



E-ISSN: 2146-0132

Issue : 11 (1) , 2018

# Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi

Turkish Journal of Scientific Reviews

Publishing by Nobel Science and Research Center



[www.dergipark.gov.tr/derleme](http://www.dergipark.gov.tr/derleme)

NOBEL

BİLİM



# Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi Turkish Journal of Scientific Reviews

**E-ISSN:2146-0132 April 2018, Volume 11, Number 1**

**Sahibi/Published by**

Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi  
Nobel Science and Research Center

**Yazı İşleri Müdürü/Responsible editor**

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ  
Necmettin Erbakan University

**Dizgi/ Type Setting**

Nobel Grafic Center

**İletişim/Contact**

[www.dergipark.gov.tr/derleme](http://www.dergipark.gov.tr/derleme)

**Editör**

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ  
Necmettin Erbakan University



[www.dergipark.gov.tr/derleme](http://www.dergipark.gov.tr/derleme)

**NOBEL BİLİM**

*Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*  
*Turkish Journal of Scientific Reviews*  
E-ISSN: 2146-0132, 11 (1), 2018

## :::İçindekiler:::

- 01** **Semaforinler**  
Sema USLU Fatih KAR
- 07** **Pestisitle Kirlenmiş Ortamların Biyoremediasyonu**  
Ülküye Dudu Gül Şule Aybüke Yavuz
- 18** ***Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. Türünde Yapılan Doku Kültürü Araştırmaları Üzerinde Bir İnceleme**  
Cevdet GÜMÜŞ Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU
- 27** **Farklı Biyolojik Örnekler Geçirimli Elektron Mikroskop için Nasıl Hazırlanır?**  
İlknur Dağ
- 33** **Nematoda Dayanıklılık Sağlayan Genlerin Etkinliği ve Sürekliliğinde Ürün Yönetim Stratejileri**  
Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR Gülsüm UYSAL
- 41** **Türkiye Organik Bitkisel Üretim Verileri ve Değerlendirilmesi**  
Mesude Ünal Bahar Aydın Can
- 49** **Olgunlaşan Meyvede Dokuyu Düzenleyen Moleküler Mekanizmalar**  
Selman ULUIŞIK
- 56** **Toprakta Ağır Metal Kirliliğinin İnsan Sağlığına Etkileri ve Çözüm Önerileri**  
Emine Erman KARA Ertan KARA
- 63** **Nanoparçacıkların Ölçme ve İnceleme Teknikleri**  
Mehmet ATEŞ
- 70** **Mobilya Endüstrisinde Kullanılan Makinelerde Çalışma Güvenliği**  
Hatice ULUSOY Abdi ATILGAN Hüseyin PEKER





## Semaforinler

Sema USLU<sup>1</sup> Fatih KAR<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Eskişehir

\*Sorumlu Yazar:

