



DERLEME/REVIEW

BİTKİLERDE AĞIR METAL ZARARLARI ve KORUNMA MEKANİZMALARINI Beycan AYHAN, Yasemin EKMEKÇİ¹, Deniz TANYOLAÇ²

ÖZ

Yüksek derişimlerdeki metallere maruz kalan bitkilerde, “metal zararı” olarak adlandırabileceğimiz yapısal ve işlevsel değişiklikler oluşmaktadır. Metal zararı; metallerin, moleküllere bağlanmasıyla doğrudan, serbest radikal oluşumunu artırmasıyla da dolaylı yoldan meydana gelmektedir. Metal zararından korunma; metal alınımından sakınma, biriktirme ve savunma olmak üzere farklı mekanizmalar ile sağlanmaktadır. Metal zararından etkilenme derecesi, bitkinin türüne, maruz kalınan metalin çeşidine ve derişimine bağlı olarak değişiklikler göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Ağır metal, Metal zararı, Savunma mekanizmaları

HEAVY METAL TOXICITY IN PLANTS AND THEIR DEFENCE MECHANISMS

ABSTRACT

Functional and structural changes specified as metal toxicity take places in plants exposed to heavy metals at high concentrations. Metal toxicity occurs both directly and indirectly by binding metals to molecules and increasing formation of free radicals. The tolerance of plants to metal toxicity is achieved by different mechanisms: suppression of metal uptake, accumulation and defence to the metal. The degree of damage caused by metals depends on species of the plant, metal and its concentration.

Key words: Heavy metal, Metal toxicity, Defence mechanisms

¹ Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Beytepe 06800 Ankara, yase@hacettepe.edu.tr

² Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Beytepe 06800 Ankara

1. GİRİŞ

Yapay olarak elde edilenlerle beraber sayıları 109'u bulan elementler (Petrucci ve Harwood, 1993a), metaller ve ametaller olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Metallerle ametaller arasındaki temel fark, tepkimelerdeki elektron alma-verme istekleridir. Elementlerin büyük çoğunluğunu oluşturan metaller, tepkimelerde elektron verme eğilimindedirler. Bitkilerdeki zararları incelenirken metal yerine daha çok "ağır metal" terimi kullanılmaktadır. Yoğunluğu 5 gramın üzerinde olan çinko [Zn ($7.1g/cm^3$)], krom [Cr ($7.2g/cm^3$)], kadmiyum [Cd ($8.6g/cm^3$)], nikel [Ni ($8.7g/cm^3$)], bakır [Cu ($8.9g/cm^3$)], kurşun [Pb ($11.4g/cm^3$)], civa [Hg ($13.5g/cm^3$)] gibi metaller ağır metal olarak tanımlanırlar. Bununla beraber alüminyum [Al ($2.75g/cm^3$)] gibi hafif metallerde benzer zararları gösterirler. Metallerin bazıları [Cu , Zn , Fe (demir), Mn (manganez), Mo (molibden), Ni , Co (kobalt)] bitki ve hayvanların gelişmesi için gerekli mikro besin elementleridir. Mikro besin elementi olsun ya da olmasın bütün metaller belli bir derişimin üzerinde, canlılar için zararlıdır.

Çevre kirliliği yaratan metal kirleticilerin, etkilediği ortamın niteliğine göre kirlilik; hava, su ve toprak kirliliği olarak sınıflandırılabilir. Hava kirliliği içerisinde endüstrinin payı ülkeden ülkeye değiştiği gibi ülkelerin endüstride kullandığı teknolojiye göre de değişiklik göstermektedir. Demir çelik ve metal endüstrisi, maden endüstrisi, kimya endüstrisi, petrol endüstrisi, kağıt endüstrisi, tekstil endüstrisi, çimento endüstrisi hava kirliliğine neden olan başlıca endüstri kuruluşlarıdır. Toprak kirliliği, bilindiği gibi temizlenmesi zor, kimi zaman da mümkün olmayan tehlikeli bir ortam yaratır. Bilinçsizce yapılan ilaçlama, gübreleme ve sulama, kaliteli ve birinci sınıf toprakların yerleşim ve çeşitli endüstri kuruluşları için kullanıma açılması, toprak kirliliğini hızlandırmıştır. Toplumun yapısı değişip kentleşme ve endüstrileşme süreci geliştikçe, su kaynaklarının çok yönlü kullanımı artmakta pek çok metal kirleticiler de sulara karışıp su kirliliği yaratarak, su kaynaklarının sulama, şu ürünleri vb. çeşitli amaçlar için kullanılabilirliğini azaltmaktadır. Tarım ilaçları, böcek öldürücüler, kimyasal gübreler, evlerden, ticaret ve sanayi kuruluşlarından kaynaklanan atıkları da su kirliliğine neden olmaktadır.

Çevre kirliliği yaratan kirleticiler içinde en tehlikelisi olan ağır metal kirlenmesinin önüne geçmek için, endüstriyel kuruluşların atık suları fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler olmak üzere üç ana grupta arıtılmaktadır. Bunlardan fiziksel arıtmada çökeltme ve flotasyon işlemleriyle çökebilene veya yüzebilene tanecikler ayrılmakta; kimyasal arıtmada çözünmüş ya da kolloidal boyuttaki tanecikler pıhtılaştırılıp yumaklaştırılarak çökebilir hale getirilmekte; biyolojik arıtmada ise çözünmüş maddeler kısmen biyolojik kütlelerin biraraya gelerek oluşturduğu kolay çökebilene yumaklara, kısmen de mikroorganizmaların enerji ihtiyaçları için yaptıkları solunum sıra-

sında çıkan gazlara ve diğer stabilize olmuş son ürünlere dönüşmektedir. Biyolojik ve kimyasal arıtma ünitelerinin yükünü azaltmak için, öncelikte fiziksel ön işlemler uygulanır. Mekanik arıtma olarak isimlendirilen ve genellikle ızgara, kum tutucu ve ön çökeltim ünitelerinden oluşan ön işlemlerden sonra, biyolojik ve/veya kimyasal arıtma uygulanabilir. Biyolojik ya da kimyasal arıtmada oluşan yumaklar, mekanik işlemlerle sudan uzaklaştırılır. Ancak bu yöntemlerin maliyetinin yüksek olması arıtımın düzenli olarak yapılmasını engellemektedir. Maliyeti düşürmek için ekonomik değeri olmayan bazı bitki atıklarının örneğin; ceviz kabuğu (Randall vd., 1974), yer fıstığı kabuğu (Randall vd., 1975; Randall vd., 1978), soğan kabuğu (Kumar ve Dara. 1992), elma posası (Maranon ve Sastre, 1991), pirinç kabuğu (Tang vd., 2003), atık çay yaprakları (Tee ve Khan, 1998) vb. arıtma işlemlerinde kullanılmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır.

Bazı bitkiler metalleri yüksek oranda biriktirebilirler. Diğer bitkilerden en az yüz kat daha fazla miktarda bir ya da birden fazla metali, hiçbir zarar görmeden biriktirebilen bu tip bitkilere hiperakümülatör (metalbiriktirici) bitkiler denilmektedir. Günümüzde metalleri yüksek oranda biriktirebilmelerinden dolayı metalbiriktiricilerin yüksek düzeyde metal içeren toprak ve suların iyileştirilmesinde kullanılmasına yönelik çalışmalar giderek önem kazanmaktadır. Bu tür iyileştirme işlemine yani doğayı yine doğadan faydalanarak (bitki kullanarak) temizleme yöntemine fitoremediasyon denir. Fitoremediasyonun diğer temizleme yöntemlerine göre; geniş alanlara uygulanabilmesi, çevreyle dost olması, güzel görünmesi, maliyetinin daha az oluşu (Saxena vd., 1999; Clemens vd., 2002; Pulford ve Watson, 2003; Torresdey vd., 2005) gibi bir çok avantajı vardır. Fitoremediasyonda kullanılan bitkiler daha çok kalamın ve serpentin tipi topraklarda yetişmektedirler. Bu topraklardan kalamın Zn , Pb , Cd ve serpentin Ni , Cr , Co metallerini yüksek derişimlerde içermektedir (Greger, 1999). Evrimsel gelişimleri süresince bu topraklarda yüksek derişimlerde metale maruz kalmış bitkiler, metallere dayanım mekanizmaları geliştirerek yaşamlarını sürdürebilmişlerdir. Günümüzde 400'e yakın metalbiriktirici bitki türü saptanmıştır (Barazani vd., 2004; Deng vd., 2004; Filho vd., 2004; García vd., 2004; Matthews vd., 2004; Pawlak vd., 2005; Wójcik vd., 2005; Zhou vd., 2005). Brassicaceae familyası 11 cins, 87 türle en fazla metalbiriktirici bitkiye sahip familyadır. Metalbiriktirici bitkiler içinde özellikle *Thlaspi* ve *Alyssum*'a ait bazı türler (Auda vd., 2002; Kidd ve Monterroso, 2005), kütlelerine oranla oldukça yüksek miktarlarda metal biriktirebilmektedirler. Örneğin *Thlaspi caerulescens* çinko ve kadmiyum biriktirebilen bir metalbiriktiricidir. Tipik bir bitki 100 ppm çinko ve 1 ppm kadmiyum biriktirebilirken, *Thlaspi caerulescens* 30000 ppm çinko ve 1000 ppm kadmiyumu hiç zarar görmeden biriktirebilir (Brown vd., 1995).

2.BİTKİLERDE METAL ALINIMI

Bitkilerin, havada gaz halinde bulunan metalleri stomaları aracılığıyla alabildikleri ayrıca iyon halinde metallerin ise yaprakların kutikula tabakasından geçebildiği (Martin ve Juniper 1970; Lindberg vd., 1992; Marschner, 1995) yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak karasal olanlar başta olmak üzere bitkiler, metalleri çoğunlukla kökleri aracılığıyla alırlar. Metaller topraklarda kolloidlere tutunmuş halde, organik maddelere bağlı halde ve toprak çözeltisi içinde iyon halinde bulunurlar. Bitkiler ancak toprak çözeltisi içindeki iyon halindeki metalleri alabilirler. Koşulların değişmesi (pH, sıcaklık, organik madde miktarı, diğer metallerin varlığı, mikroorganizmalar vb.) toprak çözeltisi içindeki metal derişimini değiştireceğinden metal alınımını da etkileyecektir. Örneğin pH'ın düşmesi ortamdaki H⁺ iyonlarının artmasına neden olmaktadır, artan H⁺ kanyonları, metal kanyonlar (molibdenin anyon formu da bulunduğu için istisnadır) ile rekabete girmekte, kolloidlere tutunmasını engellemekte ve böylece metallerin toprak çözeltisi içindeki derişiminin artmasına neden olmaktadır (Marschner, 1995; Greger, 1999).

