlarındaki hümik asit çözeltisi tohum ekimden bir gün önce başlayarak birer hafta aralıklarla toplam dört (4) kez uygulanmıştır. Hümik asit (HA), Almanya’da bulunan Humintech GmbH firmasından tedarik edilmiş olup yapısında %80-85 potasyum hümat (K_2O kuru madde %10-12), %6 fülvik asit, organik nitrojen ve %2 oranında partikül boyutu 100 μm ’den küçük çözölemeyen bileşenler bulunmaktadır. Hümik asit uygulamasının etkisini izah edebilmek için bu alt gruplar arasından 0 ml/L derişime sahip ortamlar herbir alt grubun kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, ortama bazal gübre olarak 150:100:150 kg/ha NPK karıştırılmıştır. Hümik asit çözeltisinin hazırlanması ve deneme alanındaki ortamlara uygulanması aşamalarını gösteren fotoğraflar Şekil 7’de sunulmuştur.

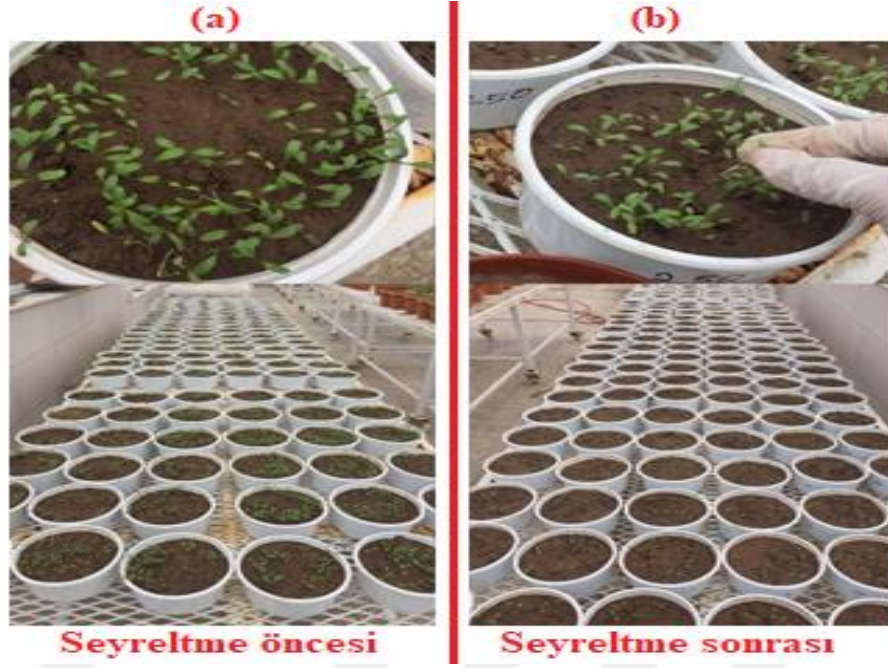
Tablo 6. Çalışmada oluşturulan deneme grupları

Denemenin tamamı	Ana gruplar	Alt gruplar	Cd (mg/kg)	Hümik asit (ml/L)
144 adet saksı	1. grup (36 adet saksı)	1. alt grup (9 adet saksı)	0	0
		2. alt grup (9 adet saksı)	0	10
		3. alt grup (9 adet saksı)	0	15
		4. alt grup (9 adet saksı)	0	20
	2. grup (36 adet saksı)	1. alt grup (9 adet saksı)	100	0
		2. alt grup (9 adet saksı)	100	10
		3. alt grup (9 adet saksı)	100	15
		4. alt grup (9 adet saksı)	100	20
	3. grup (36 adet saksı)	1. alt grup (9 adet saksı)	200	0
		2. alt grup (9 adet saksı)	200	10
		3. alt grup (9 adet saksı)	200	15
		4. alt grup (9 adet saksı)	200	20
	4. grup (36 adet saksı)	1. alt grup (9 adet saksı)	250	0
		2. alt grup (9 adet saksı)	250	10
		3. alt grup (9 adet saksı)	250	15
		4. alt grup (9 adet saksı)	250	20

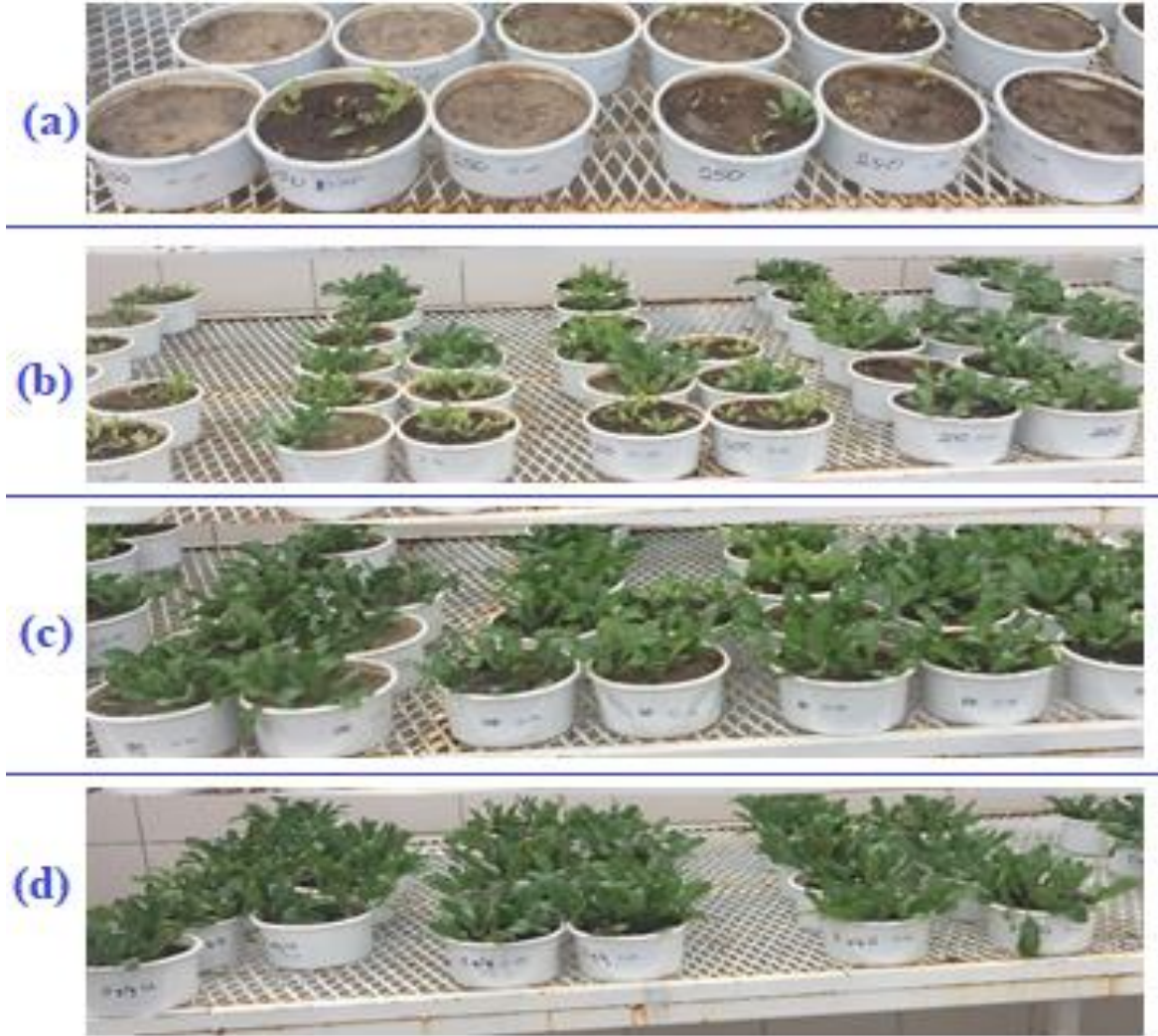


Şekil 7. Hümik asit çözeltisinin hazırlanması ve deneme alanındaki ortamlara uygulanması aşamalarını gösteren fotoğraflar

Hümik asit uygulamasından 1 gün sonra, tere (*Lepidium sativum* cv Helen) tohumları her bir saksıya yaklaşık 25 adet tohum gelecek şekilde 1-1,5 cm derinliğinde ekilmiştir. Ortalama 2 günde çimlenen tere tohumlarının, fide çıkışından 1 hafta sonra her saksıda 10 adet tere bitkisi kalacak şekilde ilk seyreltme işlemi gerçekleştirilmiştir. Seyreltme işleminin ardından ikinci kez hümik asit uygulaması gerçekleştirilmiş ve takip eden haftada 3. kez hümik asit uygulaması gerçekleştirilmiştir. 4. haftada, iyice gelişen tere fidelerimizin her saksıda 4 adet kalacak şekilde ikinci seyreltme işlemi gerçekleştirilmiş (seyreltme öncesi ve sonrasını gösteren fotoğraflar Şekil 8’de verilmiştir) ve ardından 4. kez hümik asit uygulaması yapılarak tüm işlemler tamamlanmıştır. 10 gün sonra hasat işlemine geçilmiştir. Yani, saksı çalışması tohum ekiminden itibaren 50. günde tamamlanarak deneme sonucunda bitkiler hem saksılarda iken hem de saksılardan alındıktan sonra aşağıda belirtilen gözlem, ölçüm, tartım ve analizler yapılmıştır. Denemenin hasat öncesi son durumunu gösteren fotoğraflar Şekil 9’da verilmiştir.



Şekil 8. Hümik asit çözeltisinin hazırlanması ve deneme alanındaki ortamlara uygulanması aşamalarını gösteren fotoğraflar; (a) Seyreltme öncesi ve (b) Seyreltme sonrası



Şekil 9. Hasat öncesi denemenin son halini gösteren fotoğraflar; (a) 250 mg/kg Cd uygulaması, (b) 200 mg/kg Cd uygulaması, (c) 100 mg/kg Cd uygulaması ve (d) 0 mg/kg Cd uygulaması

Ölçüm, Tartım ve Analizler

Kök uzunluğu (cm/bitki)

Kök uzunluğu, tüm bitkilerde kök boğazından kök ucuna kadar olan kısımdır. Bu tez çalışmasında, hasat sonrası tüm gruplara ait tere bitkisinin kök uzunlukları metre kullanılarak $\text{cm} (\pm 0.1 \text{ cm hata payı ile})$ biriminde belirlenmiştir (Şekil 10).



Şekil 10. Kök uzunluğunun ölçülmesini gösteren fotoğraf

Yaprak sayısı (adet/bitki)

Deneme sonunda tüm gruplara ait saksılardaki tereler için alt gruplara ayrılmış her bir bitkideki yapraklar sayılarak “yaprak adedi/bitki sayısı” her bir uygulama için belirlenmiştir.

Kök boğazı çapı (mm/bitki)

Herbir grup ve altgruba ayrılmış tere fideleri için kök boğazı çapı dijital kumpas kullanılarak $\text{mm} (\pm 0.01 \text{ mm hata payı ile})$ birimi cinsinden ölçülmüştür (Şekil 11).



Şekil 11. Kök boğazı çapının ölçülmesini gösteren fotoğraf

Yaprak alanı (cm²/bitki)

Deneme sonunda, her bir uygulamadaki tere bitkilerinin yaprak alanları yaprak alan ölçer (CID-202 Portable Laser Leaf Area Meter by CID Bio-Science, Inc. 1554 NE 3rd Avenue Camas, WA, USA) kullanılarak cm² alan biriminde ölçülmüştür (Şekil 12).



Şekil 12. Bitki yaprak alanlarının belirlenmesi

Yaprak klorofil değeri (SPAD)

İncelenen tere bitkisi yapraklarının klorofil içeriği, taşınabilir bir SPAD-502 klorofilmetre cihazı (SPAD-502, Konica Minolta Sensing, Inc., Japan) ile saptanmıştır. Bu cihazı kalibrasyon işlemine göre SPAD değer skalasında 1 değeri kloratik veya sarı renk anlamına gelirken, 50 değeri ise koyu yeşil renk anlamına gelmektedir (Şekil 13).