E-posta: fkar@ogu.edu.tr

Geliş Tarihi : 17 Mayıs 2018

Kabul Tarihi: 17 Ekim 2018

### Özet

Çok hücreli organizmaların hücre-hücre sinyal mekanizmaları, embriyogenez sırasında insan gelişimini düzenler ve yetişkin dokularda homeostazi kontrol eder. Bunlar insan sağlığı için yaşamsal öneme sahip mekanizmalardır. Hücre-hücre sinyalizasyonunun bozulması kanser dahil birçok patolojiye katkıda bulunur. Semaforinler, çeşitli dokularda önemli rolleri olan, salgılanan, transmembran ve membrana bağlı proteinlerdir. Semaforinler birçok organ ve dokunun gelişiminde ve korunmasında esas olan hücre dışı sinyal proteinleri olarak bilinmektedir. Semaforinlerin hücre rehberlik rolleri ve onların ortak plexin reseptörleri, hücre-hücre sinyalizasyon sisteminin mekanik prensiplere ilişkin ayrıntılarını ortaya çıkarmaktadır. Daha önceki çalışmalarda, semaforinlerin akson yönlendirici moleküller olarak işlev gördüğü gösterilmiştir. Semaforinlerin, sinir, kardiyovasküler, immün, endokrin, hepatik, renal, üreme, solunum, kas iskelet sistemlerinin yanı sıra kanser hücrelerinde ve metabolizmayı oluşturan hücreler de dahil olmak üzere birçok farklı hücre tipinde morfolojinin ve motilitenin kilit düzenleyicileri oldukları bildirilmiştir. Semaforin sinyalleme baskın olarak plexin reseptörleri aracılığı ile oluşur. Son yıllarda yapılan çalışmalar, semaforin-plexin sisteminin memeli fizyolojisindeki önemli işlevlerini ortaya çıkarmıştır. Semaforin işlev mekanizmalarında ortak nokta, sitoskeletonun, aktin filamentlerinin ve mikrotübül ağının organizasyonunu değiştirmeleridir. Yaklaşık yirmi yıllık araştırma geçmişleri olan semaforinlerin etkilerinin altında yatan mekanizmalar hakkında çok fazla bilgi öğrenilmesine rağmen, semaforin sinyallemesinin çeşitli hücreler ve fizyolojik sistemlerde spesifik sonuçlar elde etmek için farklı reseptör kompleksleri ve diğer mekanizmalar yoluyla nasıl düzenlendiğini gösteren heyecan verici çalışmalar devam etmektedir. Bu derlemede semaforinlerin moleküler yapıları, reseptörleri, hastalıklardaki ve tedavi protokollerindeki rolleri özetlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Semaforin, Plexin, Nörofilin, Hastalıklar ve Tedavilerinde Semaforinler

## Semaphorins

### Abstract

Cell-cell signaling mechanisms of multicellular organisms regulate human development during embryogenesis and control homeostasis in adult tissues. These are vital mechanisms for human health. Perturbation of cell-cell signaling is involved in many pathologies, including cancer. Semaphorins are secretory, transmembrane, and GPI-associated proteins that have significant roles in various tissues. They are known as extracellular signal proteins, which are essential for the development and maintenance of many organs and tissues. Semaphorin cell guidance cues and their common plexin receptors elaborate on the mechanical principles of the cell-cell signaling system. Previous studies have shown that semaphorins act as axon directing molecules. It is understood that semaphorins are key regulators of morphology and motility in many different types of cells, including nervous, cardiovascular, immunological, endocrine, hepatic, renal, reproductive, respiratory, musculoskeletal as well as cancer cells and metabolism forming cells. Semaphorin signaling predominantly occurs via plexin receptors. Recent studies have revealed the important functions of the semaphorin-plexin system in mammalian physiology. The common feature of semaphorin functional mechanisms is that they alter the organization of cytoskeletons, actin filaments, and microtubule networks. Exciting studies continue to show how semaphorin signaling is regulated by different receptor complexes and other mechanisms to achieve specific results in various cells and physiological systems, although much information is being learned about the mechanisms behind the effects of semaphorins, which are about twenty years of research history. In this review, molecular structures of semaphorins, receptors, their role in diseases and treatment protocols are summarized.

**Keywords:** Semaphorin, Plexin, Neuropilin, Semaphorins in diseases and treatments

## GİRİŞ

Semaforinler ilk kez 1990'ların başında akson büyümesini ve rehberliğini etkileme kabiliyetleri ile karakterize edilmiş ve tanımlanmışlardır [1]. Kolodkin ve arkadaşları, çekirge embriyonik gelişimi sırasında akson rehberliğinde yer alan "Fasciclin IV" adlı bir proteini tespit ettiler [2]. Aynı zamanda Raper ve arkadaşları kültürde nöronal büyüme konilerini çökmeye neden olan embriyonik civciv beyninden bir biyokimyasal fraksiyonu izole ettiler ve bu fraksiyondaki "çöken faktör"e Kollapsin adını verdiler [3]. İlginç bir şekilde, sekans karşılaştırması, sema alanının belirgin bir protein alanı olduğu ve sırasıyla Sema3A ve Sema-la olarak bilinen Kollapsin ve Fasciclin IV, Sema ailesinden proteinlerin ilk tanımlanan üyeleriydi [1].