Metal alınımı, bitki türüne bağlı olarak da değişiklik göstermektedir. Kök kanyon değişim kapasitesi, kök yüzey alanı gibi özellikler metal alınımını etkilemektedir. Ayrıca bitkiler rizosfer pH'ını değiştirerek (Jackson vd., 1990; Muranyi vd., 1994), ya da rizosfere malat, sitrat, musilaj gibi maddeler salgılayarak (Greger ve Lindberg, 1986; Jackson vd., 1990; Puthotá vd., 1991) aldıkları metal miktarını değiştirebilmektedirler.

Bazı durumlarda bir metal diğer bir metalin alınımını arttırabilmekte ya da azaltabilmektedir (He vd., 2005; Lombardi ve Sebastiani, 2005).

Kuvvetli metal bağlayıcı sentetik kimyasallar [Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) ve Etilen diamin disuksinik asit (EDDS) gibi] da metallerin çözünürlüğünü arttırmakta ve metallerin bitkiler tarafından alınımını kolaylaştırmaktadırlar (Luo vd., 2005).

3. BİTKİLERDE METAL TAŞINIMI

Köklerden alınan metaller ksilem aracılığı ile gövde ve yapraklara taşınmaktadır. Taşınım bitki türüne ve metal çeşidine göre farklılıklar göstermektedir. Ni, bazı bitkilerin ksileminde Ni-peptit kompleksi şeklinde taşınırken (Cataldo vd., 1978), metalbiriştirici (hiperakümülatör) bitkilerde nikelin histidin aminoasiti ile kompleks oluşturarak taşındığı saptanmıştır (Krämer vd., 1996). Bazı ağır metaller ise (örneğin Cd) iyon halinde ksilemde taşınabilmektedir (Mench vd., 1988). Bunun yanı sıra organik asitlerin de taşınmada rol oynadığı bildirilmiştir (Greger, 1999). Floem aracılığı ile taşınımın olup

olmadığının araştırmasına yönelik çalışmalarda, Cd uygulanmış yapraklarda kısmi bir taşınım söz konusu olsa da (Greger vd., 1993), Cd, Cu ve Zn ile yapılan çalışmalarda, bu ağır metallerin yapraklardan köklere uzanan bir taşınımının olmadığı saptanmıştır. Muhtemelen floemin, metalleri bağlayabilen iyon ve moleküllere sahip canlı hücre içermesi metallerin taşınmasını zorlaştırmaktadır (Greger, 1999).

4. AŞIRI METAL ALINIMININ BİTKİLERDE YOL AÇTIĞI ZARARLAR

Aşırı metale maruz kalma, bitkilerde bir çok değişikliğe neden olmaktadır. Bu değişikliklerin yol açtığı zararların bir kısmı gözle görülebilir ve ölçülebilir (morfolojik değişiklikler) düzeyde iken, birçoğunun saptanabilmesi ise karmaşık biyokimyasal analizler gerektirmektedir.

4.1 Morfolojik Değişiklikler

Metal zararının ilk ve en belirgin etkisi köklerde görülür. Yüksek metal derişimine maruz kalmış bitkilerde kökler, normal bitki köklerine göre oldukça kısa kalmakta ve saçak kök sayısında azalma, yan köklerde artma ya da azalma görülebilmektedir. Bunların dışında köklerde lignifikasyon ile epidermis ve hipodermiste bazı yapısal değişikliklerde saptanmıştır. Metal alınımı devam ettikçe etkisi gövde de gözükmekte ve gövde uzaması da etkilenmektedir. Gerek kök ve gerekse gövdenin yaş ve kuru ağırlıklarında azalma meydana gelmekte ve bitki büyümesi yavaşlamaktadır. (Barceló ve Poschenrieder, 1990; Punz ve Sieghardt, 1993; Hagemeyer ve Breckle, 1996; Peralta vd., 2000; Munzuroğlu ve Geçkil, 2002; Stolt vd., 2003; Köleli vd., 2004; Sharma vd., 2004; Chaoui ve Ferjani, 2005; Lombardi ve Sebastiani, 2005). Ayrıca metal çeşidine ve derişimine bağlı olarak yaprak şekillerinde değişiklik, yapraklarda alan küçülmesi, sararma ve nekrotik leke oluşumu da görülmektedir. Lanaras ve arkadaşları (1993) yaptıkları çalışmada; yüksek derişimde Cu uygulamasının *Triticum aestivum* yapraklarının küçülmesine, yaprak kuru ve taze ağırlığında azalmaya neden olduğunu tespit etmişler, protein ve klorofil miktarında da azalma saptamışlardır. Lombardi ve Sebastiani (2005) adlı araştırmacılar tarafından yapılan bir çalışmada belirli derişimlerdeki Cu metalinin yapraklarda senesense ve nekrotik lekelerle neden olduğunu saptanmıştır.

4.2 Biyokimyasal Değişiklikler

Metaller, ya işlevsel ve yapısal molekülleri etkileyerek doğrudan, ya da serbest radikal oluşumunu artırarak dolaylı yoldan etki ederler. Fazla metal alınımından etkilenen işlevsel moleküllerin başında enzimler gelmektedir.

4.2.1 Enzim İnaktivasyonu

Metaller, çoğunlukla enzimlerin aktif bölgelerde bulunan sülfidril gruplara bağlanarak inaktivasyona neden olurlar. Ros ve arkadaşlarının (1990) *in-vitro* koşullarında yaptıkları çalışmada, Pb ve Cd'un belli derişimlerinin, Ribuloz 1-5 bifosfat karboksilaz/oksijenaz (Rubisco) ve fosforibulokinaz enzimlerini inhibe ettiğini belirlemişler ve tam inhibisyon için Pb ve Cd'un milimolar düzeyinde olması gerektiğini saptamışlardır. *Hordeum vulgare* L. bitkisi ile yapılan çalışmalarda; Cu ve Mn'in yüksek derişimlerinin rubisco, glutamat sentaz ve glutamin sentetaz enzimlerinin aktivitelerini değişik oranlarda etkilediği tespit edilmiştir (Demirevska-Kepova vd., 2004). Cu, Zn, Cd, Pb, Ni ve Mn gibi metallerle yapılan araştırmalarda, bu metallerin farklı derişimlerinin, rubisco, PEP-karboksilaz, 3-fosfogliseric asit kinaz, NADP bağımlı gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz, Fruktoz-1,6-bifosfataz, Adenozin-difosfat glukoz pirofosforilaz, Fruktoz 6-fosfat, 2 kinaz gibi bir çok enzimin inaktivasyonuna neden olduğu saptanmıştır (Tablo 1).

Metallerin bazıları enzimlerin aktivitelerini arttırabilirler. Drażkiewicz, (1994) yaptığı bir çalışmada Hg, Zn, Cu gibi ağır metallerin belli derişimlerinin pirinç yapraklarında klorofilaz enziminin aktivitesini arttırdığını saptamıştır. Bunun yanısıra metallerin bazıları da enzimlerin çalışabilmesi için gerekli kofaktörlerdir. Ancak yüksek derişimdeki başka bir metalin bulunduğu ortamda bu metalin kofaktörün yerine geçmesiyle enzim aktivitesinde azalma görülebilir. Van Assche ve Clijters (1986) adlı araştırmacıların yaptığı çalışmada başka metallerin yüksek derişimlerde bu kofaktör metallerin yerine geçtiği saptanmıştır. Rubisco enziminin kofaktörü Mg (magnezyum) olup, yüksek derişimde Zn içeren ortamda, Zn'nun Mg yerine geçtiği ve enzim aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir. Benzer bir durum Fe içeren süperoksit dismutaz (SOD) enziminde de görülmektedir. Mg bu enzimde Fe yerine geçebilmektedir (Vance ve Miller, 1998).

Antioksidant enzimlerde de, bitki çeşidine göre değişmekle birlikte, belirli metal derişimlerinde aktivasyon ya da inaktivasyon görülebilmektedir (Bölüm 5.2)

Tablo 1. Metal stresine maruz kalan bitki türlerinde inhibisyona uğrayan bazı enzimler (Prasad ve Strzalka, 1999).

Bitki türleri	Enzim	Metal	Kaynak
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Ribuloz 1-5 bifosfat karboksilaz/oksijenaz, PEP-karboksilaz, 3-fosfoagliseric asit kinaz, NADP bağımlı gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz, Peroksimal enzimler	Zn	Van Assche ve Clijters (1986)
<i>Hordeum vulgare</i>	Ribuloz 1-5 bifosfat karboksilaz/oksijenaz	Cd, Cu, Pb	Stiborova vd. (1986)
<i>Nicotiana tabacum</i>	Ribuloz 1-5 bifosfat karboksilaz/oksijenaz	Mn	Houtz vd. (1988)
<i>Cajanus cajan</i>	Ribuloz 1-5 bifosfat karboksilaz/oksijenaz PEP-karboksilaz, 3-fosfoagliseric asit kinaz, NADP bağımlı gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz Fruktoz-1,6-bifosfataz, Aldolaz	Cd, Ni	Sheoran vd. (1990)
<i>Pisum sativum</i>	Ribuloz 1-5 bifosfat karboksilaz/oksijenaz	Cu	Angelov vd. (1993)
<i>Triticum aestivum</i>	Ribuloz 1-5 bifosfat karboksilaz/oksijenaz, Fruktoz-1,6-bifosfataz, Adenozin-difosfat glukoz pirofosforilaz, Fruktoz 6-fosfat, 2 kinaz	Cd	Malik vd. (1992)
<i>Zea mays</i>	PEP-karboksilaz, 3-fosfogliseric asit kinaz	Cd, Cu, Pb, Zn	Stiborova vd., (1986)

4.2.2 Metallerin Zarlar Üzerine Etkisi

Metallerin yapısal moleküller üzerinde de olumsuz etkileri vardır. Sadece moleküler düzeyde değil aynı zamanda o molekülün yapısında bulunduğu biriminde etkilenmesi nedeniyle daha üst düzeyde (moleküler üstü) de bir zarar söz konusudur. Hücre zarının büyük bir kısmını oluşturan zar lipitleri bir çok fonksiyondan sorumludurlar. Metal stresi altında hücre zarı lipitlerinin kompozisyonunda meydana gelecek bir değişiklik, hücre zarının yapısını ve fonksiyonlarını da etkiler. Metaller lipitlere bağlanarak hücre zarının yapısını ve fonksiyonlarını değiştirirler (Akeson vd., 1989; Lindberg ve Griffiths, 1993; Jones ve Kochian, 1997). Bir çok metal yüksek derişimlerde fosfolipitlerin baş kısmına yani fosfatın bulunduğu elektron verici bölgeye bağlanarak bu lipitlerin kompozisyonunun değişmesine neden olmaktadır. Jones ve Kochian (1997) yaptıkları çalışmalarda, alüminyumun, hem hücre zar lipitlerinin sentezini etkileyerek hem de zar üzerindeki fosfolipitlerin baş gruplarına negatif bölgelerden bağlanarak zarar verdiğini saptamışlardır. Hücre zarı kompozisyonunda meydana gelen değişiklikler hücre zarı akışkanlığının değişmesinin yanında, zara bağlı enzimlerin yapısının ve aktivitelerinin de değişmesine neden olmaktadır (Ros vd., 1990, 1992). Al, Cu ve Ni'in belirli derişimlerde uygulanması sonucu, hücre zarında bulunan ATPaz enziminin aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (Kennedy ve Gon-salves, 1987; Ros vd., 1990, 1992; De Vos vd., 1991; Lindberg vd., 1991; Lindberg ve Griffiths, 1993).