Şekil 13. Klorofil miktarının belirlenmesine ait örnek bir fotoğraf

Bitki yeşil aksam ve köklerde yaş ve kuru ağırlıklar (g/bitki)

Hasadı yapılan bitkilerin ilk önce toprak üstü taze ağırlıklar (yaş ağırlık) ve kök taze ağırlıkları (yaş ağırlık) hassas terazide tartılarak gram (± 0.01 g) biriminde ölçülmüştür. Bitkilerin yaş ağırlık tartım işleminden sonra kök ve yapraklar ayrı ayrı olacak şekilde kese kağıdı içerisinde 70°C sıcaklıkta sabit ağırlığa ulaşınca kadar 48 saat süreyle kurutulmaya bırakılmıştır. Etüvden çıkarılan yeşil aksam ve köklerin kuru ağırlıkları ağırlıkları hassas terazide tartılarak gram (± 0.01 g) biriminde kaydedilmiş ve daha sonra havan ve doğrayıcı yardımıyla öğütülmüştür. Yaş ve kuru ağırlıkların tartım işlemleri fotoğraflanarak Şekil 14'te verilmiştir. Ayrıca, alınan taze bitki örnekleri biyokimyasal analizler yapılınca kadar -80°C sıcaklıkta derin dondurucu içerisinde muhafaza edilmiştir.



Şekil 14. Bitkilerin yeşil aksam ve köklerinin yaş ve kuru ağırlıklarının belirlenme aşamalarını gösteren fotoğraflar

Doku elektriksel iletkenliği (EC) (%)

Bitkide meydana gelen stresin yaprak dokusunda ve özellikle hücre zarlarında meydana getirdiği hasarın bir belirtisi de yaşı yaprak dokularında yapılan elektriksel iletkenlik ölçümleridir. Bu amaçla her bir tekrerründen tesadüfi olarak seçilen 2 bitkinin en son gelişmiş eşit büyüklükteki gerçek yapraklar 20 ml saf su içeren cam şişelerin içine konarak çalkalayıcıda 24 saat çalkalanmış ve ardından ıslatma suyunun elektriksel iletkenliği Kaya *et al.* (2003)'de belirtilen metoda göre ölçülmüş ve hücre zarlarının geçirgenliği (zarar görme oranı) belirlenmiştir (EC1). Örnekler otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dakika bekletilerek hücre ve dokuların tamamen parçalanması sağlanmış ve ardından ikinci ölçüm yapılmıştır (EC2). Göreceli elektriksel iletkenlik değeri aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır. Süreç aşamalarının bir kısmı örnek olması açısından fotoğraflanarak Şekil 15'te sunulmuştur.

$$EC (\%) = (EC1/EC2) \times 100$$



Şekil 15. Doku elektriksel iletkenliklerinin belirlenme aşamalarını gösteren fotoğraflar

Yaprak su tutma kapasitesi (LWRC) (%)

Yaprak su tutma kapasitesi (Leaf Water Retention Capacity; LWRC), bitkilerin fizyolojik su kapasitelerini ölçmek için kullanılan faydalı bir parametredir. Çalışmada bu parametreyi belirlemek için, hayatta kalan bitkiler arasından tekrar başına iki bitkinin tamamen genişlemiş genç yapraklarından iki yaprak toplanmıştır. Toplanan yapraklar hemen tartılmış ve böylece taze ağırlıkları (TA) tespit edilmiştir. Tartıldıktan sonra yapraklar içerisinde bir miktar saf su bulunan petri kaplarının içerisinde konularak 5 saat boyunca bekletilmiş ve ardından yaprakların üzerindeki fazla su kurutma kağıdı yardımıyla silinerek tekrar tartılarak turgorlu ağırlıkları (TU) tespit edilmiştir. Daha sonra bu yapraklar, petrilerin içerisinde konularak 72°C'ye ayarlanmış olan etüvde 48 saat boyunca kurutularak yeniden tartılmış ve sonuçta kuru ağırlıkları (KA) belirlenmiştir. Bu işlemlere örnek teşkil etmesi açısından ağırlıkların ölçümü esnasındaki fotoğraf Şekil 16'da verilmiştir. Yaprak su içeriği Kaya *et al.* (2003)'de belirtilen aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$LWRC (\%) = [(TA - KA)/(TU - KA)] \times 100$$



Şekil 16. Yaprak su tutma kapasitesinin belirlenmesini gösteren fotoğraf

Klorofil miktarı (Klorofil-a, Klorofil-b ve Karotenoid) (mg/g)

Biyokimyasal analizler için ayrılan bitki yaprakları -80°C sıcaklıkta bekletildikten sonra 0,3 gram kütleye sahip olacak şekilde tartılmıştır. Yaprakların üzerine sıvı azot dökülüp öğütülmüş ve öğütülen yaprak tozları üzerine 5 ml hacminde %80'lik (v/v) asetonlu çözelti eklendikten sonra 10 ml'lik tüplere konulmuştur. Tüplerin toplam hacimleri 10 ml'ye tamamlanmaya kadar boş kalan kısımları asetonlu çözelti ile tamamlanmıştır. Daha sonra,

hazırlanan tüpler +4°C sıcaklıkta ve 3000 rpm (devir/dk) rotasyonda çalışan cihazda 15 dk süreyle santrifüjlenmiştir. Bu işlem sonrasında, elde edilen süzöntüden 200 µl'lik alınarak spektrofotometrede okunmak üzere plate içerisine konulmuştur. Elde edilen süpernatant absorbansı, spektrofotometrede dalga boyları 450 nm (Karotenoid için dalga boyu), 645 nm (Klorofil-a için dalga boyu) ve 663 nm (Klorofil-b için dalga boyu) değerleri için okunarak pigment konsantrasyonu Joshi *et al.* (2013)'de belirtilen şekilde hesaplanmıştır. Bu sürece ait işlem basamaklarının bazıları örnek teşkil etmesi açısından fotoğraflanarak Şekil 17'de verilmiştir.



Şekil 17. Klorofil analiz sürecine ait fotoğraflar (Orijinal)

Antioksidan enzim aktiviteleri (eu/g yaprak)

Biyokimyasal analizler için ayrılan bitki yapraklarının antioksidan enzim aktiviteleri (katalaz (CAT), peroksidaz (POD) ve süperoksit dismutaz (SOD)), Sahin *et al.* (2018)'de rapor edilen yöntemler esas alınarak aşağıda anlatıldığı gibi belirlenmiştir. Dondurulan taze tere yapraklarından 0,3 g alınarak havan içine konulmuş ve üzerine sıvı azot (-196°C) dökülerek toz haline gelinceye kadar öğütülmüştür. Öğütülen tere yaprakları üzerine %1 PVPP içeren 50 mM fosfat tamponundan (KH₂PO₄, pH:7,0) 5ml ilave edilerek homojenleştirilmiştir ve tüm işlemler +4°C'de gerçekleştirilmiştir. Homojenat 15000 rpm (devir/dk) rotasyonda +4°C'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Bu işlem sonrasında elde edilen süpernatant, antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılmıştır.

Katalaz (CAT) enzim aktivitesi, Abedi and Pakniyat (2010)'ın rapor ettiği metoda göre, hidrojen peroksit (H_2O_2)'in su (H_2O) ve oksijen (O_2)'e dönüşümü esnasında meydana gelen reaksiyon karışımındaki absorbans azalmasının 240 nm dalgaboyunda izlenmesi esasına dayanılarak yapılmıştır. Reaksiyon karışımı, 50 mM fosfat tamponu (KH_2PO_4 , pH:7,0), 10 mM H_2O_2 ve 100 μ L enzim ekstraktının birleşiminden oluşturulmuştur. Spektrofotometrede 240 nm dalga boyundaki absorbans azalışı 3 dk boyunca 1'er dk aralıklarla köre karşı okunmuş ve elde edilen sonuçlarda absorbansın lineer azalış gösterdiği aralıktan "absorbans azalması/dk" değerleri hesaplanmıştır. 25°C'de 1dk süre zarfında 1 μ M absorbans azalması meydana getiren enzim miktarı 1 enzim ünitesi (eu) olarak kabul edilerek sonuçlar "eu/g yaprak" biriminde hesaplanmıştır.

Peroksidaz (POD) enzim aktivitesi, Angelini *et al.* (1990)'ın rapor ettiği metoda göre, guaikol H_2O_2 'in substrat olduğu reaksiyon ürünü olan renkli bileşiğin sebep olduğu absorbans artışının 450 nm dalga boyunda izlenmesi esasına dayanılarak yapılmıştır. Reaksiyon karışımı, 50 mM monosodyum fosfat tamponu (NaH_2PO_4), 10 mM guaikol H_2O_2 substrat çözeltisi ve 50 μ L enzim ekstraktının birleşiminden oluşturulmuştur. Spektrofotometrede 450 nm dalga boyundaki absorbans artışı 5 dk boyunca 1'er dk aralıklarla köre karşı okunmuş ve elde edilen sonuçlarda absorbansın lineer artış gösterdiği aralıktan "absorbans azalması/dk" değerleri hesaplanmıştır. 25°C'de 1dk süre zarfında 0,01 μ M absorbans azalması meydana getiren enzim miktarı 1 enzim ünitesi (eu) olarak kabul edilerek sonuçlar "eu/g yaprak" biriminde hesaplanmıştır.

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi, Abedi and Pakniyat (2010)'ın yöntemine göre, 560 nm dalgaboyunda nitroblue tetrazoliumun (NBT) fotokimyasal indirgenmesindeki inhibisyonun belirlenmesi esasına dayanılarak yapılmıştır. Toplam SOD aktivitesi, p-nitro-blue tetrazolium klorür (NBT)'ün azalmasının önlenmesi spektrofotometrik olarak izlenerek belirlenmiştir. 200 μ L reaksiyon karışımı (50 mM fosfat tamponu (KH_2PO_4 , pH:7,8), 0,1 mM EDTA, 63 μ M NBT, 50 μ M riboflavin ($C_{17}H_{20}N_4O_6$), 13 mM metiyonin ($C_5H_{11}NO_2S$) ve 50 μ L enzim ekstraktını içerir) 40 W'lık güce sahip beyaz ışık yayan bir flüoresans lamba altında 96 oyuklu bir mikroparka kuyularına yerleştirilmiştir. 8 dk'lık aydınlatılmadan sonra reaksiyon sonlandırılmıştır ve absorbans 560 nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur. Aynı işlem aydınlatılmamış bir reaksiyon karışımı için de yapılmış ve sonuç referans değer olarak kullanılmıştır. SOD aktivitesinin bir ünitesi, 560 nm dalga boyunda NBT indirgenmesinin %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı 1 enzim ünitesi (eu) olarak kabul edilerek sonuçlar "eu/g yaprak" biriminde hesaplanmıştır.

Hidrojen peroksit (H₂O₂) analizi (mmol/kg)

Hidrojen peroksit (H₂O₂) analizleri, Velikova *et al.* (2000)'nın rapor ettiği yönteme göre yapılmıştır ve H₂O₂ içerikleri ise H₂O₂'in farklı konsantrasyonları kullanılarak önceden yapılmış standart bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır.

Lipid peroksidasyon (MDA) analizi (nmol/g)

Tiyobarbitürik asit (C₄H₄N₂O₂S)-reaktif maddeler (Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) bir lipid peroksidasyonunun yan ürünü (yani yağların bozunma ürünleri) olarak oluşturulur. Bu nedenle, TBARS değerleri lipidin parçalanmış bir ürünü olan ve lipid peroksidasyonunu belirleyen Malondialdehit (MDA) olarak ölçüldü. Lipid peroksidasyon analizi, Sahin *et al.* (2018)'de rapor edilen işlem basamakları esas alınarak yapılmıştır. MDA konsantrasyonu ise 155 mmol/L.cm'lik bir yok olma katsayısı kullanılarak absorbands eğrisinden belirlenmiştir.

Sakkaroz analizi (%)

Sakkaroz (C₁₂H₂₂O₁₁) konsantrasyonu, kurutulmuş ve öğütülmüş  r nelerde Chopra *et al.* (2000)'de belirtilen metod kullanılarak  l  lm ştir.

Prolin analizi ( g/g)

Prolin (C₅H₉NO₂) konsantrasyonu, Bates *et al.* (1973)'de rapor edilen yöntem kullanılarak 520 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir.