"Semaforin" adı sinyal iletimindeki yönetici rollerinden dolayı demiryolu ve deniz iletişiminde kullanılan bayraklar ve ışık sistemleri ile ilişkilendirilerek semafor sözcüğünden türetilmiştir, farklı sinyalleme sistemleri ile bilgi aktaran molekülleri tanımlayan büyük bir aileyi temsil etmektedirler [4].

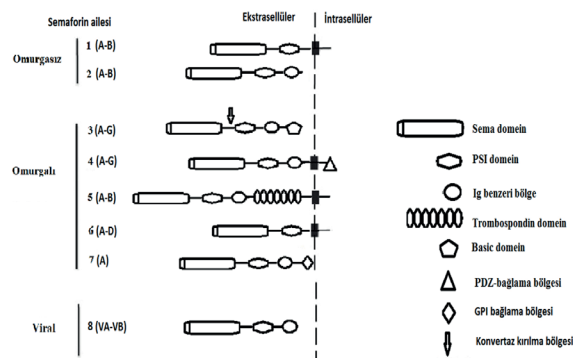
Semaforinler, birçok farklı fizyolojik sistemlerin fonksiyonları ve gelişiminde önemli rolleri olan, geniş ve çeşitli bir protein ailesidir. Sema ailesi salgılanmış, membrana bağlı ve transmembran proteinleri içerirler. Semaforinler genel olarak, sinir, kardiyovasküler, bağışıklık, endokrin, hepatik, böbrek, üreme, solunum ve kas iskelet sistemlerinin gelişimi ve fonksiyonlarının gerçekleşmesi sırasında hücrelerin şeklini ve hareketliliğini düzenleyen sinyal ligandları olarak hareket eder [5].

### Semaforinlerin moleküler yapıları

Tüm semaforinlerin ortak yapısal özelliği, N-terminallerinde ~500 aminoasit kalıntısından oluşan uzun 'SEMA' domaininden meydana gelmeleridir. Semaforinlerdeki SEMA domaininin yapısal analizleri, dimerizasyon ve reseptör bağlanmasını düzenleme gibi ayırıcı detaylara sahip 7-kanatlı  $\beta$ -propelleri ortaya çıkarmıştır. Tüm semaforinlerin SEMA kısımları, pleksin-semaforin-integrin (PSI) domaini adı verilen, sistein açısından zengin daha küçük bir kısım ile sıkıca bağlı bulunmaktadır. SEMA domaini semaforin aktivitesi için temeldir ve reseptör bağlanma özgülüğünün belirlenmesinde rol oynar [6].

Semaforin ailesi üyeleri 8 alt sınıfa ayrılmakta, 1. ve 2. alt sınıfları omurgasız semaforinleri, 3-7. alt sınıfları 22 omurgalı semaforinleri, 8. alt sınıf ise viral semaforinleri içermektedir. 3. sınıf semaforinler sekretuar proteinlerken, 4-6 sınıfları transmembran proteinlerdir ve semaforin 7A ise, bir glikofosfatidilinositol (GPI) çapası aracılığıyla plazma zarına sıkı bir şekilde bağlanmıştır. Farklı semaforin alt grupları spesifik yapısal motifler ile karakterizedir. Omurgalı semaforinlerinden 3, 4 ve 7 immünglobulin benzeri domain, 5. sınıf semaforinler trombospondin tekrarları ve 3. sınıf semaforinler ana (basic) domain içerirler. 3. sınıf semaforinler sadece sekrete edilebilirken diğer semaforinler membrana bağlı veya transmembran glikoproteinlerdir ancak bazı membran ile ilişkili semaforinler, çözünür proteinler üretmek için proteolitik olarak bölünebilir (Şekil 1). Semaforinlerin isimlendirilmesinde SEMA domaini mutlaka yer almakta daha sonra rakamla ailesi ve aileye ait alt gruplar ise harflerle gösterilmektedir (örneğin, SEMA3A). Bütün aktif semaforinler homodimerdir, semaforinlerin SEMA domaini, homodimerizasyona aracılık eder, böylece nörofilinlere ve pleksinlere bağlanırlar [7,9].