Hücre zarı dışında zar özelliği gösteren birçok yapı (kloroplast zarı, mitokondri zarı, E.R, tilakoyit zar vb.) doymamış yağ asitleri ve özellikle de fosfolipit içerdiklerinden, yüksek metal derişimlerinden olumsuz etkilenmektedirler.

4.2.3 Fotosentezin İnhibisyonu

Metallerin fotosentez üzerindeki etkileri en fazla araştırılan konuların başında gelir. Birçok metal, belirli derişimlerin üzerinde, fotosentez hızının azalmasına neden olur. Fotosentez hızının azalmasının nedenleri şunlardır:

4.2.3.1 Pigment sentezinin engellenmesi

Başta Cd olmak üzere metaller, özellikle δ -amino levulinik asit dehidrojenaz ve protoklorofilid redüktaz enzimlerini (sülfidril gruplarına bağlanarak) inhibe ederek klorofil sentezini engellerler (Gadallah, 1995a,b; Ouzounidou, 1995). *Lolium perenne* bitkisi artan derişimlerde Zn'ya maruz bırakıldığında yapraklarındaki klorofil içeriğinin ve klorofil a/b oranının deri-

şim artışına bağlı olarak azaldığı saptanmıştır (Monnet vd., 2001).

4.2.3.2 Kloroplastların yapı ve fonksiyonlarında değişiklikler

Özellikle tilakoyit zarların metallerle etkileşimi sonucu yapısal ve fonksiyonel zararlar (elektron transferinin aksaması gibi) meydana gelir (Krupa ve Bazyński, 1995). Bazyński ve arkadaşları (1980) yaptıkları çalışmada, Cd uygulanmış bitkilerin kloroplastlarında yapısal bozukluklar (büyük plastoglobuli oluşumu, lamellerin yapısal organizasyonunda değişiklikler) saptamışlardır.

4.2.3.3 Fotosistemlerde inhibisyon

Yüksek derişimlerde metallerin, 25 alt üiteden oluşmuş fotosistem II (PS II)'de birçok bölgeye zarar verdiği saptanmıştır. *Vigna unguiculata* bitkisine çeşitli derişimlerde Cd uygulamasının PSII de bulunan 17, 23, 33 ve 43 kilodaltonluk polipeptitlerin yapısının bozulmasına neden olduğu görülmüştür (Nedunchez-hian ve Kulandaivelu, 1995). 17, 23 ve 33 kilodaltonluk polipeptitlerin iki önemli görevi vardır; PSII'nin stabilizasyonunu sağlarlar ve suyun parçalanması (Hill reaksiyonu) ile elektronun klorofil pigmentine aktarılmasında görev alırlar. Ayrıca PSII'de bulunan D₁ proteininde yapısının bozulduğunu gösteren çalışmalar vardır (Hideg vd., 1994). Cd, Co, Cu, Hg, Ni, Pb ve Zn ile yapılan çalışmalarda (Clijster ve Van Assche, 1985; Bazyński, 1986; Drażkiewicz, 1994; Sigfridsson vd., 2004) bu metallerin belirli derişimlerinin PSII üzerinde inhibisyona neden olduğu saptanmıştır.

Fotosistem I (PS I) üzerinde de metaller yüksek derişimlerde zararlı etki gösterirler. Cu, Pb ve Zn'un belirli derişimleri PSI'in çeşitli bölgelerinde zarara neden olmaktadır (Miles vd., 1972; Radmer ve Kok, 1974).

Bunların dışında Cu, Hg, Ni, Cd metallerinin belirli derişimlerinin Plastosiyanin ve Ferrodoksin basamaklarında inhibisyona neden olarak fotosentezi etkiledikleri gösterilmiştir (Shioi vd., 1978; Veeranjaneyulu ve Das 1982; Lidon ve Henriques, 1993; Siedlecka ve Bazyński, 1993).

4.2.3.4 Kalvin döngüsü enzimlerinin inhibisyonu

Daha öncede bahsedildiği gibi Ribuloz 1-5 bifosfat karboksilaz enzimi başta olmak üzere Kalvin döngüsünde yer alan enzimlerin bazıları çeşitli metallerin belirli derişimlerinde inhibe olmaktadır (Prasad ve Strzalka, 1999).

4.2.3.5 Stomaların kapanması

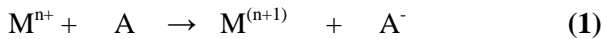
Barceló ve arkadaşları (1986a,b) yaptıkları çalışmalarda, Cd uygulamasının bekçi hücrelerinde su ve iyon (K^+ ve Ca^{+2}) taşınımını değiştirdiği bunun sonucunda stoma açılmasının inhibe olduğunu saptamışlardır. Stomalar bitkilerin gaz alışverişinin yapıldığı açıklıklar olduğu için stomaların açılıp kapanmasında ki değişiklikler fotosentez hızını etkilemektedir.

Metallerin diğer hücre organelleri üzerinde de olumsuz etkileri vardır. Örneğin mitokondride yüksek metal derişimlerinin, mitokondri zarlarını, elektron transport sistemini, adenin nukleotit ve fosfat transportunu, mitokondri zarlarının K^+ , H^+ , Cl^- geçirgenliğini, fosforilasyonu ve sitrat döngüsünü etkilediğini gösteren bir çok çalışma yapılmıştır (Brierley, 1977; Fernandes ve Henriques, 1991; Murphy ve Taiz, 1997; Lösch ve Köhl, 1999).

4.3 Metallerin Serbest Radikal Oluşumu Üzerindeki Etkileri

Metaller hücre içinde serbest radikal oluşumunu indüklerler ve dolaylı yoldan lipit peroksidasyonuna, nükleik asitlerin zarar görmesine, klorofil parçalanmasına ve fotosentezin inhibisyonuna neden olurlar. Metaller farklı yollardan serbest radikal oluşumu üzerinde etkili olabilmektedirler.

i. Metal iyonundan doğrudan elektron transferi ile serbest radikal oluşumu: Mn, Fe, Co ve Cu gibi metaller tek elektron tepkimelerinde rol alırlar. Bu metaller alıcı (akseptör) moleküllere elektron aktararak onların serbest radikal haline dönüşmesine neden olurlar (1).



Böyle bir tepkime (1) sonucu biyolojik sistemlerde hidroksil-, lipoksi-, tiyol-, fenil-, ve nitroksit- radikalleri gibi oksijen, sülfür, nitrojen, ve karbon merkezli serbest radikaller oluşabilir (Kalyanaram, 1996; Dietz vd., 1999).

ii. Metal iyonlarının metabolik tepkimeler ile etkileşimi sonucu serbest radikal oluşumu: Bu tür tepkimelere Mehler tepkimesi örnek verilebilir. Yüksek metal derişimi, yüksek ışık gibi uygun olmayan (stres) koşullarda elektron iletimi aksar ve elektron, ortamda bulunan oksijen tarafından alınarak süperoksit (O_2^-) radikali oluşur. Yüksek metal derişimlerinde fotosentetik birimlerde meydana gelebilecek bir inhibisyon (plastosiyanın düzeyinde inhibisyon, ferrodoksin düzeyinde inhibisyon, Kalvin döngüsü enzimlerinin inhibisyonu gibi) elektron iletimine ve elektronun alıcı (akseptör) moleküllere ulaşmasına engel olabilir. Bu durumda elektron sızması olarak tanımlanan olay meydana gelir ve elektronun ortamdaki oksijen tarafından alınmasıyla sonuçlanan Mehler tepkimesi oluşur. Mehler tepkimesi

sonucu oluşan süperoksit radikali, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından hidrojenperoksit (H_2O_2) oluşan H_2O_2 ise askorbat peroksidaz (APX) enzimi ile H_2O ya çevrilerek zararsız hale getirilir. Tüm bu tepkimeler olurken ortamda hem süperoksit radikali hem de hidrojen peroksit radikalleri bulunmaktadır. Bu radikaller birbirleriyle tepkimeye girerek çok daha tehlikeli bir radikal olan hidroksil radikali (OH^\cdot) meydana getirirler (Haber-Weiss tepkimesi). Normal şartlarda bu reaksiyon çok yavaş yürüdüğünden hücreye fazla zararı olmamaktadır. Ancak Fe, Cu gibi metallerin yüksek derişimlerinde bu reaksiyonun hızlandığı (Fenton tepkimesi) saptanmıştır (Hausladen ve Alscher, 1993).

5. BİTKİLERİN METAL ZARARINDAN KORUNMA MEKANİZMALARI

Metal zararından korunmak için bitkiler; maruz kaldıkları metalin çeşidine ve derişimine bağlı olarak birçok mekanizma geliştirmişlerdir:

5.1 Metal Alınımından Sakınma

Bazı bitkiler rizosferdeki pH'ı artırarak, metal alınımını azaltacak yöntemler geliştirmişlerdir. pH artınca metallerin hareketliliği (mobilitesi) azalmaktadır (Jackson vd., 1990). Bazı organik asitlerin rizosfere verilmesi ve burada metallere bağlanması (şelasyonu), metal alınımının azalmasına neden olabilmektedir. Malat ve sitrat gibi organik asitler ile hücre dışı şelasyon alüminyum alınımında önemlidir. Buğday bitkisi belli konsantrasyonlarda alüminyuma maruz kaldığında kök ucunda malat çıkışı görülmektedir (Delhaize vd., 1993). Kadmiyumun da şelat (metal+elektron verici moleküller) formunda kökler tarafından alınmadığı gösterilmiştir (Greger ve Lindberg, 1986). Çeşitli karbonhidratları içeren ve köklerin apikal zonlarından salgılanan musilaj da metallerle yüksek oranda bağlanma kapasitesine sahiptir (Puthota vd., 1991). Kök dışında metal şelasyonunun metal alınımını azalttığını gösteren çalışmalar kadar, bu tür şelasyonların tam tersi etki göstererek metallerin alınımının artmasına neden olduğunu gösteren çalışmalarda vardır. Bir diğer metal zararını engelleme mekanizması da, alınmış metal iyonlarının serbest formda ya da kompleks halde tekrar rizosfere geri verilmesidir (Jackson vd. 1990).