Mineral analizleri

Tere yapraklarındaki mineral konsantrasyonlarını belirlemek için, numuneler 48 saat boyunca 68 C'de kurutulduktan sonra öğütüldü. Toplam azot (N; %)  l  s n n belirlenmesi için bir Vapodest 10 hızlı Kjeldahl damıtma  nitesi (Gerhardt, Konigswinter, Germany) kullanılmıştır (Bremner 1996). Dokudaki makro (P, K, Ca ve Mg) ve mikro elementler N (Fe, Cu, Mn, Zn, B, Cd ve Cl) değerleri (mg/kg) nitrik asit-hidrojen peroksit (HNO₃-H₂O₂) asit karışımına (2:3 v/v) tabi tutulduktan sonra endüktif olarak bağlanmış bir plazma spektrofotometre (Optima 2100 DV, ICP/OES; Perkin-Elmer, Shelton, CT 06484-4794, USA) kullanılarak belirlenmiştir (Mertens 2005a; Mertens 2005b).

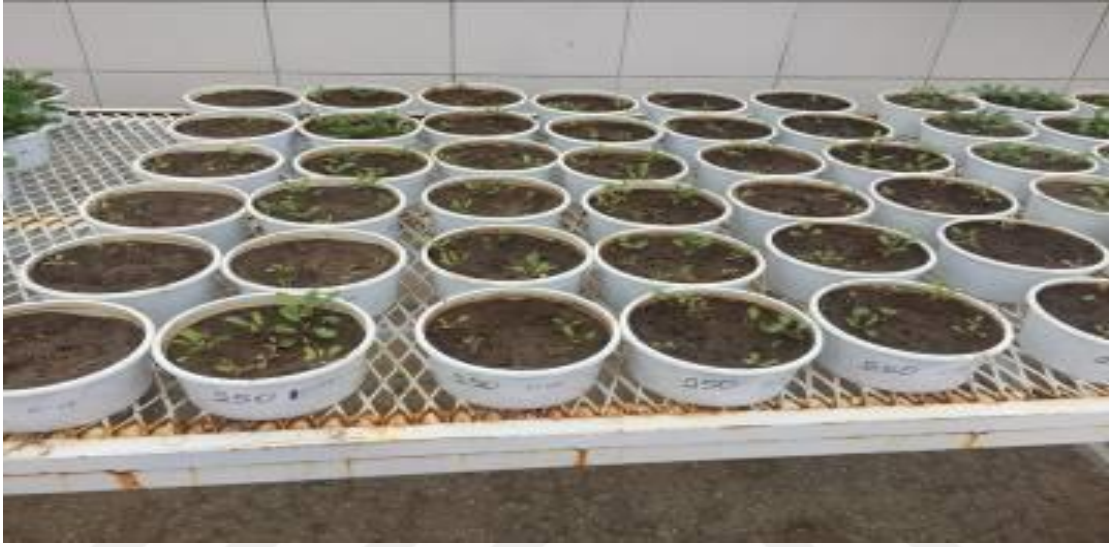
İstatistiksel Analizler

Deneme, dört tekrarlamalı olarak tesadüf parsel deneme desenine göre kurulmuştur. Deneme sonucunda elde edilen datalar, Cd stresi ve HA konsantrasyon uygulamalarının etkilerini karşılaştırmak için SPSS 20 paket programından yararlanılarak varyans analiz (iki yönlü ANOVA) değerlendirilmesine tabi tutulmuş ve etkileri önemli bulunan uygulamalara ait ortalamalar “Duncan çoklu karşılaştırma testi” kullanılarak belirlenmiştir (SPSS Inc. 2010).



ARAŞTIRMA BULGULARI

Cd ağır metal stresi altında yetiştirilen terede farklı dozlarda hümik asit uygulamalarının bitki gelişimi ile bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkisinin incelendiği bu araştırmada, ağır metal konsantrasyonlarından 250 mg/kg'lık Cd uygulamasında yeterli fide çıkışı ve bitki gelişimi olmadığı için değerlendirme dışı bırakılmıştır (Şekil 18).



Şekil 18. 250 mg/kg Cd uygulamasının tere üzerine etkisi

Kadmiyum ve Hümik Asit Uygulamalarının Tere Bitkisinin Büyüme Parametreleri Üzerine Etkisi

Cd ve HA uygulamalarının terede kök uzunluğu (cm/bitki), yaprak sayısı (adet/bitki), kök boğazı çapı (mm/bitki), yaprak alanı (cm²/bitki), yaprak taze, yaprak kuru, kök taze ve kök kuru ağırlığı üzerine etkisi Tablo 7 ve Tablo 8'de verilmiştir. Cd stresinin tüm parametreleri olumsuz etkilediği ve artan Cd doz miktarı ile olumsuz etkinin derecesinin arttığı saptanmıştır. Ayrıca, hümik asit (HA) uygulamalarının, Cd ağır metal kirliliğinin meydana getirdiği olumsuz etkileri azaltarak bitki büyüme parametreleri üzerinde pozitif yönde bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Şekil 19). Veriler dikkate alındığında artan HA doz uygulamalarının tere bitkisinin gelişimini artırdığı ve bitki gelişimi üzerinde en etkili HA dozunun 20 ml/L olduğu belirlenmiştir.

Cd kirliliği olmadığı ortamda (0 mg/kg Cd) yetişen tere bitkisinde, yaprak taze ve kuru ağırlıklarının en yüksek değerleri 20 ml/L HA uygulamasında elde edilirken, kök taze ağırlığının 15 ml/L HA ve kök kuru ağırlığının en yüksek değeri ise 10 ml/L HA uygulamasında

tespit edilmiştir. Elde edilen bu bulgular, Cd ağır metal kirliliği olmadan yetişen tere bitkisinin, yaprak taze ve kuru ağırlıklarının 20 ml/L HA uygulaması ile kontrole (0 ml/L HA) göre sırasıyla %35 ve %30 oranlarında arttığını ve kök taze ve kuru ağırlıklarının 10 ml/L HA uygulaması ile kontrole (HA 0 ml/L) göre sırasıyla %33 ve %15 oranlarında arttığını göstermektedir.

Cd kirliliğinin yaprak taze, yaprak kuru, kök taze ve kök kuru ağırlıklarını olumsuz etkilediği ve HA uygulamalarının Cd ağır metalinin tere bitkisine zararlı etkilerini hafiflettiği saptanmıştır. Ayrıca, 200 mg/kg konsantrasyonlu Cd kirliliğinde yetişen tereye 20 ml/L doz oranında HA uygulaması yapıldığında, yaprak taze, yaprak kuru, kök taze ve kök kuru ağırlıklarının kontrole göre (0 ml/L HA) göre sırasıyla %262, %137, %550 ve %133 oranlarında artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 7).



Şekil 19. Cd ve HA uygulamalarının tere bitki gelişimi üzerine etkisi (Orijinal)

Tablo 7. Cd ve HA uygulamalarının terede yaprak taze, yaprak kuru, kök taze ve kök kuru ağırlığı üzerine etkisi

Cd (mg/kg)	HA (ml/L)	Yaprak taze ağırlığı (g/bitki)	Yaprak kuru ağırlığı (g/bitki)	Kök taze ağırlığı (g/bitki)	Kök kuru ağırlığı (g/bitki)
0	0	3,66±0,09 b	0,50±0,050 d	2,63±0,10 d	0,32±0,012 b
	10	4,70±0,18 a	0,61±0,023 b	3,40±0,07 b	0,38±0,025 a
	15	4,91±0,14 a	0,55±0,005 c	3,51±0,09 a	0,37±0,011 a
	20	4,97±0,16 a	0,65±0,017 a	3,01±0,12 c	0,31±0,018 b
100	0	2,26±1,11 c	0,26±0,014 f	1,32±0,01 g	0,12±0,004 d
	10	2,28±0,04 c	0,30±0,019 e	1,49±0,03 f	0,14±0,010 c
	15	2,54±0,01 c	0,30±0,004 e	1,63±0,05 e	0,13±0,006 c
	20	2,63±0,03 c	0,32±0,005 e	1,71±0,04 e	0,14±0,008 c
200	0	0,43±0,03 e	0,08±0,004 i	0,14±0,01 j	0,03±0,002 g
	10	1,25±0,05 d	0,13±0,009 h	0,51±0,03 i	0,05±0,004 f
	15	1,11±0,07 d	0,14±0,006 h	0,50±0,03 i	0,04±0,001 fg
	20	1,56±0,05 d	0,19±0,011 g	0,91±0,04 h	0,07±0,004 e

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, P<0.05)

Tablo 8 incelendiğinde, Cd uygulamasının bitki gelişim parametreleri üzerine en olumsuz etkinin 200 mg/kg Cd uygulamasında meydana geldiği saptanmış ve artan Cd miktarının bitki büyüme parametrelerini önemli düzeyde azalttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, 100 ve 200 mg/kg konsantrasyonlarda Cd ağır metal uygulamalarının, terede kök uzunluğu, yaprak sayısı, kök boğaz çapı ve yaprak alanı üzerinde meydana getirdiği olumsuz etkiyi, HA uygulamalarının azalttığı saptanmış ve uygulanan HA dozları arasından en etkin dozun 20 ml/L olduğu belirlenmiştir. 200 mg/kg konsantrasyonlu Cd uygulamasında yetişen tere bitkisine 20 ml/L dozda HA uygulamasının, kontrole (0 ml/L HA) göre kök boğaz çapını, yaprak alanını, kök uzunluğunu ve yaprak sayısını sırasıyla %92, %104, %26 ve %24 oranında artırdığı saptanmıştır. Bunların yanısıra, 200 mg/kg konsantrasyonlu Cd uygulamasında yetişen tere bitkisinin en yüksek yaprak sayısı 10 ml/L dozlu HA uygulamasında elde edilmiş ve kontrole göre %32,6 oranında artış gözlenmiştir.

Tablo 8. Cd ve HA uygulamalarının terede kök boğaz çapı, yaprak alanı, kök uzunluğu ve yaprak sayısı üzerine etkisi

Cd (mg/kg)	HA (ml/L)	Kök boğaz çapı (mm/bitki)	Yaprak alanı (cm ² /bitki)	Kök uzunluğu (cm/bitki)	Yaprak sayısı (adet/bitki)
0	0	3,24±0,06 b	213,30±4,00 c	28,50±0,49 a	10,91±0,17 a
	10	3,27±0,05 b	235,93±4,53 b	28,68±0,51 a	10,60±0,19 a
	15	3,21±0,07 b	235,21±6,22 b	28,82±0,48 a	10,66±0,18 a
	20	3,55±0,04 a	236,49±7,53 b	25,55±0,53 ab	10,52±0,19 a
100	0	2,36±0,07 e	139,18±3,59 e	23,27±0,52 bcd	8,84±0,15 bc
	10	2,68±0,04 c	204,78±3,65 d	21,97±0,47 bcd	7,82±0,17 bcd
	15	2,57±0,05 d	214,37±4,92 c	23,37±0,45 bcd	8,09±0,18 bcd
	20	2,73±0,04 c	253,22±4,99 a	24,19±0,50 bc	9,18±0,20 b
200	0	0,85±0,01 i	69,75±4,75 g	16,50±0,48 f	5,83±0,19 e
	10	1,18±0,03 h	100,48±2,39 f	19,25±0,52 def	7,73±0,17 cd
	15	1,30±0,04 g	100,65±5,72 f	17,74±0,53 ef	6,81±0,21 de
	20	1,64±0,03 f	142,40±2,48 e	20,74±0,49 cde	7,25±0,18 d

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, P<0.05)

Kadmiyum ve Hümik Asit Uygulamalarının Terede Elektriksel İletkenlik (EC), Yaprak Klorofil Değeri (CRV), Yaprak Su Tutma Kapasitesi (LWRC), Klorofil ve Karotenoid Miktarı Üzerine Etkisi

Tablo 9’da, Cd ve HA uygulamaları altında yetişen tere bitkisinin CRV, EC ve LWRC değerleri ve Tablo 10’da da karotenoid, klorofil-a ve klorofil-b ölçüm sonuçları verilmiştir. Tablolarda verilen değerlerden, Cd kirliliğinin incelenen parametreleri önemli ölçüde etkilediği ve HA uygulamalarının Cd toksisitesini azaltıcı yönde etki gösterdiği belirlenmiştir. Sera koşullarında yürütülen çalışmamızda, Tablo 9’da verilen değerlerden de görülebileceği gibi, Cd ağır metal uygulamaları terede EC değerinde artışa sebep olurken LWRC ve CRV değerlerinde azalmaya neden olduğu saptanmıştır. En yüksek EC ve en düşük LWRC ve CRV değerleri, 200 mg/kg konsantrasyonlu Cd uygulanmış tere bitkilerinde gözlemlenmiştir. Buna ek olarak, HA uygulamaları Cd ağır metalinin bitki üzerinde oluşturduğu toksik etkiyi azalttığı, EC, CRV ve LWRC değerlerindeki yönelimden belirlenmiştir. 200 mg/kg konsantrasyonlu Cd kirliliğinde 20 ml/L dozda HA uygulaması, EC, CRV ve LWRC değerlerini kontrole (0 ml/L HA) göre sırasıyla %9,7 oranında azaltmış, %37 ve %33 oranında artırmıştır. Ayrıca, LWRC değerlerindeki değişim incelendiğinde, Cd stresi altında yetişen bitkilerin stres altında olmayan bitkilere göre yapraklarında daha az miktarda su tutma kabiliyeti sergilediği ve HA

uygulamalarının bitkide Cd toksisitesine karşı tolerans geliştirerek su tutma kapasitelerini artırdığı gözlemlenmiştir. LWRC değerleri arasındaki fark, stomatal kapanmanın sıklığından veya su kaybına karşı epidermik (cuticular) direnç gibi nedenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Deneyisel olarak bu durum, 200 mg/kg Cd uygulamasında en yüksek LWRC değerinin 20 ml/L HA uygulamasında gözlenmesi ile kanıtlanabilir.