**Şekil 1.** Semaforin ailesinin yapısal özellikleri. Semaforinlerin yapıtaşları farklı geometrik şekillerde gösterilmiştir, kısaltılarak verilen domainler: Sema; semaforin, PSI pleksin-semaforin-integrin, GPI: glikofosfatidilinositol.



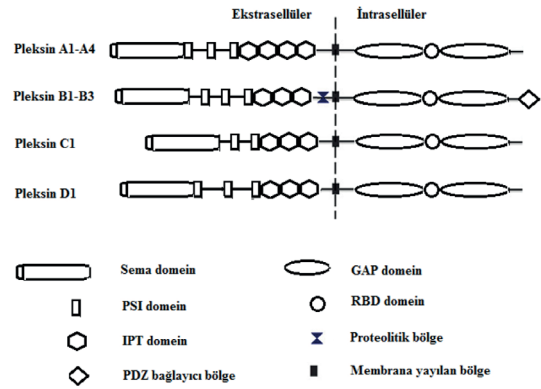
### Semaforinlerin reseptörleri:

#### Pleksinler

Semaforinlerin etkilerinin çoğu, dört alt sınıfa ayrılan (A-D) transmembran reseptör grubu olan pleksinler aracılığı ile gerçekleşir. Pleksinlerin omurgasızlarda iki (pleksin-A, pleksin-B), omurgalılarda pleksin-A1-4, pleksin-B1-3, pleksin-C1 ve pleksin-D1 olmak üzere dokuz alt grubu bulunmaktadır. Pleksinler tek geçişli membran reseptörlerdir, ligantları semaforinlere benzer şekilde ekstrasellüler bölgelerinde bir SEMA domaini, ilaveten tekrarlayan PSI domaini ve üç glisin ve proline zengin immünglobulin

benzeri pleksinler ve transkripsiyon faktörleri (IPT/G-P) domainleri içerirler. Pleksinlerin intrasellüler (sitoplazmik) kısımları RHO-GTPaz-bağlayıcı (RBD) domaini ile iki segmente ayrılmış olan GTPaz-aktif eden protein domaini içerirler. Semaforin homodimerinin iki pleksin molekülüne bağlanmasının ardından, pleksinlerin sitoplazmik kısımlarının inaktif durumda monomerik-pleksin GAP domaininin aktif olduğu ve fonksiyonel dimer oluşturduğu gösterilmiştir. Ayrıca, B tipi pleksinler diğer pleksinlerde bulunmayan pro-protein konvertazlar ve C-terminallerinde PDZ domaini içerirler (Şekil 2).

**Şekil 2.** Pleksinlerin moleküler yapıları. Pleksinlerin yapıtaşları farklı geometrik şekillerde gösterilmiştir, kısaltılarak verilen domainler: Sema; semaforin, PSI; pleksin-semaforin-integrin, IPT; immünglobulin-pleksin-transkripsiyon faktör, GAP; GTRaz-aktif eden protein, RBD; RHO-GTPaz-bağlayıcı domain.