5.2 Antioksidant Savunma Sistemi

Metaller doğrudan etkileri yanında, serbest radikal oluşumunu teşvik ederek dolaylı yoldan da bir çok zarara (oksidatif stres) neden olurlar. Biyolojik sistemlerde hidroksil-, lipoksi-, tiyol-, fenil-, ve nitroksit- radikalleri gibi oksijen, sülfür, nitrojen, ve karbon merkezli serbest radikaller oluşabilmektedir. Bunlar için de özellikle aktif oksijen türleri (AOT) dediğimiz hidroksil (OH^\cdot), süperoksit (O_2^-), ve hidrojen peroksit (H_2O_2) radikalleri metal stresine maruz kalan bitkiler-

de bitkiye zarar verecek düzeylere çıkabilmektedir (Shah vd., 2001). Bitkiler serbest radikallerin zararlarından korunmak için kompleks bir antioksidant savunma sistemine sahiptir (Alsher 1997). Antioksidant terimi, aktif oksijen türlerini, kendisi bir yıkıcı radikale dönüşmeden, baskılayan bir molekül olarak tanımlanabilir. Antioksidant savunma sistemi, enzimleri ve bazı indirgen molekülleri içeren bir sistemdir. Enzimler (süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, dehidroaskorbat peroksidaz vd.) metaller üzerinde doğrudan etkili değildirler, yalnızca oluşan serbest radikalleri çeşitli dönüşümler yaparak etkisiz hale getirirler. Örneğin aktivite gösterebilmek için metale gereksinim duyan SOD enzimi (Mn-SOD, Cu/Zn-SOD and Fe-SOD) O_2^- radikalini, H_2O_2 ve H_2O ya parçalamaktadır. Oluşan H_2O_2 bir aktif oksijen türü olup askorbat peroksidaz (APX) ve katalaz (CAT) enzimleri tarafından zararsız hale getirilir (Alsher vd., 1997). Enzimler sadece serbest radikalleri etkisiz hale getirirler oysa antioksidant savunma sisteminin diğer bir parçası olan indirgen moleküller (glutatyon, askorbat, vitamin E, fenolik bileşikler, flavonoidler, ligninler, taninler vb.) hem serbest radikalleri etkisiz hale getirirler hem de bazıları metallere bağlanıp metal derişimini azaltarak da metal zararının azalmasında rol oynarlar (Dietz vd., 1999).

Lombardi ve Sebastiani adlı araştırmacılar (2005) yaptıkları çalışmalarında, Cu metalin farklı derişimlerinin *Prunus cerasifera* bitkisi üzerindeki etkilerini in vitro koşullarda incelemişler ve belirli derişimlerde Cu uygulamasının, CAT ve SOD enzimlerinin aktiviteğini arttırdığını tespit etmişlerdir. Böylece yüksek derişimdeki Cu'nun neden olduğu serbest radikal artışı bu enzimlerin aktiviteleindeki artış ile dengelenmekte ve serbest radikallerin zararı engellenmektedir. Birçok çalışma, antioksidant enzim aktiviteleindeki artışın, bitkinin metal zararından korunma yollarından biri olduğunu göstermektedir. Shah ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, *Oryza sativa* L. bitkisinin iki kültür çeşidi belirli derişimlerde Cd'a maruz bırakıldıklarında, O_2^- oluşumunun arttığı, buna bağlı olarak SOD enziminin aktivitesinde kontrole göre artış olduğu tespit edilmiştir.

Aşırı metal alımının antioksidant enzimlerinin aktiviteleleri üzerinde etkisi olduğu kesindir. Fakat bu etkinin, enzim aktivitelelerinde artış ya da azalış şeklinde olacağına dair bir genelleme yapılamamaktadır. Demirevska ve arkadaşlarının (2004) yaptıkları ayrıntılı çalışma böyle bir genelleme yapılamayacağını en güzel örneğidir. Bu çalışmada Cu ve Mn'in değişik derişimlerdeki uygulamalarının *Hordeum vulgare* L. bitkisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Araştırmalarda SOD, CAT, membran bağımlı APX, çözülebilir APX ve guaikol peroksidaz (GPX) enzimlerinin aktivitelelerine bakılmıştır. Düşük derişimde Cu uygulaması toplam SOD ve membran bağımlı APX enzim aktivitelelerini belirgin şekilde artırırken, CAT ve çözülebilir APX enzim aktivitelelerini düşürmüştür. Daha yüksek derişimlerde Cu uygulaması ise, SOD aktivitesini azal-

tırken, CAT ve GPX enzimlerinin aktivitesini artırmış ancak APX enzimlerinin aktivitelelerinde bir değişikliğe neden olmamıştır. Düşük derişimde Mn uygulaması SOD, APX ve CAT enzim aktivitelelerinde bir değişikliğe neden olmamış ancak Mn'in daha yüksek derişimlerinde, SOD ve APX enzimlerinin aktiviteleleri azalırken, CAT ve GPX enzim aktivitelelerinde artış gözlenmiştir.

Antioksidant enzimler, metal alımının belirli bir seviyenin üzerine çıkması durumunda, metal zararının üstesinden gelmesi için yeterli olmayabilir. Metaller, hem gen düzeyinde hem de yapısal ve işlevsel düzeyde zarar verip antioksidant enzimlerin de aktivitelelerini azaltabilirler. Diğer taraftan öldürücü olmayan fakat zarar verebilen düzeylerdeki metal girişinin, bitkinin türüne ve gelişim evresine, metalin çeşidine, derişimine ve metale maruz kalma süresine bağlı olarak, her metale özgün belirli bir derişim aralığında, antioksidant savunma sistemini teşvik ettiği ve bu sistem içerişindeki enzimlerin aktivitelelerinde artışa neden olduğu yapılan çalışmalarla saptanmıştır (Hegedüs vd., 2001; Vitória vd., 2001; Landberg ve Greger, 2002; Mascher vd., 2002; Schützendübel vd., 2002; Tewari vd., 2002; Verma ve Dubey, 2003; Zacchini vd., 2003; Qadir vd., 2004; Fatima ve Ahmad, 2005; Sharma vd., 2005)

5.3 Metalleri Ligandlara Bağlama ve Zarar Veremeyecekleri Bölgelerde Biriktirme

Bitkiler fazla metal iyonlarını, duyarlı metabolik aktivitelelerin olmadığı hücre yapılarında ve organellelerinde biriktirebilirler (Verklaj ve Schat, 1990). Bu bölgelerden biri hücre duvarıdır. Hücre duvarı matriksi, katyon değiştirme bölgesidir, ayrıca metalleri çeşitli oranlarda biriktirebilirler ve bazı metallerin dışarı verilmesini sağlarlar (Rausser, 1999). Yapılan çalışmalarda bitkilerin, yüksek derişimlerde metallere (Cr, Co, Ni, Zn, Cu, Mo, Cd ve Pb) maruz kaldıklarında bu metalleri ekstrasellular karbonhidratların bulunduğu bölgelerde ve hücre duvarında biriktirdikleri gösterilmiştir (Verklaj ve Schat, 1990; Wagner, 1993; Wang vd., 2003).

Metallerin biriktirildiği diğer önemli bölge ise hücre vakuolleridir. Bitkilerde metalleri taşıma ve biriktirmede ligandların rol aldığı saptanmıştır.

5.3.1 Ligandlara Bağlama

Ligand, bağlanmak anlamını taşıyan ligare sözcüğünden gelmektedir. Merkez metal atomuna ve iyonuna elektron çifti verebilen moleküller ligand olarak adlandırılırlar. Metaller, iki ya da daha fazla liganda bağlanarak şelat dediğimiz yapıları oluştururlar ve bu yüzden her zaman merkez atom konumundadırlar. Eğer ligandlar tek elektron çifti sunabiliyorlarsa tek dişli, iki veya daha fazla elektron çifti sunabiliyorlarsa çok dişli ligandlar olarak adlandırılırlar. Metaller çok dişli ligandlarla bağlanma eğilimindedirler ve oluştur-

dukları birliktelikler daha kuvvetlidir (Petrucci ve Harwood, 1993b; Gerloch ve Constable, 1994; Pohlmeier, 1999).

Canlılarda da ligand rolü oynayan bir çok molekül vardır ve bu moleküllerin metallere şelasyonu metal derişimini dolayısıyla da metal zararını azaltmaktadır. Bu yüzden ligandlar metal toleransında çok önemli rol oynamaktadırlar. Baker ve çalışma arkadaşları (2000) yaptıkları çalışmada ligandları elektron verici merkezlerine göre birkaç kategoride gruplandırmışlardır.

5.3.2 Oksijen Verici Ligandlar

Düşük molekül ağırlıklı organik asitlerin, bitkilerde metal zararının önlenmesinde yer aldığı uzun zamandan beri bilinmektedir. Karasal bitkilerde bolca bulunun bu tip organik asitlerin sahip oldukları karboksilik asit grupları metal iyonları ile kararlı kompleksler oluşturmaktadır. Rauser (1999), metal toleranslı bitki yapraklarında yaptığı çalışmada, metal uygulamasının, malat, akoninat, malonat, okzalit ve sitrat gibi organik asitlerin derişimini değıştirdiğini saptamış ve bunların şelatör gibi rol aldığını ileri sürmüştür. Bitki hücresinde, Zn'un malata bağlanarak oluşturduğu kompleksin vakuole geçtiğı, burada Zn'un oksalata bağlanarak vakuolde biriktirildiğı ve serbest kalan malik asitin tekrar stoplazmaya geçtiğı bildirilmiştir (Mathys, 1977; Harmens vd., 1994). Ni biriktiren bitkiler üzerinde yapılan çalışmalar, Ni'in sitrata bağlandığını ve üretilen sitrat miktarının da Ni birikimi ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (Brooks, 1998). Bu bulgular esas alındığında organik asitlerin metallere taşınmasında ve biriktirilmesinde rol aldıklarına dair hipotezler ileri sürülmüştür.

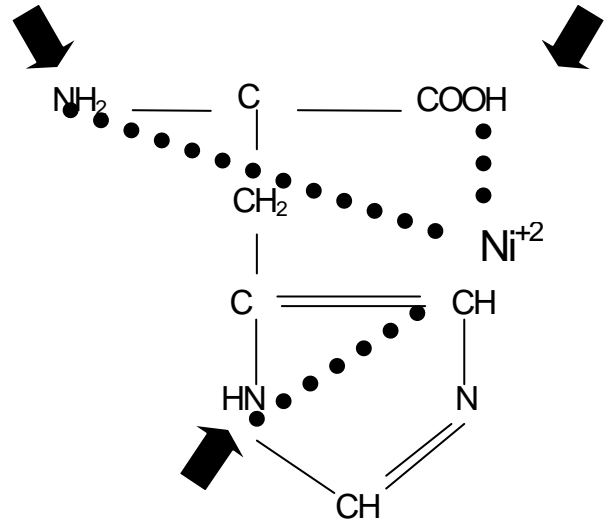
5.3.3 Azot Verici Ligandlar

Bitkilerde başlıca azot verici ligandlar, amino asitler ve onların türevleridir. Teorik olarak aminoasitler, hem amino grubunda bulunan azot hem de karboksilik grubunda bulunan oksijen aracılığı ile metallere bağlanabilirler. Yani aminoasitler aynı zamanda oksijen verici ligandlar olarak da adlandırılabilir. Ayrıca bazı aminoasitler yan gruplarında da elektron verici merkezler taşımaktadırlar (sistein yan grubunda sülfür, histidin ise yan grubunda bulunan halka yapısında elektron verici olarak azot taşımaktadır).