Tablo 9. Cd ve HA uygulamalarının terede CRV, EC ve LWRC değerleri üzerine etkisi

Cd (mg/kg)	HA (ml/L)	CRV (SPAD)	EC (%)	LWRC (%)
0	0	41,00±1,00 a	5,93±0,20 e	74,39±1,20 a
	10	40,00±1,73 a	5,93±0,30 e	68,35±1,40 cd
	15	39,67±1,15 ab	5,80±0,20 e	70,08±1,80 bc
	20	40,67±0,58 a	5,66±0,10 e	69,33±1,60 c
100	0	35,00±1,00 d	34,06±0,20 c	54,16±1,50 g
	10	37,67±0,57 c	24,96±0,30 d	59,06±1,70 f
	15	40,33±0,58 a	24,78±0,40 d	64,89±1,50 de
	20	38,00±1,01 bc	23,85±0,50 d	73,87±1,60 ab
200	0	25,00±1,10 f	41,94±0,80 a	51,92±1,80 g
	10	31,00±1,05 e	35,06±0,40 bc	63,64±1,90 e
	15	29,67±1,15 e	34,91±0,20 bc	58,93±1,30 f
	20	34,33±0,50 d	37,88±0,30 b	68,83±1,50 cd

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, P<0.05)

Tablo 10. Cd ve HA uygulamalarının terede karotenoid, klorofil-a ve klorofil-b değerleri üzerine etkisi

Cd (mg/kg)	HA (ml/L)	Karotenoid (mg/g)	Klorofil-a (mg/g)	Klorofil-b (mg/g)
0	0	4,91±0,04 a	0,64±0,01 ab	5,57±0,10 a
	10	3,78±0,06 abc	0,46±0,01 bcd	4,44±0,09 ab
	15	3,32±0,04 bc	0,44±0,01 cd	4,24±0,08 ab
	20	4,19±0,07 abc	0,54±0,01 abc	4,95±0,10 ab
100	0	4,60±0,07 ab	0,66±0,01 a	5,58±0,10 a
	10	4,59±0,07 ab	0,61±0,01 abc	5,58±0,10 a
	15	3,47±0,06 bc	0,62±0,01 ab	4,15±0,08 ab
	20	3,09±0,06 c	0,39±0,01 d	3,77±0,09 b
200	0	1,49±0,04 d	0,12±0,01 e	1,78±0,07 c
	10	4,55±0,05 ab	0,63±0,01 ab	5,56±0,10 a
	15	1,68±0,07 d	0,14±0,01 e	2,20±0,06 c
	20	1,01±0,06 d	0,08±0,01 e	1,94±0,05 c

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, P<0.05)

200 mg/kg'lık Cd uygulamasının bitkinin karotenoid, klorofil-a ve klorofil-b miktarları üzerinde daha fazla toksik etki gösterdiği söylenebilir. Bununla birlikte HA uygulamalarının Cd stresinin incelenen parametreler üzerine yaptığı olumsuz etkiyi azalttığı tespit edilmiştir. Nitekim, 200 mg/kg'lık Cd ve 10 ml/L'lik HA uygulamalarında ölçülen karotenoid, klorofil-a ve klorofil-b miktarlarının, 0 mg/kg Cd ve 10 ml/L HA uygulamalarında elde edilen miktarlardan daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu fazlalık oranları, karotenoid, klorofil-a ve klorofil-b miktarları için sırasıyla %20, %37 ve %25 dir.

Kadmiyum ve Hümik Asit Uygulamalarının Tere Bitkisinin Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkisi

Bu çalışmada Cd ve HA uygulamalarının terede antioksidan enzim aktivitesi (katalaz (CAT), peroksidaz (POD) ve süperoksit dismutaz (SOD), hidrojen peroksit (H₂O₂), malondialdehit (MDA), sakkaroz, prolin ve mineral içeriğine etkisi Tablo 11, Tablo 12, Tablo 13 ve Tablo 14'te verilmiştir.

Tablo 11 incelendiğinde, Cd uygulamalarının CAT aktivitesi üzerine etkilerinin değişiklik gösterdiği, 100 mg/kg'lık Cd uygulamasında kontrole göre (0 mg/kg Cd) azaldığı, fakat 200 mg/kg'lık Cd uygulamasında ise kontrole göre arttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, Cd stres koşullarının terede POD ve SOD aktivitelerini artırdığı saptanmıştır.

Cd stresinin bulunduğu ortamlarda HA uygulamaları arasında CAT aktivitesi bakımından önemli bir farklılık bulunmazken özellikle 200 mg/kg'lık Cd uygulamasında HA uygulamalarının CAT aktivitesini azalttığı saptanmıştır. Ayrıca, Tablo 11 incelendiğinde, HA uygulamalarının POD aktivitesinin iyice artmasına neden olduğu görülürken SOD aktivitelerinin ise azalmasına neden olduğu belirlenmiştir.

200 mg/kg'lık Cd kirliliğinde yetiştirilen terede CAT ve SOD aktiviteleri, 20 ml/L dozundaki HA uygulamalarında kontrole göre (0 ml/L HA) sırasıyla %43,5 ve %21,25 oranlarında azalma gösterirken POD aktivitesi ise %185,9 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 12'de, sera koşullarında yetiştirilen terede H₂O₂, MDA, prolin ve sakkaroz değerleri üzerine Cd ve HA uygulamalarının etkileri verilmiştir. Tablo 12 incelendiğinde, Cd kirliliğinin H₂O₂, MDA, prolin ve sakkaroz içeriğini artırıcı yönde olduğu saptanmıştır. 200 mg/kg'lık Cd uygulaması altında 0 ml/L HA dozundaki sonuçlar ile 0 mg/kg'lık Cd uygulaması altında 0 ml/L dozundaki elde edilen sonuçlar arasında kıyaslama yapıldığında, Cd toksisitesinin H₂O₂, MDA, prolin ve sakkaroz miktarlarında sırasıyla %371, %215, %262 ve %52 oranlarında artışa neden olduğu belirlenmiştir. Ancak, HA uygulamalarının bu değerleri

azaltıcı yönde etki ettiği belirlenmiş ve 20 ml/L dozundaki HA uygulamasının H₂O₂, MDA, prolin ve sakkaroz değerlerini yüksek oranda azalttığı tespit edilmiştir. Nitekim, 200 mg/kg Cd uygulamasında yetiştirilen tere bitkilerine 20 ml/L dozunda HA uygulaması, H₂O₂, MDA, prolin ve sakkaroz değerlerini kontrole (HA 0 ml/L) göre sırasıyla %67, %68, %70 ve %56 oranlarında azalttığı belirlenmiştir.

Tablo 11. Cd ve HA uygulamalarının tere de antioksidan enzim aktiviteleri (CAT, POD ve SOD) üzerine etkisi

Cd (mg/kg)	HA (ml/L)	CAT (EU/ g yaprak)	POD (EU/ g yaprak)	SOD (EU/ g yaprak)
0	0	75,15±3,00 bc	0,53±0,01 g	81,72±2,27 gh
	10	72,38±2,78 bcd	0,52±0,02 g	86,86±3,80 g
	15	76,97±4,04 b	0,56±0,03 g	85,19±3,35 g
	20	75,90±1,27 bc	0,54±0,02 g	79,57±1,36 ı
100	0	68,05±1,22 de	0,58±0,01 g	131,76±2,42 d
	10	71,39±1,64 cd	1,16±0,04 e	128,58±2,48 de
	15	73,69±1,36 bc	1,61±0,09 d	122,33±2,85 f
	20	56,92±2,32 f	1,76±0,06 c	126,07±1,81 ef
200	0	91,29±1,97 a	0,78±0,05 f	168,57±3,65 a
	10	77,28±6,19 b	1,84±0,03 c	156,28±4,55 b
	15	65,25±1,05 e	2,01±0,05 b	137,59±1,99 c
	20	51,58±3,22 g	2,23±0,13 a	132,75±2,68 cd

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, P<0.05)

Cd stresi altında yetiştirilen tere de HA uygulamalarının mineral madde içeriği üzerine etkisi Tablo 13 ve Tablo 14’te verilmiştir.

Tablo 12. Cd ve HA uygulamalarının terede hidrojen peroksit (H₂O₂), lipid peroksidasyon (MDA), prolin ve sakkaroz içeriği üzerine etkisi

Cd (mg/kg)	HA (ml/L)	H₂O₂ (mmol/kg)	MDA (nmol/g)	Prolin (µg/g)	Sakkaroz (%)
0	0	140,67±2,08 f	4,34±0,19 de	55,33±2,84 g	41,42±1,99 cd
	10	135,00±10,00 f	4,57±0,16 de	55,39±1,98 g	48,49±2,02 b
	15	138,88±3,40 f	4,65±0,09 de	55,90±4,39 g	39,40±2,46 de
	20	136,33±4,04 f	3,16±0,18 f	52,00±1,08 g	28,65±2,90 g
100	0	467,78±18,93 b	9,82±1,26 b	126,07±2,07 b	44,46±1,38 bc
	10	215,03±7,58 e	5,28±0,26 c	96,94±0,51 c	33,89±2,93 f
	15	143,90±3,53 f	3,92±0,24 ef	79,55±2,80 d	45,14±2,09 bc
	20	116,72±2,53 g	3,48±0,15 f	31,04±1,38 h	22,87±3,15 h
200	0	662,68±8,93 a	13,67±0,92 a	200,37±7,13 a	62,95±0,32 a
	10	311,67±9,24 c	5,34±0,13 c	82,39±4,12 d	36,77±0,68 ef
	15	246,25±2,67 d	5,11±0,09 cd	72,89±3,48 e	25,92±1,08 gh
	20	218,94±2,82 e	4,37±0,06 de	59,33±2,72 f	27,60±4,99 g

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, P<0.05)

Tablo 13. Cd ve HA uygulamalarının terede makro element içeriği üzerine etkisi

Cd (mg/kg)	HA (ml/L)	Azot (N) (%)	Fosfor (P) (mg/kg)	Potasyum (K) (mg/kg)	Kalsiyum (Ca) (mg/kg)	Magnezyum (Mg) (mg/kg)
0	0	1,93±0,04 e	1931±41,13 d	7164±108,70 ef	5076±184,53 de	3724±85,13 d
	10	2,06±0,02 d	2055±40,08 c	7596±73,63 e	5536±58,02 c	3973±60,75 c
	15	2,26±0,03 c	2289±42,92 b	10374±415,07 b	5276±115,41 d	4120±55,30 b
	20	2,56±0,05 a	2446±37,93 a	13046±85,40 a	6980±181,85 a	4570±47,80 a
100	0	1,21±0,03 h	1405±40,61 g	5010±168,27 h	4393±124,57 f	2560±53,70 h
	10	1,33±0,01 g	1711±17,61 e	7419±127,60 e	4885±119,71 e	2655±67,54 g
	15	2,22±0,08 c	1561±49,34 f	8132±111,87 d	5694±175,13 c	2970±75,21 f
	20	2,36±0,07 b	1521±19,70 f	9009±190,06 c	6189±289,64 b	3100±47,66 e
200	0	1,17±0,01 h	1064±58,88 j	3912±63,99 ı	2709±34,20 h	1920±57,81 k
	10	1,76±0,03 f	1265±27,38 ı	6217±371,25 g	3654±160,33 g	2320±49,45 j
	15	1,92±0,05 e	1343±37,88 gh	6835±606,48 f	3603±22,65 g	2580±58,66 i
	20	2,05±0,08 d	1313±17,67 hı	7209±92,88 ef	5068±163,03 de	2690±39,40 h