Aminoasitlerin metallere olan ilgileri, onların fizyolojik şartlarda (pH ~ 7) iyonlaşabilme yüzdeleriyle de ilişkilidir. Histidinin fizyolojik şartlarda iyonlaşma yüzdesi diğer amino asitlere göre yüksektir ve bu yüzden araştırmalar daha çok histidin üzerine yoğunlaşmıştır. Krämer ve arkadaşları (1996) *Allyssum* türleri üzerinde yaptıkları çalışmada, nikelin serbest histidine bağlanabildiğini göstermişlerdir. Ni üç bölgeden histidine bağlanabilmektedir (Şekil 1). *Allyssum thaliana* ve *Allyssum lesbiacum* türlerinde de serbest histidin mikta-

rının artışına paralel olarak Ni'e toleransın arttığı saptanmıştır (Wycisk vd., 2004)

Bitkilerde aminoasitlerin metal bağlama, taşıma ve biriktirmedeki rolleri ile ilgili çalışmalar çok sınırlı olmakla beraber bazı metallere aminoasitlerle oluşturdukları kompleksler (örneğin Ni-histidin), organik asitlerle yaptıkları komplekslere oranla daha fazla kararlılık göstermektedir (Pohlmeier, 1999).



Şekil 1. Nikelin histidin aminoasidine bağlanması (Pohlmeier, 1999)

5.3.4 Sülfür Verici Ligandlar

Yapılarında bulunan sülfür grupları ile metallere bağlanabilen moleküllerdir. Metalotiyoninler ile fitoşelatinler (farklı yoldan sentezlenmelerine ve bazı yapısal farklılıklarına rağmen bir çok kaynak tarafından metalotiyoninlerin bir sınıfı olarak kabul edilirler) bitkilerde metal zararlarının giderilmesinde rol oynayan en önemli sülfür verici ligandlardır. Aminoasitler gibi azot verici ligandlar ile malat, sitrat gibi oksijen verici ligandların esas görevi metal zararlarını gidermek değildir. Bu moleküller farklı amaçlarla sentezlenirler. Yapılarında bulundukları elektron verici merkezleri sayesinde metallere bağlanabilmeleri, onların metal zararlarının giderilmesinde yardımcı bir rol üstlenmelerine neden olmaktadır. Oysa metalotiyoninler ve fitoşelatinler hücre içinde başka amaçlar için üretilmezler, diğer ligandlardan farklı olarak, metal bağlayarak metal zararlarını azaltmak bu ligandların birincil görevleridir.

5.3.4.1 Metalotiyoninler

Metalotiyoninler ilk defa memeli dokularında (at böbreği) keşfedilmiş ve yüksek oranda Cd bağlayan proteinler olarak tanımlanmışlardır. Daha sonra bir çok hayvan ve bitki türünde çeşitli metalleri bağlayan çok sayıda benzer protein bulunmuştur. 1985 yılında alınan bir karar ile metalotiyoninlerin özellikleri şöyle tanımlanmıştır: Aromatik aminoasitleri ve histidin aminoasitini içermeyen, sistein-X-sistein yapısına sahip, yüksek oranda sistein içeren, düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir (Rausser, 1990). Metaller, metalotiyoninlerin yapısında bulunan sistein aminoasitlerinin sülfür gruplarına bağlanırlar ve şelatları oluştururlar. Böylece metal derişimi ve buna bağlı olarak metal zararı azalmaktadır.

Günümüzde metalotiyoninler üç sınıfta toplanmaktadır (Rausser, 1990) :

i. Sınıf I Metalotiyoninler : İlk olarak bulunan (at böbreğinden izole edilen) metalotiyonine benzer özellikler gösteren proteinlerdir. Bu proteinler gen ürünleridir ve ribozomlarda sentezlenirler.

ii. Sınıf II Metalotiyoninler : Sınıf I Metalotiyoninlere benzerler ve onlar gibi gen ürünleridir. Sadece sistein aminoasitinin yerleşimindeki farklılıkla sınıf I'den ayrılırlar.

iii. Sınıf III Metalotiyoninler : Fitoşelatinlerin oluşturduğu gruptur. Gen ürünleri değildir yani ribozomlarda sentezlenmezler. Enzim tepkimeleri sonucu oluşurlar (Rausser, 1990).

5.3.4.1.1 Fitoşelatinler

Aminoasitlerden oluşan protein yapısındaki bu polipeptidler, değişik şekillerde isimlendirilmiştir (Tablo 2). *Candida glabrata* ve *Schizosaccharomyces pombe* gibi bir çok mantar türünde de fitoşelatinler saptanmış (Murasugi vd., 1981; Mehra vd., 1988) olmasına rağmen çoğunlukla, bitkileri ve algleri içeren "Bitki" (Phyta) alemi içerisinde bulunan canlılar tarafından üretildikleri için fitoşelatin olarak adlandırılmaktadırlar.

Tablo 2. Fitoşelatinlerin terminolojisi (Prasad, 1999)

İsim	Kaynak
Kaditsin	Murasugi vd., 1981
Poli(γ -glutamil-sisteinil)glisin	Robinson ve Jackson, 1986
Fitometalotiyoninler	Tripathi vd., 1996
γ -glutamil-sisteinil izopeptitler	Stilmann, 1995
Metalopeptitler	Ernst vd., 1992
Fitoşelatinler	Grill ve Zenk, 1985; Rausser, 1990; Reddy ve Prasad, 1990; Stefens, 1990

İlk analizler fitoşelatinlerin sadece glutamat (Glu), sistein (Cys) ve glisin (Gly) aminoasitlerinden oluştuğunu göstermiştir. γ -Glu-Cys dipeptidleri 2 ile 11 arasında değişen sayılarda tekrar ederken (bitkilerde çoğunlukla 2-5 arasında değişir) terminal uçta bulunan

glisin aminoasiti sadece bir tanedir. Günümüzde, terminal uçta glisin aminoasiti yerine β -Alanin (Ala), serin (Ser) veya glutamat aminoasiti içeren fitoşelatin varyantları saptanmıştır (Zenk, 1996; Rausser, 1995, 1999; Cobbett, 2000). Yeni keşfedildikleri dönemlerde fitoşelatinlerin(1) glutasyonlarla (2) olan benzerliği sentezlerinin glutasyon metabolizması ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür.

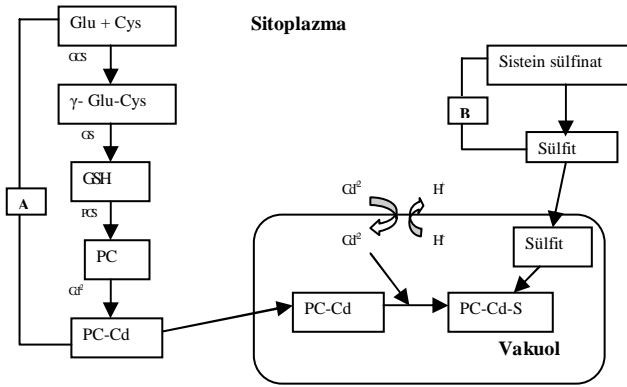


Daha sonra yapılan fizyolojik, biyokimyasal ve genetik çalışmalar glutasyonun (bazı durumlarda ilişkili bileşikler) fitoşelatin sentezinin substratı olduğunu kesin olarak kanıtlamıştır (Zenk, 1996; Rausser, 1995, 1999). Bu çalışmalarda ya bitkinin kendisi ya da hücre kültürü kullanılmıştır. Hücre kültürü ile yapılan çalışmalarda Cd varlığında fitoşelatinlerin artmasına paralel olarak glutasyon miktarının azaldığı saptanmıştır. Üstelik gerek bitkilerle yapılan çalışmalarda gerekse hücre kültürü çalışmalarında, bitkiler glutasyon biyosentezinin inhibitörlerine (butiyonin sulfoksimin) maruz bırakıldıklarında fitoşelatin sentezinin inhibisyonuna bağlı olarak Cd'a hassasiyet oluşmuştur. Bu hassasiyet ortama glutasyon ilavesi ile ortadan kaldırılmıştır. Başka bir çalışmada ise belirli derişimde Cd uygulamasının, *Triticum aestivum* L. bitkisinin gövde ve köklerinde hem glutasyon miktarının hem de fitoşelatin miktarının artmasına neden olduğu saptanmıştır (Ranieri vd., 2005).

Fitoşelatinlerde bulunan karboksilamid bağları bu proteinlerin bir gen ürünü olmadığını gösterir, çünkü bu bağlar ribozomlarda oluşturulmazlar, bir enzimatik reaksiyon sonucu oluşurlar. Fitoşelatinler, yüksek oranda metal derişimlerine maruz kalan bitkilerde, glutatyon dan sistein dipeptitil transpeptidaz (fitoşelatin sentetaz) enzimi katalizörlüğünde sentezlenmektedirler (Grill vd., 1989; Cobbett, 2000).

Metaller, enzimlerin ve yapısal proteinlerin sülfüdril gibi elektron verici bölgeleriyle etkileşerek hücre ölümlerine neden olurlar (Van Assche ve Clijsters, 1990; Kneer ve Zenk, 1992). Fitoşelatinler metallere bağlanarak onların derişimlerinin ve buna bağlı olarak da zararlarının azalmasına neden olurlar. Örneğin Cd ve Cu bir ligand çeşiti olan fitoşelatinlerle kompleks oluştururlar. Fitoşelatin-Cd kompleksi vakuole girer, fitoşelatin serbest kalır tekrar sitoplazmaya gider, metal ise muhtemelen bir organik asite bağlanarak vakuolde biriktirilir. Metallerin fitoşelatinlerden ayrılması vakuolün düşük pH değerlerinde bulunması ile açıklanabilir çünkü 3.5-5 aralığındaki pH değerlerinde fitoşelatin-Cd kompleksi oluşmaz (Steffens, 1990). Bitkilerde ve çeşitli organizmalarda metallerin zararlarını engelleme yolları (Şekil 2) değişik olup bu yollarda farklı genler rol oynamaktadır (Cobbett, 2000). Fitoşelatin-metal kompleksi, serbest metal iyonuna göre çok daha az zararlıdır. Stefens ve arkadaşları (1986) yaptıkları çalışmada, Cd'a dayanıklı domates hücrelerinin,

hassas hücelere oranla daha fazla fitoşelatin biriktirdiklerini göstermişlerdir.



Şekil 2. Bitkilerde (A) ve funguslarda (B) kadmiyum zararının giderilmesi ile ilgili metabolik yollar (Cobbett, 2000).