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, P<0.05)

Tablo 14. Cd ve HA uygulamalarının terede mikro element içeriği üzerine etkisi

Cd (mg/kg)	HA (ml/L)	Demir (Fe) (mg/kg)	Bakır (Cu) (mg/kg)	Mangan (Mn) (mg/kg)	Çinko (Zn) (mg/kg)
0	0	97,75±5,42 d	9,93±0,31 d	21,44±1,05 b	9,33±0,35 c
	10	101,21±4,90 cd	11,61±0,64 c	21,80±0,73 b	10,18±0,57 bc
	15	148,77±5,60 b	15,26±0,50 b	21,38±0,48 b	10,29±0,47 bc
	20	174,35±8,72 a	25,50±0,69 a	20,47±2,30 bc	10,83±0,52 b
100	0	59,20±0,94 h	5,82±0,38 f	18,19±1,65 de	5,86±0,38 e
	10	85,82±5,57 f	8,33±0,22 e	19,67±0,48 bcd	6,61±0,33 de
	15	100,13±4,26 cd	10,27±0,70 cd	24,41±1,16 a	9,94±1,74 bc
	20	107,80±4,85 c	14,11±0,77 b	16,91±0,93 ef	12,05±0,62 a
200	0	50,87±1,22 ı	3,24±0,14 g	16,90±0,23 ef	6,48±0,39 de
	10	73,88±1,76 g	5,47±0,44 f	18,80±1,58 cde	7,68±0,47 d
	15	86,81±2,49 ef	5,09±0,10 f	15,88±0,99 f	9,92±0,66 bc
	20	94,22±2,77 de	7,90±0,01 e	16,93±0,14 ef	10,72±0,62 b

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, P<0.05)

Tablo 14. (devamı)

Cd (mg/kg)	HA (ml/L)	Bor (B) (mg/kg)	Kadmiyum (Cd) (mg/kg)	Klor (Cl) (mg/kg)
0	0	7,31±0,57 e	0,20±0,02 g	0,32±0,02 ef
	10	8,04±0,46 de	0,25±0,01 g	0,33±0,01 ef
	15	10,16±0,61 b	0,32±0,02 g	0,31±0,01 ef
	20	11,99±0,70 a	0,34±0,03 g	0,28±0,02 f
100	0	4,76±0,21 g	43,01±0,20 c	0,51±0,05 b
	10	6,36±0,55 f	25,99±0,19 d	0,40±0,02 cd
	15	8,77±0,37 cd	7,92±1,34 e	0,46±0,01 bc
	20	10,01±0,58 b	1,12±0,81 d	0,43±0,05 cd
200	0	4,12±0,20 g	96,61±0,26 a	1,02±0,08 a
	10	7,36±0,15 e	47,05±0,98 b	0,36±0,04 de
	15	7,47±0,29 e	13,98±1,44 e	0,20±0,02 g
	20	8,87±0,10 c	3,00±1,13 f	0,20±0,04 g

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, P<0.05)

Tablo 13 ve Tablo 14 incelendiğinde, Cd ağır metal kirliliğinin tere de Cd içerik oranı hariç diğer tüm mineral element içerik miktarlarını azalttığı belirlenmiştir. HA uygulamalarının ise Cd içerik oranı hariç diğer tüm minerallerin içeriğini önemli ölçüde artırdığı saptanmıştır. En yüksek N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn, B ve Cl miktarları Cd kirliliği olmayan (0 mg/kg Cd) tere bitkilerinde 20 ml/L'lik HA doz uygulamasında elde edilirken, belirtilen mikro elementlerin en düşük oransal değerleri ise 200 mg/kg konsantrasyonlu Cd kirliliğinde HA uygulaması olmayan (0 ml/L HA) uygulamada elde edilmiştir.

200 mg/kg Cd uygulamasında 20 ml/L'lik HA uygulaması HA uygulanmamış (0 ml/L HA) bitkilerdeki N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn ve B element içeriğini sırasıyla %75, %23, %84, %87, %40, %85, %143, %1, %65 ve %115 oranında artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, 20 ml/L dozdaki HA uygulamasının bitki tarafından Cd ve Cl alımını sırasıyla %95 ve %80 oranlarında azalttığı saptanmıştır (Tablo 13 ve Tablo 14).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapraklı sebzeler, kök sebzeler ve baklagillerle karşılaştırıldıklarında yüksek metal iyon akümülatörleridir. Tere (*Lepidium sativum*), çoğunlukla ılıman bölgelerde yetişen yapraklı bir sebzedir. Eski zamanlardan beri, bahçe teresinin tohumları, yaprakları, kökleri ve çiçekleri çeşitli hastalıkları veya rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanılmıştır. Daha önce yürütülen çalışmalar, terenin Cd stresine duyarlı olduğunu göstermiştir. Ancak, yaptığımız literatür araştırmalarımızda hümit asit (HA) uygulamalarının Cd stresi altında yetiştirilen tere üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu sebeple, bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda (0, 100, 200 ve 250 mg/kg) Cd stresi altında yetiştirilen terenin bitki büyüme parametreleri (kök uzunluğu, yaprak sayısı, kök boğazı çapı, yaprak alanı, yaprak ve köklerin yaş ve kuru ağırlıkları), bazı fizyolojik parametreler (EC, CRV, LWRC, klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid miktarı) ve bazı biyokimyasal parametreleri (CAT, POD ve SOD enzim aktiviteleri, H₂O₂, MDA, sakkaroz, prolin ve mineral madde içeriği) üzerine farklı dozlarda uygulanan (0, 10, 15 ve 20 ml/L) HA'nın etkisi araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre Cd ağır metal stresi terede bitki gelişimini olumsuz etkilemiş ve bu olumsuz etki doza bağlı olarak artış göstermiştir (Tablo 7-14). Bu çalışmanın sonuçlarına paralel olarak Cd stresinin turpta (Farouk *et al.* 2011), terede (Pavel *et al.* 2013; Pirdosti *et al.* 2018) ve marulda (Loi *et al.* 2017) bitki gelişim özelliklerini olumsuz etkilediği rapor edilmiştir. Ağır metaller, genellikle düşük biyokütle birikimi, kloroz, büyüme ve fotosentez inhibisyonu, değişen su dengesi ve besin asimilasyonu ve sonuçta bitki ölümüne neden olan yaşlanma gibi bitkiler üzerinde ortak toksik etkiler oluşturur (Singh *et al.* 2016). Cd stresi altında yetişen terede yaprak su tutma kapasitesi (LWRC) azalırken elektriksel iletkenlik (EC)'te artış gözlemlenmiştir (Tablo 9). Çalışmada, Cd kirliliğinin CRV, karotenoid, klorofil-a ve klorofil-b içeriğini azaltıcı etkisi olduğu belirlenmiştir. Kadmiyum (Cd) ağır metali, yüksek toksisitesi ve suda yüksek çözünürlüğü nedeniyle son derece önemli bir kirlenici olarak kabul edilir.

Kadmiyum stomatal iletkenliği, terleme ve fotosentez etkinliği üzerine olumsuz etki gösterebilir. Kloroz, yaprak kıvrımları ve bodurluluk, bitkilerde kadmiyum toksisitesinin başlıca ve kolay görünen belirtileridir. Kloroz, Fe eksikliği olarak görülebilir. Ayrıca, Cd ağır metali sürgünlerde nitrat redüktaz aktivitesini inhibe ederek nitratın emilimini ve bunun köklerden sürgünlere taşınımını azaltabilir (Benavides *et al.* 2005). Ağır metaller, bitkilerde önerilen dört mekanizma yoluyla toksisite sergilerler. Bunlar: a. Kök yüzeyinde absorpsiyon

için bir rekabetle sonuçlanan besin katyonlarıyla benzerlikler; örneğin, As ve Cd, absorpsiyonları için sırasıyla P ve Zn ile rekabet eder, b. Ağır metallerin, yapılarını ve fonksiyonlarını bozan ve dolayısıyla onları etkin olmayan hale getiren, fonksiyonel proteinlerin sülfhidril grubu (-SH) ile doğrudan etkileşimi, c. Esansiyel katyonların, fonksiyonun çökmesine yol açan spesifik bağlanma bölgelerinden yer değiştirmesi, d. Sonuçta makro moleküllere zarar veren aktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesidir (Sharma *et al.* 2009).

Bununla birlikte bu çalışmada, Cd stresi altında yetiştirilen terede HA uygulamalarının bitki gelişiminin yanısıra LWRC üzerine olumlu etki gösterip artmasına sebep olurken, EC’i azalttığı belirlenmiştir (Tablo 9). Ayrıca, HA uygulamalarının, CRV değeri, karotenoid, klorofil-a ve klorofil-b miktarları üzerinde Cd kirliliğinin oluşturduğu olumsuz etkiyi azalttığı belirlenmiştir. Karotenoid, klorofil-a ve klorofil-b miktarları üzerine Cd ağır metalinin zararlı etkisini ortadan kaldırmadaki en etkin HA dozunun 10 ml/L olduğu belirlenmiştir (Tablo 10). Benzer şekilde daha önce yürütülen araştırmalarda HA uygulamalarının ağır metal stresi altında marulda (Haghighi *et al.* 2010), turpta (Farouk *et al.* 2011), kıvırcık salatada (Özkay vd. 2016), tritikalede (Sergiev *et al.* 2012) ve mısırdaki (Chaab *et al.* 2015) bitki gelişimi, LWRC değeri ile karotenoid, klorofil-a ve klorofil-b miktarlarını artırıp EC’i azalttığı rapor edilmiştir. Hümik maddeler, humusta bulunan ve topraktaki organik maddeyi stabilize eden doğal organik polielektrolittir. Önceki çalışmalar, hümik maddelerin farklı stres koşullarında büyüyen farklı bitki türlerinin büyümesini artırma yeteneğini bildirmiştir (Sergiev *et al.* 2012). Hümik asit, toprağın bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini iyileştirerek bitki büyümesini ve verimini doğrudan veya dolaylı olarak olumlu yönde etkiler. Ek olarak, hümik asit, toksik ağır metallerin çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını güçlü bağlarla kompleksler oluşturarak (metallerle bileşikler oluşturarak) değiştirir ve bu da bitki büyümesi üzerindeki ağır metal stresini azaltır (Özkay vd. 2016). Literatürde rapor edilen çalışma sonuçlarına paralel olarak, bu tez çalışmasında, hümik asit (HA) uygulamalarının, Cd ağır metal kirliliğinin meydana getirdiği olumsuz etkileri elimine ederek bitki büyüme parametreleri üzerinde pozitif yönde bir etkiye sahip olduğu, artan HA doz uygulamalarının tere bitkisinin gelişimini artırdığı ve bitki gelişimi üzerinde en etkili HA dozunun 20 ml/L olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada, Cd stresinin terede CAT aktivitesi üzerine etkisinin değişiklik gösterdiği, 100 mg/kg’lık Cd uygulamasında kontrole göre CAT aktivitesinin azaldığı, fakat 200 mg/kg’lık Cd uygulamasında ise arttığı tespit edilmiştir. Kadmiyum stresinin bulunduğu ortamda HA uygulamaları arasında CAT aktivitesi bakımından önemli bir farklılık bulunmazken özellikle 200 mg/kg Cd uygulamasında HA uygulamalarının CAT aktivitesini azalttığı belirlenmiştir (Tablo 11). Ayrıca, Cd stres koşullarının terede POD ve SOD enzim aktivitelerini de artırdığı

tespit edilmiştir. HA uygulamalarının POD enzim aktivitesini daha da artırırken SOD enzim aktivitesinin azalmasına neden olduğu belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında bulunan sonuçlara paralel olarak, farklı çalışmalarda çeşitli çevresel streslerin (tuzluluk, kuraklık ve ağır metal stresi gibi) antioksidan enzim aktivitelerini etkilediği rapor edilmiştir (Bohnert *et al.* 1995; Shao *et al.* 2008). Shao *et al.* (2008), stres koşulları altında SOD, CAT, APX, POD ve GRD aktivitelerinin arttığını belirtmişlerdir. Diğer yandan, Sergiev *et al.* (2012), ağır metal uygulamalarının tritikale bitkisinde CAT aktivitesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığını, buna karşılık SOD, GST (glutathione-S-transferase) ve GPOX (guaiacol peroxidase) aktivitelerini arttırdığını ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara benzer şekilde, Özkay vd. (2016), ağır metal stresinin kıvırcık salata SOD aktivitesini artırdığını, buna ilaveten HA uygulamalarının bu artışı desteklediğini bildirmişlerdir. Ayrıca, araştırmacılar, HA uygulamalarının SOD ve GST aktivitesinde daha fazla artışa yol açtığı ve bu durumun reaktif oksijen türlerini süpürücü olarak görev yaptığını bildirmişlerdir. HA uygulamasının bu olumlu etkisi büyük olasılıkla beslenme ortamında veya bitkide HA ile şelatlama kompleksleri oluşturma olasılığından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir.