GS: Glutasyon sentetaz; GSH: İndirgenmiş glutasyon; PCS: Fitoşelatin sentetaz
PC: Fitoşelatin; PC-Cd: Fitoşelatin kadmiyum kompleksi
PC-Cd-S: Fitoşelatin kadmiyum sülfid kompleksi

6. SONUÇ

Çeşitli kaynaklardan ortaya çıkabilmeleri, yaygın kirlenme nedeni oluşturmaları, çevre koşullarına dayanıklı olmaları, biyolojik sistemlere yönelik etki göstermeleri, besin zinciri yoluyla canlılarda birikim yapmaları nedeniyle önemli bir kirlilik unsuru yaratan metaller sulu çözeltilerinde + yüklü iyonlar (kasyon) halinde bulunurlar ve hücelerde negatif yüklü yani elektron verici bölgelere (çoğunlukla sülfür, oksijen ve azot atomları) sahip yapısal ve işlevsel tüm moleküllere bağlanma potansiyeline sahiptirler. Metallerle kompleks yapan moleküllerin yapılarında değişiklikler meydana gelmekte buna bağlı olarak da bu moleküller yapısal ve işlevsel görevlerini yerine getirememektedirler. Metaller, bu doğrudan etkileri yanında, serbest radikal oluşumuna neden olarak ya da serbest radikal oluşumuna yol açan tepkimeleri hızlandırarak dolaylı yoldan da hücelere zarar verebilmektedirler. Ayrıca bazı metallerin yüksek oranlarda alınımının diğer bazı metallerin alınımını engellediği de bir çok çalışma ile gösterilmiştir. Metal antagonizmi olarak bilinen bu olay, mikro besin elementi olarak alınması gereken metallerin (Fe, Zn, Cu gibi) azlığına neden olarak, yapısında bu metalleri bulunduran moleküllerin sentezinin azalmasına ve bu metallerin görev aldığı tepkimelerin durmasına neden olmaktadır. Metaller, yüksek derişimlerde alındıklarında, hücelere düzeyde bir çok zarara yol açarlar. Metal zararı, hücre içinde tipik bir bölgeye bağlı kalmamaktadır, hücrenin hangi yapısına bakılırsa bakılsın yapısal ve işlevsel düzeyde bir zarar görülebilir. Hücre duvarı, hücre zarı, bir çok sitoplazmik molekül, organel zarları, organelerin yapısı ve

işlevleri, bitkilerin türüne, metallerin çeşitlerine ve derişimlerine bağlı olarak az ya da çok metallerden olumsuz etkilenmektedirler.

Canlılığın ortaya çıktığı dönemlerde, muhtemelen ortamda bulunmadıkları için hiç bir hücelere yapıya katılmamış ve işlevsel görev almamış bir çok metal bu gün insan faaliyetleri sonucu doğaya bırakılmaktadır. Kadmiyum ve Hg başta olmak üzere bu tür metaller çok düşük derişimlerde bile canlılarda büyük zararlara yol açmakta ve ölümlere neden olabilmektedir. Bu nedenle metallerle dayanıklı bitki türlerinin belirlenmesi, dayanım mekanizmalarının aydınlatılması, metal biriktiren bitkiler kullanarak doğanın temizlenmesi ve metallerin geri kazanımı yönündeki araştırmalar, özellikle insanların neden olduğu, henüz tehlikeli boyutlara ulaşmamış metal kirlenmesinin, ilerde tüm canlılar için büyük bir sorun haline gelmesini önlemede önemli bir rol oynayacaktır.

KAYNAKLAR

- Akeson, M.A., Munns, D.N. ve Burau, R.G. (1989). Adsorption of Al^{+3} to phosphatidylcholine vesicles. *Biochim. Biophys. Acta.* 986, 33-40.
- Alsher, R.G., Donahue, J.L. ve Cramer, C.L. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells. *Physiol. Plant.* 100, 224-233.
- Auda M.M.A., Symeonidis, L., Hatzistavrou, E. ve Yupsanis, T. (2002). Nucleolytic activities and appearance of a new DNase in relation to nickel and manganese accumulation in *Alyssum murale*. *J. Plant Physiol.* 159, 1087-1095.
- Angelov, M., Tsonev, T., Uzunova, A. ve Gaidardjieva, K. (1993). Cu^{+2} effect upon photosynthesis, the copper-inhibitory binding site. Fluorescence and polarographic studies. *Photosynth. Res.* 45, 127-134.
- Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Reeves, R.D. ve Smith, J.A.C. (2000). *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*, Eds: N. Terry, G. Banuelos, ss. 85-107, Lewis, Boca Raton.
- Barceló, J., Cobot, C. ve Poschenrieder, C. (1986a). Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. Cv. Contender). II. Effects of Cd on endogenous abscisic acid level. *J. Plant Physiol.* 125, 27-34.
- Barceló, J., Poschenrieder, C., Andreu, I. ve Gunse, B. (1986b). Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender). I. Effects of Cd on water potential, relative water content and cell wall elasticity. *J. Plant Physiol.* 125, 17-25.

- Barceló, J. ve Poschenrieder, C. (1990). Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review. *J. Plant Nutr.* 13, 1-37.
- Barazani, O., Sathiyamoorthy, P., Manandhar, U., Vulkan, R. ve Goldhirsh, A.G. (2004). Heavy metal accumulation by *Nicotiana glauca* Graham in a solid waste disposal site. *Chemosphere* 54, 867-877.
- Baszyński, T. (1986). Interference of Cd²⁺ in functioning of the photosynthetic apparatus of higher plants. *Acta Soc. Bot. Pol.* 55,291-304.
- Baszyński, T., Wajda, L., Król, M., Wolińska, D., Krupa, Z. ve Tukendorf, A. (1980). Photosynthetic activities of cadmium treated tomato plants. *Physiol. Plant.* 48, 365-370.
- Brierley, G.P. (1977). Effects of heavy metals on isolated mitochondria. In: *Biochemical Effects of Environmental Pollutants*, Ed: S.D. Lee, ss.397-411, Ann Arbor Sci, Ann Arbor.
- Brooks, R.R. (1998). *Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals*, ss.1-53, University Pres, Cambridge.
- Brown, S.L., Chaney, R.L., Angle, J.S. ve Baker, A.J.M. (1995). Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59, 125-132.
- Cataldo, D.A., Garlve, T.R. ve Wildung, R.E. (1978). Nikel in plants; II: Distribution and chemical form in soybean plants. *Plant Physiol.* 62, 566-570.
- Chaoui, A. ve Ferjani, E. (2005). Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *C. R. Biologies* 328, 23-31.
- Clemens, S., Palmgren, M.G. ve Krämer U. (2002). Along way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Sci.* 7, 309-315
- Clijster, H. ve Van Assche, F. (1985). Inhibition of photosynthesis. *Photosynth. Res.* 7, 41-40.
- Cobbett, C.S. (2000). Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiol.* 123, 825-832.
- De Vos, C.H.R., Schat, H., De Wall M.A.M., Vooijs, R. ve Ernst W.H.O. (1991). Increased resistance to copper – induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Physiol. Plant.* 82, 523-528.
- Delhaize, E., Ryan, P.R. ve Randall, P.J. (1993). Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.): II. Aluminum-stimulated excretion of malic acid from root apice. *Plant Physiol.* 101, 695-702.
- Dietz, K.J., Baier, M. ve Krämer, U. (1999). Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants. *Heavy Metal Stress in Plants: from molecules to ecosystems*, Eds: M.N.V. Prasad ve J. Hagemeyer, ss.73-98, Springer-Verlag, Berlin.
- Demirevska-Kepova, K., Simova-Stoilova, L., Stoyanova, Z., Hölzer, R. ve Feller U. (2004). Biochemical changes in barley plants after excessive supply of copper and manganese. *Environ. Exp. Bot.* 52, 253-266.
- Deng, H., Ye, Z.H. ve Wong, M.H. (2004). Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environ. Pollut.*, 132, 29-40.
- Drażkiewicz M. (1994). Chlorophyllase: Accurrence, functions, mechanism of action, effects of external and internal factors. *Photosynthetica* 30, 321-331.
- Ernst, W.H.O., Verkleij, J.A.C. ve Schat, H. (1992). Metal tolerance in plants. *Acta. Bot. Neerl.* 41, 229-248.
- Fatima, R.A. ve Ahmad M. (2005). Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater. *Sci. Total Environ.* 346, 256-273.
- Fernandes, J.C. ve Henriques, F.S. (1991). Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plant. *Bot. Rev.* 57, 246-273.
- Filho, G.M.A., Creed, J.C., Andrade, L.R. ve Pfeiffer, W.C. (2004). Metal accumulation by *Halodule wrightii* populations. *Aquat. Bot.* 80, 241-251.
- Gadallah, M.A.A. (1995a). Interactive effect of heavy metals and temperature on the growth and chlorophyll, saccharides and soluble nitrogen in *Phaseolus* plants. *Bio. Plant.* 36, 373-382.
- Gadallah, M.A.A. (1995b). Effects of cadmium and kinetin on chlorophyll content, saccharides and dry matter accumulation in sunflower plants. *Bio. Plant.* 37, 233-240.
- García, G., Faz, Á. ve Cunha, M. (2004). Performance of *Piptatherum miliaceum* (Smilo grass) in ed-

- aphic Pb and Zn phytoremediation over a short growth period. *Int. Biodeter. Biodegr.* 54, 245-250.
- Gerloch, M. ve Constable, E.C. (1994). *Transition Metal Chemistry*, Wiley, New York.
- Greger, M. (1999). Metal availability and bioconcentration in plants. In: *Heavy Metal Stress in Plants: from molecules to ecosystem*, Eds: M.N.V. Prasad, ve J.Hagemeyer, ss. 1-27, Springer-Verlag, Berlin.
- Greger, M., Johansson, M., Stihl, A. ve Hazma, K. (1993). Foliar uptake of Cd by pea (*Pisum sativum*) and sugar beet (*Beta vulgaris*). *Physiol. Plant.* 88, 563-570.
- Greger, M. ve Lindberg, S. (1986). Effects of Cd⁺² and EDTA on young sugar beets (*Beta vulgaris*). I. Cd⁺² uptake and sugar accumulation. *Physiol. Plant.* 66, 69-74.
- Grill, E. ve Zenk, M.H. (1985). Induction of heavy metal sequestering phytochelatin by cadmium in cell cultures of *Rauvolfia serpentina*. *Naturwissenschaften* 72, 432-433.
- Grill, E., Löffler, S., Winnacker E.L. ve Zenk, M.H. (1989). Phytochelatins, the heavy-metal binding peptides of plants, are synthesised from glutathione by a specific γ -glytmyl-cysteine dipeptidyl tanspeptidase phytochelatin synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 6838-6842.
- Hagemeyer, J. ve Breckle, S.W. (1996). Growth under trace element stres. *Plant Roots; the hidden half*. 2nd edition. Eds: Y. Waisel, A. Eshel, and U. Kafkafi, ss. 415-433, Dekker, New York.
- Harmens, H., Koevoets, P.L.M., Verkleij, J.A.C. ve Ernst, W.H.O. (1994). The role of low molecular weight organic acids in mechanisms of increased zinc tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garcke. *New Phytol.* 126, 615-621.
- Hausladen, A. ve Alscher, R.G. (1993). Glutathione. *Antioxidants in Plants*, Eds: R.G. Alscher, ve J.L. Hess, ss. 12-14, CRC Press, London.
- He, Z., Li, J., Zhang, H. ve Ma, M. (2005). Different effects of calcium and lanthanum on the expression of phytochelatin synthase gene and cadmium absorption in *Lactuca sativa*. *Plant Sci.* 168, 309-318.
- Hegedüs A., Erdei, S. ve Horváth, G. (2001). Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. *Plant Sci.* 160, 1085-1093.
- Hideg, E., Spetea, C. ve Vass, I. (1994). Singlet oxygen and free radical production during acceptor and donor side induced photoinhibition: studies with spin trapping EPR spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 1186, 143-152.
- Houtz, R.L., Nable, R.O. ve Cheniae, G.M. (1988). Evidence for the effects on the in vivo activity of rubulose-bisphosphate carboxylase/oxygenase during development of Mn toxicity in tobacco. *Plant Physiol.* 86, 1143-1149.
- Jackson, P.J., Unkefer, P.J., Delhaize, E. ve Robinson, N.J. (1990). Mechanisms of trace metal tolerance in plants. *Environmental Injury to Plants*, Ed: F. Katterman, ss. 231-258, Academic Press, San Diego.
- Jones, D.L. ve Kochian, L.V. (1997). Aluminum interaction with plasma membrane lipids and enzyme metal binding sites and its potential role in Al cytotoxicity. *FEBS Lett.* 400, 51-57.
- Kalyanaram, B. (1996). Thiol radicals in biological systems: significant or trivial? *Biochem. Soc. Symp.* 61, 55-63.
- Kennedy, C.D. ve Gonsalves, E.A.N. (1987). The action of Zn, cadmium, mercury, copper and lead on transroot potential and H⁺ efflux of excised roots. *J. Exp. Bot.* 38, 800-817.
- Kidd, P.S. ve Monterroso, C. (2005). Metal extraction by *Alyssum serpyllifolium* ssp. *lusitanicum* on mine-spoil soils from Spain. *Sci. Total Environ.* 336, 1-11.
- Kneer, R. ve Zenk, M.H. (1992). Phytochelatins protect plant enzymes from heavy-metal poisoning. *Phytochemistry* 31, 2663-2667.
- Köleli, N., Eker, S. ve Cakmak, I. (2004). Effect of zinc fertilization on cadmium toxicity in durum and bread wheat grown in zinc-deficient soil. *Environ. Pollut.* 131, 453-459.
- Krämer, U., Cotter-Howells, J.D., Baker, A.J.M. ve Smith, J.A.C. (1996). Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature* 379, 635-639.
- Krupa, Z. ve Bazyński, T. (1995). Some aspects of heavy metal toxicity towards photosynthetic ap-

- paratus-direct and indirect effects on light and dark reactions. *Acta Physiol. Plant.* 17, 177-190.
- Kumar, P. ve Dara, S.S. (1982). Utilization of agricultural wastes for decontaminating industrial/domestic waste waters from toxic metals. *Agri.Wastes* 4, 213-223.
- Lanaras, T., Moustakas, M., Symenoides, L., Diamantoglou, S. ve Karataglis, S. (1993). Plant metal content, growth responses and some photosynthetic measurements on field-cultivated growing on ore bodies enriched in Cu. *Physiol. Plant.* 88, 307-314.
- Landberg, T. Ve Greger M. (2002). Differences in oxidative stress in heavy metal resistant and sensitive clones of *Salix viminalis*. *J. Plant Physiol.* 159, 69-75
- Lidon, F.C. ve Henriques, F.S. (1993). Changes in the contents of the photosynthetic electron carriers, RNase activity and membrane permeability triggered by excess copper in rice. *Photosynthetica* 28, 99-108.
- Lindberg, S. ve Griffiths, G. (1993). Aluminum effects on ATPase activity and lipid composition of plasma membranes in sugar beet roots. *J. Exp. Bot.* 44, 1543-1550.
- Lindberg, S., Meyers, T.P., Taylor G.E.Jr., Turner, R.R. ve Schroeder, W.H. (1992). Atmosphere-surface exchange of mercury in a forest: results of modeling and gradient approaches. *J. Geophys Res.* 97, 2519-2528.
- Lindberg, S., Szykier, K. ve Greger, M. (1991). Aluminum effects on transmembrane potential in cells of fibrous roots of sugarbeet. *Physiol. Plant.* 83, 54-62.
- Lösch, R. ve Köhl, K.I. (1999). Plant respiration under the influence of heavy metals. *Heavy Metal Stress in Plants: from molecules to ecosystems*, Eds: M.N.V. Prasad ve Hagemeyer, ss.139-156, Springer-Verlag, Berlin.
- Lombardi, L. ve Sebastiani L. (2005). Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. *Plant Sci.*, 168, 797-802.
- Luo, C., Shen, Z. ve Li, X. (2005). Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere*, 59, 1-11.
- Malik, D., Sheoran, I.S. ve Singh, R. (1992). Carbon metabolism in leaves of cadmium treated wheat seedlings. *Plant. Physiol. Biochem.* 30, 223-229.
- Maranon, E. ve Sastre, H. (1991). Heavy metal removal in packed beds using apple wastes. *Biore-source Tech.* 38, 39-43
- Marschner, H. (1995). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd edition. Academic Press, London.
- Martin, T.J. ve Juniper, E.B. (1970). *The Cuticles of Plants*. Edward Arnolds, Edinburgh.
- Mascher, R., Lippmann, B., Holzinger, S. ve Bergmann, H. (2002). Arsenate toxicity: effects on oxidative stress response molecules and enzymes in red clover plants. *Plant Sci.* 163, 961-969.
- Mathys, W. (1977). The role of malate, oxalate and mustard oil glucosides in the evolution of zinc resistance in herbage plants. *Physiol. Plant.* 40, 130-136.
- Matthews, D.J., Moran, B.M., McCabe, P.F. ve Otte, M.L. (2004). Zinc tolerance, uptake, accumulation and distribution in plants and protoplasts of five European populations of the wetland grass *Glyceria fluitans*. *Aquat. Bot.* 80, 39-52.
- Mehra, R.K., Tarbet E.B., Gray, W.R. ve Winge, D.R. (1988). Metal specific synthesis of two metallothioneins and γ -glutamyl peptides of *Candida glabrata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 5, 8815-8819.
- Mench, M., Morel, J.L., Cuckert, A. ve Guillet, B. (1988). Metal binding with root exudates of low molecular weight. *J. Soil. Sci.* 33, 521-527.
- Miles, C.D., Brandle, J.R., Daniel, D.J., Chu-Der, O., Schnore, P.D. ve Uhlik, D.J. (1972). Inhibition of photosystem II in isolated chloroplasts by lead. *Plant Physiol.* 49, 820-825.
- Monnet, F., Vaillant, N., Vernay P., Coudret, A., Salanon, H. ve Hitmi, A. (2001). Relationship between PSII activity, CO₂ fixation, and Zn, Mn and Mg contents of *Lolium perenne* under zinc stress. *J. Plant Physiol.* 158, 1137-1144.
- Munzuroğlu, O. ve Geckil, H. (2002). Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 43, 203-213.
- Muranyi, A., Seeling, B., Ladewig, E. ve Jungk, A. (1994). Acidification in the rhizosphere of rape seedlings and in bulk soil by nitrification and

- ammonium uptake. *Z. Pflanzenernähr Bodenkd.* 157, 61-65.
- Murasugi, A., Wada C. ve Hayashi Y. (1981). Cadmium-binding peptide induced in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *J. Biochem.* 90, 1561-1564.
- Murphy, A. ve Taiz, L. (1997). Correlation between potassium efflux and copper sensitivity in 10 *Arabidopsis* ecotypes. *New Phytol.* 136, 211-222.
- Nedunchezian, N. ve Kulandaivelu, G. (1995). Effect of Cd and UV-B radiation on polypeptide composition and photosystem activities of *Vigna unguiculata* chloroplasts. *Biol. Plant* 37, 437-441.
- Ouzounidou, G. (1995). Cu-ions mediated changes in growth, chlorophyll and other ion contents in a Cu-tolerant *Koeleria splendens*. *Biol. Plant* 37, 71-79.
- Pawlak, K.P., Ruzik, R., Abramski, K., Ciurzyńska, M. ve Gawrońska H. (2005). Cadmium speciation in *Arabidopsis thaliana* as a strategy to study metal accumulation system in plants. *Analytica Chimica Acta* (Baskıda)
- Peralta, J.R., Gardea-Torresdey, J.L., Tiemann, K.L., Gomez, E., Arteaga, S., Rascon, E. ve Parsons, J.G. (2000). Study on the effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*) grown in solid media. *Proceedings of 2000 Conference on Hazardous Waste Research*, ss. 135-140.
- Petrucci, R.H. ve Harwood, W.S. (1993a). *General Chemistry: Principles and Modern Applications*, 6th edition, Macmillan Publishing Company, New York.
- Petrucci, R.H. ve Harwood, W.S. (1993b). *General Chemistry: Principles and Modern Applications*, 6th edition, Eds: R.H. Petrucci and W.S. Harwood, ss. 874-879, Macmillan Publishing Company, New York.
- Pohlmeier, A. (1999). Metal speciation, chelation and complexing ligands in plants. *Heavy Metal Stress in Plants: from molecules to ecosystems*, Eds: M.N.V. Prasad ve J. Hagemeyer, ss. 29-50, Springer-Verlag, Berlin.
- Prasad, M.N.V. (1999). Metallothioneins and metal binding complexes in plants. *Heavy Metal Stress in Plants: from molecules to ecosystems*, Eds: M.N.V. Prasad ve J. Hagemeyer, ss.51-72, Springer-Verlag, Berlin.
- Prasad, M.N.V. ve Strzalka, K. (1999). Impact of heavy metals on photosynthesis. *Heavy Metal Stress in Plants: from molecules to ecosystems*, Eds: M.N.V. Prasad ve J. Hagemeyer, ss. 117-138, Springer-Verlag, Berlin.
- Pulford, I.D. ve Watson, C. (2003). Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees-a review. *Environ Int.* 29, 529-540.
- Punz, W.F. ve Sieghardt, H. (1993). The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. *Environ. Exp Bot.* 33, 85-93.
- Puthotá, V., Cruz-Ortega, R., Johnson, J. ve Ownby, J. (1991). An ultrastructural study of the inhibition of mucilage reaction in the wheat root cap by aluminium. *Plant-Soil Interactions at Low pH*, Eds: R.J. Wright, V.C. Baligar, R.P. ve Murrmann, ss. 779-787, Kluwer, Dordrecht.
- Qadir, S., Qureshi, M.I., Javed, S. ve Abidin, M.Z. (2004). Genotypic variation in phytoremediation potential of *Brassica juncea* cultivars exposed to Cd stress. *Plant Sci.* 167, 1171-1181.
- Radmer R. ve Kok B., (1974). Kinetic observation of the photosystem II electron acceptor pool isolated by mercuric ion. *Biochem. Biophys. Acta.* 357, 177-180.
- Randall, J.M., Hautala, E. ve Waiss, A.C. (1974). Removal and recycling of heavy metal ion from agricultural byproducts. *Proc. 4th Mineral Waste Utilization Symp.*, Chicago, IL, USA.
- Randall, J.M., Reuter F.W. ve Waiss, A.C. (1975). Removal of cupric ions from solution by contact with peanut skins. *J. Appl. Poly. Sci.* 19, 1563-1571.
- Randall, J.M., Hautala, E. ve Waiss, A.C. (1978). Binding of heavy metal ions by formaldehyde polymerized peanut skins. *J. Appl. Poly. Sci.* 22, 379-389.
- Ranieri A., Castagna, A., Scebba, F., Careri, M., Zagnoni, I., Predieri, G., Pagliari, M. ve Toppi, L.S. (2005). Oxidative stress and phytochelatin characterisation in bread wheat exposed to cadmium excess. *Plant Physiol. Biochem.* 43, 45-54.
- Rausser, W.E. (1990). Phytochelatin. *Annu. Rev. Biochem.* 59, 61-86.