Sera koşullarında yürütülen saksı denemelerinde, ağır metal stresinin ve HA uygulamalarının terede H_2O_2 , MDA, prolin ve sakkaroz içeriği üzerine istatistiksel olarak etki ettiği tespit edilmiştir (Tablo 12). Cd toksisitesindeki doz artışı ile meydana gelen etki, H_2O_2 , MDA, prolin ve sakkaroz içeriği üzerinde artırıcı yönde iken HA uygulamalarının bu parametreleri azalttığı belirlenmiştir. Nitekim, 200 mg/kg Cd seviyesinde 20 ml/L HA uygulaması kontrole (0 HA) göre H_2O_2 , MDA, prolin ve sakkaroz içeriğini sırasıyla %66, 68, 70 ve 56 oranında azalttığı tespit edilmiştir (Tablo 12). Benzer şekilde Yıldırım et al. (2019) yaptıkları çalışmada Cd ve Pb ağır metal stresi altında yetiştirilen rokada H_2O_2 , MDA, prolin ve sakkaroz içeriğinin arttığını göstermişlerdir. Nitekim ağır metal ve diğer stres koşullarının bitkilerde lipid peroksidasyonu ve H_2O_2 içeriği artırırken, strese karşı tolerans sağlamada kullanabileceği prolin ve sakkaroz içeriklerini artırdığı bildirilmiştir (Gratao et al., 2005; Loi et al., 2017). Daha önce yürütülen çalışmalar HA uygulamalarının ağır metal stres koşullarının neden olduğu H_2O_2 ve MDA içeriğindeki artışı azalttığını göstermiştir (Özkay vd. 2016). Sergiev et al. (2012) yaptıkları çalışmada, Cd stresi altında yetiştirilen tritikalede HA uygulamalarının prolin ve MDA içeriğini azalttığı ve HA uygulamalarının ağır metal toksisitesine karşı koruyucu etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Çalışmada, Cd ağır metal stresinin terede Cd hariç diğer elementlerin miktarlarını azalttığı belirlenmiştir. HA uygulamalarının ise Cd hariç diğer tüm minerallerin içeriğini önemli ölçüde artırdığı saptanmıştır (Tablo 13, Tablo 14). Kadmiyum (Cd), çeşitli antropojenik

kaynaklarla çevreye giren ve bitki büyümesini ve gelişmesini engelleyen toksik bir ağır metaldir. Bitki besin maddeleri ve Cd ağır metali aynı taşıyıcılar için rekabet eder ve bu nedenle Cd varlığı mineral besin eksikliğine yol açar. Cd stresi altında mineral besinlerin optimizasyonu, Cd toksisitesini taşıma bölgesinde daha fazla bulunabilirlikle azaltabilir, Cd birikiminin azalmasına neden olabilir ve ayrıca bitkilerdeki biyokimyasal reaksiyonları ve fizyolojik süreçleri artırarak Cd'un neden olduğu toksik etkileri hafifletebilir (Nazar *et al.* 2012). Kadmiyumun, bitkilerin topraktan mineral alımını, toprakta bulunan minerallerin mevcudiyeti üzerindeki etkileri veya toprak mikropları popülasyonundaki bir azalma yoluyla değiştirebildiği rapor edilmiştir (Benavides *et al.* 2005).

HA uygulaması açısından bakıldığında ise, Cd içerik oranı hariç diğer tüm minerallerin içerik oranlarının HA uygulamasıyla önemli ölçüde arttığı saptanmıştır. Metallerin topraktaki davranışlarının hümik ve fülvik asit uygulamalarından etkilendiği bildirilmiştir. Hümik asit (HA) ve fülvik asit (FA) uygulamaları üzerine yapılmış çalışmalar, HA ve FA gibi hümik maddelerin ortama eklenmesinin toprakta tüm metallerin çözünebilen ve değişebilen formlarının daha fazla hareketsizleştirdiğini göstermiştir (Evangelou and Marsi 2001). Literatürde, Pb, Cd ve Ni gibi metal türleri üzerine HA ve FA'nin etkileri ve bu metallerin bitkilerde bulunabilirliği üzerine geniş çaplı araştırmalar mevcuttur. Ancak, HA ve FA'nin karmaşık yapıları ve toprak özelliklerindeki önemli farklılıklar nedeniyle tutarsız ve hatta çelişkili sonuçlar rapor edilmiştir (Evangelou and Marsi 2001; Yu *et al.* 2002; Evangelou *et al.* 2004; Jiang *et al.* 2005; Gao and Huang 2009; Janos *et al.* 2010; Park *et al.* 2012; Topcuoglu 2012). Yapılan bazı çalışmalar, HA ve FA uygulamalarının, topraktaki metal konsantrasyonlarının bitkilerdeki mevcudiyetini ve değiştirilebilirliklerini etkilediğini (Jiang *et al.* 2005; Gao and Huang 2009; Janos *et al.* 2010), bitkilerdeki Pb ve Cd oranını azalttığını ve HA'nin topraktaki Pb ve Cd metallerini hareketsizleştirmek için kullanılabileceğini (Li *et al.* 2003; Kalis *et al.* 2006) göstermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada, Cd kirliliği bitki taze ve kuru ağırlık gibi bitki büyüme parametrelerini olumsuz etkilediğinin yanısıra HA (%6 oranında FA içeren) uygulamalarının Cd stresinden kaynaklanan bu olumsuz etkiyi azalttığı bulunmuştur. Bitki büyüme parametreleri göz önüne alındığında, HA (%6 oranında FA içeren) doz oranı 20 ml/L olduğunda en iyi sonuçlar belirlenmiştir. Ayrıca, ağır metal stresinin bitki büyümesi üzerindeki olumsuz etkilerini hafifletmek için yüksek FA oranına (yaklaşık %6) sahip hümik bir maddenin (hümik asit) uygulanmasının kritik olduğu gösterilmiştir.

Literatür bildirişleri ve yukarıda verilen bilgiler ve bulgular ışığında, ağır metallerin topraktan bitkilere ve bitkilerden de insanlara geçerek insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler

oluşturabilmektedir. Dolayısı ile hem ağır metal toksisitesini azaltarak bitki gelişimini artırmak hem de bitkiler vasıtasıyla insanlara geçen ağır metal oranlarını minimize ederek insan sağlığını korumak açısından HA uygulamaları önem kazanabilir.

Bitkilerde Cd toksisitesini hafifletmek için ürün rotasyonu ve diğer organik ve inorganik maddelerin kullanımı, Cd ile kirlenmiş toprakları düzeltmek için kullanılan önemli yaklaşımlardır. Tere gibi insanların bolca kullandığı bahçe bitkilerinde Cd gibi ağır metallerin absorpsiyonunu ve toksik etkisini azaltmak için geliştirilen yöntem ve tekniklere ek olarak, bu toksik etkiyi minimize edecek organik maddelerin keşfi ve etkilerinin çalışılarak literatüre bildirilmesi son derece önem arz etmektedir. Bu önemli alanlarda ortaya konulmuş bir bilgi, bitki metal toleransı ve homeostazının ötesindeki moleküler mekanizmaların da daha da aydınlatılmasına yardımcı olacaktır. Bu bağlamda bu tez çalışmasının, gelecek çalışmalara ışık tutması umut edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abedi, T., Pakniyat, H., 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czech J. Genet. Plant Breed, 46, 27–34.
- Achakzai, A.K.K., Bazai, Z.A., Kayani, S.A., 2011. Accumulation of heavy metals by lettuce (*Lactuca sativa* L.) Irrigated with different levels of wastewater of quetta city. Pak. J. Bot., 43(6), 2953-2960.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2007. CERCLA Priority List of Hazardous Substances. U.S.Department of Health and Human Services. Atlanta, GA.
- Akoumianakis, K.A., Passam, H.C., Barouchas, P.E., Moustakas, N.K., 2008. Effect of cadmium on yield and cadmium concentration in the edible tissues of endive (*Cichorium endivia* L.) and rocket (*Eruca sativa* Mill.). J. Food Agric. Environ., 6(3-4), 206-209.
- Alak, H.C., Müftüoğlu, N.M., 2014. Hümk asit uygulamalarının alınabilir potasyum üzerine etkisi. ÇOMÜ Zir. Fak. Derg., 2(2), 61–66.
- Alexander, P.D., Alloway, B.J., Dourado, A.M., 2006. Genotypic variations in the accumulation of Cd, Cu, Pb and Zn exhibited by six commonly grown vegetables. Environ. Pollut., 144(3), 736-745.
- Altinozlu, H., Karagoz, A., Polat, T., Unver, İ., 2012. Nickel hyperaccumulation by natural plants in Turkish serpentine soils. Turkish Journal of Botany, 36, 269-280.
- Angelini, R., Manes, F., Federico, R., 1990. Spatial and functional correlation between daimine-oxidase and peroxidase activities and their dependence upon deetilation and wounding in chick-pea. Planta, 182, 89–96.
- Angelovičová, L., Fazekášová, D., 2014. Contamination of the soil and water environment by heavy metals in the former mining area of Rudňany (Slovakia). Soil & Water Res., 9(1), 18-24.
- Appenroth, K.J., 2010. What are “heavy metals” in Plant Sciences?. Acta Physiol. Plant, 32, 615–619.
- Ay, F., 2015. Hümk asit ve hümk asit kaynaklarının jeolojik ve ekonomik önemi. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi (CFD), 36(1).
- Ayhan, B., Ekmekçi, Y., Tanyolaç, D., 2006. Heavy metal toxicity in plants and their defence mechanisms. Anadolu University Journal of Science and Technology, 7(1), 1-16.
- Baghaie, A.H., Fereydoni, M., 2019. The potential risk of heavy metals on human health due to the daily consumption of vegetables. Environmental Health Engineering and Management Journal, 6(1), 11–16.
- Bat, L., Gündoğdu, A., Öztürk, M., 1998-1999. Ağır metaller. Su Ürünleri Fak. Dergisi 6, 166-175.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for waterstress studies. Plant and soil, 39(1), 205-207.
- Benavides, M.P., Gallego, S.M., Tomaro, M.L., 2005. Cadmium toxicity in plants. Braz. J. Plant Physiol., 17(1), 131-136.
- Benz, M., Schink, B., Brune, A., 1998. Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermenting bacteria. Appl. Environ. Microbiol., 64, 4507-4512.
- Bhardwaj, K.K., Gaur, A.C., 1971. Studies on the growth stimulating action of humic acid on bacteria. Zentralbl. Bakteriell. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg., 126, 694-699.
- Bhide, J.V., Dhakephalkar, P.K., Paknikar, K.M., 1996. Microbiological process for the removal of Cr(VI) from chromate-bearing cooling tower effluent. Biotechnology Letters, 18, 667-672.

- Bohnert, H.J., Nelson, D.E., Jensen, R.G., 1995. Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell*, 7, 1099-1111.
- Boruvka, L., Drabek, O., 2004. Heavy metal distribution between fractions of humic substances in heavily polluted soils. *Soil Enviro.*, 50(8), 339-345.
- Bremner, J.M., 1996. Nitrogen-total. In: Sparks, D.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Part III. Chemical Methods*, 2nd ed. Soil Science Society of America, Madison, WI, USA, 1085-1122.
- Breward, N., 2003. Heavy-metal contaminated soils associated with drained fenland in Lancashire, England, UK, revealed by BGS Soil Geochemical Survey. *Applied Geochemistry*, 18(11), 1663–1670.
- Chaab, A., Moezzi, A., Sayyad, G., Chorom, M., 2015. Effect of Chromium and Cadmium on growth parameters and biochemical responses in soil treated with compost and humic acid. *International Journal of Plant & Soil Science.*, 8(4), 1-8.
- Chaab, A., Moezzi, A., Sayyad, G., Chorom, M., 2016. Effect of compost and humic acid in mobility and concentration of cadmium and chromium in soil and plant. *Global J. Environ. Sci. Manage.*, 2(4), 389-396.
- Chen, B., Zhu, Y.G., 2006. Humic acids increase the phytoavailability of Cd and Pb to wheat plants cultivated in freshly spiked, contaminated soil. *Journal of Soils and Sediments*, 6(4), 236-242.
- Chopra, J., Kaur, N., Gupta, A.K., 2000. Ontogenic changes in enzymes of carbon metabolism in relation to carbohydrate status in developing mungbean reproductive structures. *Phytochemistry*, 53(5), 539-548.
- Çağlarımak, N., Hepçimen, A.Z., 2010. Ağır metal toprak kirliliğinin gıda zinciri ve insan sağlığına etkisi. *Akademik Gıda*, 8(2), 31-35.
- Çıkıllı, Y., Samet, H., Dursun, S., 2016. Cadmium toxicity and its effects on growth and metal nutrient ion accumulation in solanaceae plants. *Journal of Agricultural Sciences*, 22, 576-587.
- EPA (Environmental protection Agency) USA, 1987. update #2 to Quality criteria for water, May 1, office of water Regulation and standards criteria and standards Division, Washington D.C.
- Evangelou, M.W.H., Daghan, H., Schaeffer, A., 2004. The influence of humic acids on the phytoextraction of cadmium from soil. *Chemosphere*, 57(3), 207-213.
- Evangelou, V.P., Marsi, M., 2001. Composition and metal ion complexation behaviour of humic fractions derived from corn tissue. *Plant Soil*, 229, 13-24.
- Fagberno, J.A., Agbolla, A.A., 1993. Effect of humic acid on growth and nutrient uptake of teak seedling. *Journal of Plant Nutrition*, 16 (8), 1465-1483.
- Farouk, S., Mosa, A.A., Taha, A.A., Ibrahim, H.M., EL-Gahmery, A.M., 2011. Protective effect of humic acid and chitosan on radish (*Raphanus sativus*, L. var. *sativus*) plants subjected to cadmium stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7(2), 99-116.
- Gao, W., Huang, Y., 2009. Effects of humic acid and compost on speciation transformation of zinc and lead in soil. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 3(3), 549-554.
- Ghorbanli, M., Kaveh, S.H., Sepehr, M.F., 2000. Effects of cadmium and gibberellin on growth and photosynthesis of Glycine max. *Photosynthetica*, 37, 627-631.
- Gratao LP, Polle A, Lea P, Azevedo A 2005. Making the Life of Heavy Metal Stressed Plants a Little Easier. *Func. Plant Biol.*, 32: 481-494.
- Güleç, A., Bilgiç, P., Besler, H.T., 2015. A study on evaluation of heavy metal contents of extra virgin olive oil produced by organic and conventional agricultural methods in Turkey. *Bes. Diy. Derg.*, 43(3), 219-227.
- Haghighi, M., Kafi, M., Fang, P., Gui-Xiao, L., 2010. Humic acid decreased hazardous of cadmium toxicity on lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Vegetable Crops Research Bulletin*, 72, 49-61.

- Haghighi, M., Kafi, M., Khoshgoftarmanesh, A., 2013. Effect of humic acid application on cadmium accumulation by lettuce leaves. *Journal of Plant Nutrition*, 36:1521–1532.
- Hassan, M.J., Zhang, G., Wu, F., Wei, K., Chen, Z., 2005. Zinc alleviates growth inhibition and oxidative stress caused by cadmium in rice. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168, 255-261.
- Hermans, C., Chen, J., Coppens, F., Inze, D., Verbruggen, N., 2011. Low magnesium status in plants enhances tolerance to cadmium exposure. *New Phytologist*, 192, 428-436.
- Hsu, Y.T., Kao, C.H., 2003. Role of abscisic acid in cadmium tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant, Cell and Environment*, 26, 867-874.
- Iheanacho, E.U., Ndulaka, J.C., Onuh, C.F., 2017. Environmental pollution and heavy metals. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 5(5), 73-78.
- Itanna, F., 2002. Metals in leafy vegetables grown in Addis Ababa and toxicological amplications. *Ethiop. I. Health Dev.*, 16(3), 295-302.
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Blessy, B.M., Krishnamurthy N.B., 2014. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol.*, 7(2), 60–72.
- Jali, P., Pradhan, C., Das, A.B., 2016. Effects of cadmium toxicity in plants: A Review Article. *Sch. Acad. J. Biosci.*, 4(12), 1074-1081.
- Janos, P., Vavrova, J., Herzogova, L., Pilarova, V., 2010. Effects of inorganic and organic amendments on the mobility (leachability) of heavy metals in contaminated soil: a sequential extraction study. *Geoderma*, 159(3-4), 335-341.
- Jarup, L., Akesson, A., 2009. Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1;238(3), 201-8.
- Jha, A.N., 2004. Genotoxicological studies in aquatic organisms: An overview. *mutation research-fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis*, 552(1–2), 1–17.
- Jiang, Y., Yuan, J., Lu, Z., Wang, A., Chen, H., 2005. The effect of humic acid on species of Cu, Cd, Pb, Zn in sewage farm. *Journal of Northwest Normal University (Natural Science)*, 41(6), 42-46.
- Joshi, R., Ramanarao, M.V., Baisakh, N., 2013. Arabidopsis plants constitutively overexpressing a myo-inositol 1-phosphate synthase gene (SaINO1) from the halophyte smooth cordgrass exhibits enhanced level of tolerance to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 65, 61-66.
- Kafadar, F., Saygıdeğer, S., 2010. Gaziantep ilinde organize sanayi bölgesi atık suları ile sulanan bazı tarım bitkilerinde kurşun (Pb) Miktarlarının Belirlenmesi. *Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü*, 27310. *Ekoloji* 19, 75, 41-48, Gaziantep.
- Kalis, E.J., Temminghoff, E.J., Weng, L., 2006. Effects of humic acid and competing cations on metal uptake by *Lolium perenne*. *Environ. Toxicol. Chem.* 25(3), 702-711.
- Karcık, H., Taşan, M., 2018. Determination of heavy metal contents in some organic certified dried nuts. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 15(02), 101-111.
- Kashem, M.D.A., Kawai, S., 2007. Alleviation of cadmium phytotoxicity by magnesium in Japanese mustard spinach. *Soil Science & Plant Nutrition*, 53, 246-251.
- Kaya, C., Higgs, D., Ince, F., Amador, B.M., Cakir, A., Sakar, E., 2003. Ameliorative effects of potassium phosphate on salt-stressed pepper and cucumber. *J. Plant Nutrition*, 26, 807-820.
- Kayastha, S.P., 2014. Heavy metal pollution of agricultural soils and vegetables of bhaktapur district, Nepal. *Scientific World*, 12(12), 48-55.
- Krantev, A., Yordanova, R., Janda, T., Szalai, G., Popova, L., 2008. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *Journal of Plant Physiology*, 165, 920-931.
- Kural, O., 1998. Kömür özellikleri, teknolojisi ve çevre ilişkileri. *İstanbul Teknik Üniversitesi Maden Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul*.

- Li, J., Chen, H., Chen, Y., Yang, X., 2003. Effects of phyto-availability on Hg, Cd, Pb in soil by humus. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 21(3), 235-237.
- Liu, D.H., Jiang, W.S., Hou, W.Q., 2001. Uptake and accumulation of copper by roots and shoots of maize (*Zea mays* L.). *J. Environ. Sci.*, 13, 228-232.
- Lobartini, J.C., Orioli, G.A., Tan, K.H., 1997. Characteristics of soil humic acid fractions separated by ultrafiltration. *Corn. Soil Sci. Plant Anal.*, 28(9&10), 787-796.
- Loi, N.N., Sanzharova, N.U., Shchagina, N.I., Mironova, M.P., 2017. The effect of cadmium toxicity on the development of lettuce plants on contaminated sod-podzolic soil. *Russ. Agric. Sci.*, 44(1), 49-52.
- Lu, L.L., Tian, S.K., Yang, X.E., Li, T.Q., He, Z.L., 2009. Cadmium uptake and xylem loading are active processes in the hyperaccumulator *Sedum alfredii*. *Journal of Plant Physiology*, 166, 579-587.
- Mahurpawar, M., 2015. Effects of heavy metals on human health, *International Journal of Research-GRANTHAALAYAH*, 1-7.
- Marcovecchio, J.E., 2004. The use of *Micropogonias furnieri* and *Mugil liza* as biological indicators of heavy metals pollution in La Plata River estuary (Argentina). *Science of the Total Environment*, 323(1-3), 219-226.
- McBride, M.B., 2003. Cadmium concentration limits in agricultural soils: weaknesses in USEPA's risk assessment and the 503 rule. *Hum.Ecol.Risk Assessment*, 9, 661-674.
- Memon, A.R., Schröder, P., 2009. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 16(2), 162-75.
- Mench, M., Martin, E., 1991. Mobilization of Cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana rustica* L. *Plant and Soil*, 132, 187-196.
- Meng, Q., 2017. Research on effects of heavy metals on agricultural soil pollution and its control. *Chemical Engineering Transactions*, 59, 955-960.
- Mertens, D., 2005a. AOAC Official Method 922.02. Plants preparation of laboratory sample. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Horwitz, W., and G.W. Latimer, (Eds). Chapter 3, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland, USA. 1-2.
- Mertens, D., 2005b. AOAC Official Method 975.03. Metal in plants and pet foods. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Horwitz, W., and G.W. Latimer, (Eds). Chapter 3, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland, USA. 3-4.
- Monteiro, M.S., Santos, C., Soares, A.M.V.M., Mann, R.M., 2009. Assessment of biomarkers of cadmium stress in lettuce. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 811-818.
- Monteiro, M.S., Santos, C., Soares, A.M.V.M., Mann, R.M., 2008. Does subcellular distribution in plants dictate the trophic bioavailability of cadmium to *Porcellio dilatatus* (Crustacea, Isopoda). *Environ.Toxicol.Chem.*, 27, 111-119.
- Mudga, V., Madaan, V.N., Mudgal, A., Singh, R.B., Mishra, S., 2010. Effect of toxic metals on human health. *The Open Nutraceuticals Journal*, 3, 94-99.
- Mukhopadhyay, D., Parihar, S.S., Chauhan, J.S., Preeti, S.C.J., 2010. Effect of temperature and desiccation on seed viability of *Lepidium sativum* L. *New York Science Journal*, 3(5), 34-36.
- Munzuroglu, Ö., Geckil, H., 2002. Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. *Environmental Contamination and Toxicology*, 43, 203-213.
- Nazar, R., Iqbal, N., Masood, A., Iqbal M.R., Khan, Syeed, S., Nafees, K.A., 2012. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American Journal of Plant Sciences*, 3, 1476-1489.