- Rauser, W.E. (1995). Phytochelatins and related peptides: structure, biosynthesis, and function. *Plant Physiol.* 109, 1141-1149.
- Rauser, W.E. (1999). Structure and function of metal chelators produced by plants. *Cell Biochem. and Biophysics* 31, 19-48.
- Reddy, G.N. ve Prasad, M.N.V. (1990). Heavy metal binding proteins peptides, occurrence, structure, synthesis and functions review. *Environ. Exp. Bot.* 30, 252-264.
- Robinson, N.J. ve Jackson P.J. (1986). "Metallothionein-like" metal complexes in angiosperms, their structure and function. *Physiol Planta* 67, 499-506.
- Ros, R., Cooke D.T., Burden, R.S. ve James C.S. (1990). Effect of herbicide MCPA, and the heavy metals, cadmium and nickel, on the lipid composition, Mg-ATPase activity and fluidity of plasma membranes from rice, *Oryza sativa* cv. Bahia shoots. *J. Exp. Bot.* 41, 457-467.
- Ros, R., Morales, A., Segura, J, ve Picazo, I. (1992). In vivo and in vitro effects of nickel and cadmium on the palisade ATPase from rice (*Oryza Sativa L.*) shoots and roots. *Plant Sci.* 83, 1-6.
- Saxena, P.K., KrishnaRaj, S., Dan, T., Perras, M.R., ve Vettakkorumakankav, N.N. (1999). Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated and Polluted Soils. *Heavy Metal Stress in Plants: from molecules to ecosystem*, Eds: M.N.V. Prasad, ve J.Hagemeyer, ss:305-325, Springer-Verlag, Berlin.
- Schützendübel, A., Nikolova, P., Rudolf, C. ve Polle, A. (2002). Cadmium and H₂O₂ induced oxidative stress in *Populus X canescens* roots. *Plant Physiol. Biochem.* 40, 577-584.
- Shah, K., Kumar, R.G., Verma, S. ve Dubey, R.S. (2001). Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Sci.* 161, 1135-1144.
- Sharma, S.S., Kaul, S., Metwally, A., Goyal, K.C., Finkemeier, I. ve Dietz, K.J. (2004). Cadmium toxicity to barley (*Hordeum vulgare*) as affected by varying Fe nutritional status. *Plant Sci.* 166, 1287-1295.
- Sharma, N.C., Sahi, S.V. ve Jain, J.C. (2005). *Sesbania drummondii* cell cultures: ICP-MS determination of the accumulation of Pb and Cu. *Microchem. J.* (Baskıda)
- Sheoran, I.S., Singal, H.R. ve Singh, R. (1990). Effect of cadmium and nickel on photosynthetic and the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Photosynth. Res.* 23, 345-351.
- Shioi, Y., Tamai, H. ve Sasa, T. (1978). Effects of copper on the photosynthetic electron transport systems in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 19, 203-209.
- Siedlecka, A. ve Baszyński, T., (1993). Inhibition of electron flow around photosystem I in chloroplasts of Cd-treated maize plants is due to Cd-induced iron deficiency. *Physiol. Plant.* 87, 199-202.
- Sigfridsson, K.G.V., Bernát, G., Mamedov, F. ve Styring, S. (2004). Molecular interference of Cd²⁺ with Photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta* 1659, 19-31.
- Steffens, J.C., Hunt, D.F. ve Williams, B.G. (1986). Accumulation of non-protein metal-binding polypeptides -glutamyl-cysteinyl glycine in selected cadmium-resistant tomato cells. *J. Bio. Chem.* 261,1389-13882.
- Steffens, J.C. (1990). The heavy metal-binding peptides of plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41, 553-575.
- Stiborova, M., Doubravova, M. ve Leblova, S. (1986). A comparative study of the effect of heavy metal ions on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and phosphoenol pyruvate carboxylase. *Biochem. Physiol. Pflanz.* 181, 373-379.
- Stillman, M.J. (1995). Metallothioneins. Co-ordination. *Chem. Rev.* 144, 461-511.
- Stolt, J.P., Sneller, F.E.C., Bryngelsson, T., Lundborg, T., ve Schat, H. (2003). Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat. *Environ. Exp. Bot.* 49, 21-28.
- Tang, P.L, Lee, C.K., Low, K.S. ve Zainal, Z. (2003). Sorption of Cr(VI) and Cu(II) in aqueous solution by ethylenediamine modified rice hull. *Environ. Technol.* 24, 1243-1251.
- Tee, T. W. ve Khan, R.M. (1998). Removal of lead, cadmium, and zinc by waste tea leaves. *Environmental Tech. Letters* 9, 1223-32
- Tewari, R.K., Kumar, P., Sharma, P.N. ve Bisht, S.S. (2002). Modulation of oxidative stress responsive enzymes by excess cobalt. *Plant Sci.* 162, 381-388.

- Torresdey, J.L.G., Videia, J.R.P., Rosa, G.D.L. ve Parsons, J.G. (2005). Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. *Coordination Chemistry Reviews*. (Baskıda)
- Tripathi, R.D., Yunus, M. ve Mehra, R.K. (1996). Phytochelatins and phytothioneins: the potential of these unique metal detoxifying systems in plants. *Physiol. Mol. Biol.* 2, 101-104.
- Van Assche, F. ve Clijsters, H. (1986). Inhibition of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by treatment with toxic concentrations of zinc: effect on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase. *J. Plant. Physiol.* 125, 355-360.
- Van Assche, F. ve Clijsters, H. (1990). Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ.* 13, 195-206.
- Vance, C.K. ve Miller, A.F. (1998). Spectroscopic comparison of the pH dependencies of Fe-substituted (Mn) superoxide dismutase and Fe-superoxide dismutase. *Biochemistry* 37, 5518-5527.
- Veeranjaneyulu K. ve Das V.S.R. (1982). In vitro chloroplast localization of ⁶⁵Zn and ⁶³Ni in a Zn tolerant plant *Ocimum basilicum* Benth. *J. Exp. Bot.* 33, 1161-1165.
- Verklaij, J.A.C. ve Schat, H. (1990). In: *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*, Ed: A.J. Shaw, pp:179-193, CRC Press, Boca Raton.
- Verma S. Ve Dubey R.S. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Sci.* 164, 645-655.
- Vitória, A.P., Ea, P.J. ve Azevedo, R.A. (2001). Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues. *Phytochemistry* 57, 701-710
- Wagner, G.J. (1993). Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Adv. Agron.* 51,173-212.
- Wang, W.S., Shan, X.Q., Wen B. ve Zhang S.Z., (2003). Relationship between the extractable metals from soils and metals taken up by maize roots and shoots. *Chemosphere* 53, 523-530.
- Wycisk, K., Kim, E.J., Schroeder, J.I. ve Krämer, U. (2004). Enhancing the first enzymatic step in the histidine biosynthesis pathway increases the free histidine pool and nickel tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters* 578, 128-134.
- Wójcik, M., Vangronsveld, J. ve Tukiendorf, A. (2005). Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*: I. Growth parameters, metal accumulation and phy-

tochelatin synthesis in response to cadmium. *Environ. Exp. Bot.* 53, 151-161.

Zacchini, M., Rea, E., Tullio, M. ve Agazio, M. (2003). Increased antioxidative capacity in maize calli during and after oxidative stress induced by a long lead treatment. *Plant Physio. Biochem.* 41, 49-54.

Zenk, M.H. (1996). Heavy metal detoxification in higher plants-a review. *Gene* 179, 21-30.

Zhou, D.M., Hao, X.Z., Wang, Y.J., Dong, Y.H. ve Cang, L. (2005). Copper and Zn uptake by radish and pakchoi as affected by application of livestock and poultry manures. *Chemosphere* 59, 167-175.



Beycan Ayhan, 1970 yılında Ankara'da doğdu. 2003 yılında Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümünden lisans derecesini aldı. Halen Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine devam etmektedir.



Yasemin Ekmekçi, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümünden 1986 yılında mezun oldu. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında 1989 yılında Bilim Uzmanlığı ve 1995 yılında doktora çalışmalarını tamamlamıştır. Güney Afrika, Cape Town Üniversitesi, Moleküler ve Hücre Biyolojisi Bölümü, Bitki Stres Araştırmaları Biriminde doktora sonrası bursu alarak 10 ay çalışmıştır. Halen Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalında Doçent olarak çalışmaktadır.

Araştırma alanları: Bitki Stres (sıcaklık, kuraklık, herbisit ve ağır metal) Fizyolojisi ve Bitki Moleküler Biyolojisi (Stres proteinleri ve antioksidan enzim sistemleri) üzerinedir.



Deniz Tanyolaç, 1962 Ankara doğumludur. 1984'de Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümünü bitirdi ve halen aynı üniversitede Doçent kadrosunda öğretim üyesi olarak görev yapmaktadır. Evli ve iki çocuk annesidir. Paramanyetik özelliğe sahip taşıyıcı destek materyallerinin hazırlanması ve bunların protein saflaştırılması, ağır metal adsorpsiyonu ve immobilize enzim çalışmalarında kullanılabilirliği, biyoyırma proseslerinde kullanılan mikroporoz afinite membranların hazırlanması ve uygulamaları gibi biyoteknoloji alanına giren konularda çalışmaktadır.