- Obbard, J.P., 2001. Ecotoxicological assessment of heavy metals in sewage sludge amended soils. *Applied Geochemistry*, 16(11–12), 1405-1411.
- Okcu, M., Tozlu, E., Kumlay, A.M., Pehlivan, M., 2009. Ağır metallerin bitkiler üzerine etkileri. *Alinteri*, 17(B), 14-26.
- Öktem, A.G., Nacar, A.S., Öktem, A., 2017. Sıvı olarak toprağa uygulanan hümik asit miktarlarının kırmızı mercimek bitkisinde (*Lens culinaris Medic.*) verim ve bazı verim unsurlarına etkisi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 26 (Özel Sayı), 119–124.
- Özbolat, G., Tuli, A., 2016. Effects of heavy metal toxicity on human health. *Archives Medical Review Journal*, 25(4), 502-521.
- Özkan, A., 2017. Heavy metal pollution in agricultural lands and plants around antakya–cilevegözü highway. *Çukurova University Journal of the Faculty of Engineering and Architecture*, 32(3), 9-18.
- Özkay, F., Kıran, S., Kuşvuran, Ş., Ellialtıoğlu, Ş.Ş., 2016. Hümik asit uygulamasının kıvırcık salata bitkisinde ağır metal stresi zararını azaltma etkisi. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(6), 431-437.
- Öztürk, E., 2011. Farklı dozlarda humik asit ve kadmiyum uygulamalarının hıyar (*Cucumis sativus* L.) bitkisinde kadmiyum birikimine ve fide gelişimine etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Van.
- Özyürek, F., 2016. Nevşehir’de farklı su kaynaklarıyla sulanan sebzelerde ağır metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn) birikimi. *Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Nevşehir.
- Pál, M., Horvath, E., Janda, T., Paldi, E., Szalai, G., 2006. Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169, 239-246.
- Park, S., Kim, K., Kang, D., Yoon, H., Sung, K., 2012. Effects of humic acid on heavy metal uptake by herbaceous plants in soils simultaneously contaminated by petroleum hydrocarbons. *Environ. Earth. Sci.*, 68(8), 2375-2384.
- Patrick, L., 2003. Toxic metals and antioxidants: Part II. The role of antioxidants in arsenic and toxicity. *Altern Med Rev.*, 8(2), 112-116.
- Pavel, V.L., Sobariu, D.L., Diaconu, M., Stătescu, F., Gavrilăscu, M., 2013. Effects of heavy metals on *Lepidium sativum* germination and growth. *Environ. Eng. Manag. J.*, 12(4), 727-733.
- Pereira, B.F.F., Rozane, D.E., Araújo, S.R., Barth, G., Queiroz, R.J.B., Nogueira, T.A.R., Moraes, M.F., Cabral, C.P., Boaretto, A.E., Malavolta, E., 2011. Cadmium availability and accumulation by lettuce and rice. *R. Bras. Ci. Solo*, 35, 645-654.
- Peris, M., Micó, C., Recatalá, L., Sánchez, R., Sánchez, J., 2007. Heavy metal contents in horticultural crops of a representative area of the European Mediterranean region. *Sci. Total Environ.*, 378, 42-48.
- Pirdosti, K.M., Movahedi, Z., Rostami, M., 2018. Effect of cadmium stress on morphophysiological traits in garden cress and radish in an aeroponic system. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 9(1), 2591-2599.
- Popova, L., Maslenkova, L., Yordanova, R., Krantev, A., Szalai, G., Janda, T., 2008. Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. *General and Applied Plant Physiology (Special issue)*, 34(3-4), 133-144.
- Popova, L.P., Maslenkova, L.T., Ivanova, A.P., Stoinova, Z., 2012. Role of salicylic acid in alleviating heavy metal stress. In: Ahmad P & Prasad MNV (eds.) *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change*, 441–466. New York, Dordrecht, Heidelberg, London: Springer.

- Popova, L.P., Maslennikova, L.T., Yordanova, R.Y., Ivanova, A.P., Krantev, A.P., Szalai, G., Janda, T., 2009. Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 224-231.
- Poschenrieder, C.H., Gunse, B., Barcelo, J., 1989. Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance and abscisic acid content in expanding bean leaves. *Plant Physiol*, 90, 1365-1371.
- Preetha, B., Viruthagari, H., 2006. Bioaccumulation of Cr(VI), Copper(II), Nickel(II) ions growing *Rhizopus arrhizus*. *Biochemical Engineering Journal*, 703, 361- 65.
- Qian, W., Zhu, L., Shuiping, C., Zhenbin, W., 2010. Influence of humic acids on the accumulation of copper and cadmium in *Vallisneria spiralis* L. from sediment. *Environmental Earth Sciences*, 61(6), 1207-1213.
- Quinn, M.R., Feng, X., Folt, C.L., Chamberlain, C.P., 2003. Analyzing trophic transfer of metals in stream food webs using nitrogen isotopes. *Science of the Total Environment*, 317(1-3), 73-89.
- Rajeswari, R.T., Sailaja, N., 2014. Impact of heavy metals on environmental pollution. National Seminar on Impact of Toxic Metals, Minerals and Solvents leading to Environmental Pollution, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 1-7.
- Rascio, N., Navari-Izzo, F., 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180, 169-181.
- Rawat, M., Moturi, M.C.Z., Subramanian, V., 2003. Inventory compilation and distribution of heavy metals in wastewater from small-scale industrial areas of Delhi, India. *Journal of Environment Monitoring*, 5(6), 906-912.
- Redjala, T., Sterckeman, T., Morel, J.L., 2009. Cadmium uptake by roots: Contribution of apoplast and of high- and low-affinity membrane transport systems. *Environmental and Experimental Botany*, 67, 235-242.
- Rodriguez-Serrano, M., Romero-Puertas, M.C., Zabalza, A.N.A., Corpas, F.J., Gomez, M., Del Rio, L.A., Sandalio, L.M., 2006. Cadmium effect on oxidative metabolism of pea (*Pisum sativum* L.) roots. Imaging of reactive oxygen species and nitric oxide accumulation in vivo. *Plant, Cell & Environment*, 29, 1532-1544.
- Sağlam, N., Cihangir, N., 1995. Ağır metallerin biyolojik süreçlerle biyosorbsiyonu çalışmaları. *Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 11, 157-161.
- Sahin, U., Ekinci, M., Ors, S., Turan, M., Yildiz, S., Yildirim, E., 2018. Effects of individual and combined effects of salinity and drought on physiological, nutritional and biochemical properties of cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). *Scientia Horticulturae*, 240, 196-204.
- Saleh, A.A.H., 2001. Effect of Cd and Pb on growth, certain antioxidant enzymes activity, protein profile and accumulation of Cd, Pb and Fe in *Raphanus sativus* and *Eruca sativa* seedlings. *Egyptian Journal of Biology*, 3, 131-139.
- Satarug, S., Garrett, S.H., Sens, M.A., Sens, D.A., 2011. Cadmium, environmental exposure, and health outcomes. *Ciência & Saúde Coletiva*, 16(5), 2587-2602.
- Schnitzer, M., 1978. *Soil Organic Matter*. Editörs: M. Schnitzer and S.U. Khan, Elsevier Scientific Publishing Co., New York, USA.
- Senn, T.L., Kingman, A.R., 1973. *Agricultural experiment station: A review of humus and humic acids*, South Carolina.
- Sergieva, I., Todorova, D., Moskova, I., Georgieva, N., Nikolova, A., Simova, S., Polizoev, D., Alexieva, V., 2012. Protective effect of humic acids against heavy metal stress in triticale. *Comptes rendus de l'Acad'emie bulgare des Sciences Tome*, 66(1), 53-59.
- Seven, T., Can, B., Darende, B.N., Ocak, S., 2018. Hava ve toprakta ağır metal kirliliği. *Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1(2), 91-103.
- Shao, H.B., Chu, L.Y., Jaleel, C.A., Zhao, C.X., 2008. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *C. R. Biol.*, 331, 215-225.

- Sharma, H., Rawal, N., Mathew, B.B., 2015. The characteristics, toxicity and effects of cadmium. *International Journal of Nanotechnology and Nanoscience*, 3, 1-9.
- Sharma, S.S., Dietz, K.J. 2009. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Trends Plant Sci.*, 14, 43-50.
- Sharma, V., Singh, P., 2015. Heavy metals pollution and it's effect on environment and human health. *International Journal of Recent Scientific Research*, 6(12), 7752-7755.
- Singh, J., Kalamdhad, A.S., 2011. Effects of heavy metals on soil, plants, human health and aquatic life. *International Journal of Research in Chemistry and Environment.*, 1(2), 15-21.
- Singh, S., Parihar, P., Singh, R., Singh, V.P., Prasad, S.M., 2016. Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics. *Front. Plant Sci.*, 6, 1143.
- Sossé, B.A., Genet, P., Dunand-Vinit, F., Toussaint, L.M., Epron, D., Badot, P.M., 2004. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. *Plant Science*, 166, 1213-1218.
- Sözüdoğru, S., Kütük, A.C., Yalçın, R., Usta, S., 1996. Hüyük asidin fasulye bitkisinin gelişimi ve besin maddeleri alımı üzerine etkisi. Ankara Üni. Zir. Fak., Yayın No: 1452.
- SPSS Inc. 2010. SPSS® 18.0 Base User's Guide. Prentice Hall.
- Stevenson, F.J., 1982. Humus chemistry: genesis, composition, reactions., Wiley- Interscience, New York, USA.
- Sushera, B., Prayad, P., Guy, L.R., Julian, F., Tyson Kruatrachue, M., Xing, B., Suchart, U., 2007. Influences of cadmium and zinc interaction and humic acid on metal accumulation in *Ceratophyllum demersum*. *Water, Air, & Soil Pollution*, 180. (1-4), 225-235.
- Szalai, G., Pal, M., Horvath, E., Janda, T., Paldi, E., 2005. Investigations on the adaptability of maize lines and hybrids to low temperature and cadmium. *Acta Agronomica Hungarica*, 53, 183-196.
- Topcuoglu, B., 2012. The influence of humic acids on the metal bioavailability and phytoextraction efficiency in long-term sludge applied soil. Conference on international research on food security, natural resource management and rural development. Tropentag, Gottingen, Germany, September 19-21.
- Tran, T.A., Popova, L.P., 2013. Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turk. J. Bot.*, 37, 1-13.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant science*, 151(1), 59-66.
- Xue, S.C., Liu, D.C., Tong, D.Y., Han, J.M., Li, Y.R., 1994. Studies on the effects and mechanism of humic acid compound fertilizer. *J. Hebei Agricultural University*, 17(1), 24-27.
- Yıldırım E, Ekinci M, Turan M, Ağar G, Örs S, Dursun A, Kul R, Balcı T 2019. Impact of Cadmium and Lead Heavy Metal Stress on Plant Growth and Physiology of Rocket (*Eruca sativa* L.). *KSU J. Agric Nat* 22(6): 843-850. DOI: 10.18016/ksutarimdogan.vi.548626
- Yılmaz, T., 2015. Ağır metallerin (kurşun, çinko, bakır ve kadmiyum) bazı karayosunu türlerinin klorofil içeriği üzerine etkisi. Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Niğde.
- Yimsek, F.S., 2007. Kadmiyum ile kirlenmiş topraktan Cd(II) iyonlarının yıkanması ve elektrokimyasal olarak gideriminin araştırılması. Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Mersin.
- Yu, G.F., Jiang, X., He, W.X., He, Z.G., 2002. Effect of humic acids on species and activity of cadmium and lead in red soil. *Acta Scientiae Circumstantiae* 22(4), 508-513.

- Zahra, N., Kalim, I., Mahmood, M., Naeem, N., 2017. Perilous effects of heavy metals contamination on human health. *Pak. J. Anal. Environ. Chem.*, 18(1), 1-17.
- Zincircioğlu, N., 2013. Investigation of the heavy metal contents of some agricultural lands in the region of Manisa-Akhisar. *Ege Univ. Ziraat Fak. Derg.*, 50(3), 333-339.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Zeynep ALIM
Doğum Yeri:	Erzurum/Merkez
Uyruğu:	T.C.
Adres:	Tuzcuzade Mah. Bayburt Üniversitesi Baberti Külliyesi Üniversite Loj. B5 Blok No:2
Eğitim	
Lise:	Nenehatun Yabancı Dil Ağırlıklı Kız Lisesi (1998-2002)
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü (2003-2007)
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü (2013-2017)
Tezsiz Yüksek Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi (Fizik Öğretmenliği) Anabilim Dalı (2007- 2008)
Yüksek Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı, Atom ve Molekül Fiziği Bilim Dalı (2011- 2013)
Yüksek Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Sebze Yetiştiriciliği ve Islahı Bilim Dalı (2017-2020)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi
Görev Yaptığı Kurum ve Kuruluşlar	
Tarım ve Orman Bakanlığı Erzurum/Aziziye İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü (2017- 2018)	
Tarım ve Orman Bakanlığı Bayburt İl Tarım ve Orman Müdürlüğü (2018-Devam Ediyor)	