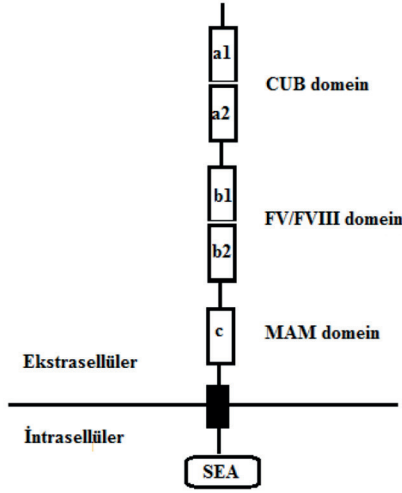
### Yardımcı reseptörleri:

#### Nörofilinler

Birçok transmembran reseptörler, semaforinler için yardımcı-reseptör (ko-reseptör) olarak görev yaparlar veya semaforin sinyalizasyonuna katılırlar. En iyi araştırılan pleksin ko-reseptörleri, ~900 amino asitlik transmembran proteinler olan nörofilinlerdir.

Nörofilinlerin iki tipi, nörofilin 1 (NRP1) ve nörofilin 2 (NRP2) dir. Nörofilinlerin hücre dışı kısımları, a1 ve a2 alanı olarak bilinen iki kompleman bağlayıcı domain (CUB) ve b1, b2 alanları olarak bilinen iki koagülasyon faktör domaini (FV/FVIII) ve bir MAM (Meprin, A-5 proteini ve reseptörü protein-tirozin fosfatase mu) alanı içerirler. Nörofilinlerin sitoplazmik bölgelerinde PDZ bağlayan bir Serin-glutamik asit-alanin motifi (SEA) bulunmaktadır (Şekil 3). b1 ve b2 domainleri, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ailesi proteinleri de dahil olmak üzere çeşitli ligandları bağlarken, a1 ve a2 domainleri, 3. sınıf semaforin mekanizmasına dahil olarak pleksin aktivasyonunu sağlar. MAM domainlerinin nörofilinlerin dimerizasyonuna aracılık ettiği düşünülmektedir. SEMA3A-NRP1-pleksin-A2 kompleksinin kristal yapısının yeni bir analizi, nörofilinin a1 domaininin 3. sınıf semaforinler ve sınıf A pleksinler arasındaki etkileşimi sağladığını göstermiştir [10]. Semaforin-reseptör komplekslerinde tanımlanan diğer transmembran proteinler arasında, nörofilin ile etkileşen nöral hücre adezyon molekülü L1 (LICAM) [11] ve sınıf B pleksinler ve pleksin D1 ile etkileşime giren reseptör tirozin kinazlar, ERBB2 ve MET yer alır [12,14].

**Şekil 3.** Nörofilinlerin moleküler yapıları. Nörofilinlerin yapısında kısaltılarak verilen domeinler: kompleman bağlayıcı domein (CUB), koagülasyon faktör domein (FV/FVIII), Meprin, A-5 proteini ve reseptörü protein-tirozin fosfataz mu (MAM), Serin, glutamik asit, alanin tripeptidi (SEA).



### Semaforinlerin ilişkili olduğu hastalıklar Fizyolojik fonksiyonlar

Semaforinlerin yapıları, çeşitliliği, farklı reseptörleri ve ko-reseptörleri bağlama ve aktive etme yetenekleri nedeniyle, semaforin sinyalleşmesinin sürekli büyüyen fizyolojik süreçler listesinde yer alması şaşırtıcı değildir. Semaforinler, sinir sistemi, dolaşım sistemi ve bağışıklık sisteminde yaygın bir şekilde çalışılmıştır. Ayrıca kemik, böbrek, akciğer ve diğer dokulardaki rolleri için aktif olarak araştırılmaktadır. Ek olarak son çalışmalar, semaforinlerin kanser progresyonu üzerinde büyük bir etkisi olduğunu göstermiştir. Bu sistemlerin her birinde semaforinlerin temel görevi, altta yatan hücre iskeletini modüle eden, hücre yapışmayı, şeklini, farklılaşmasını, hareketliliğini ve sağkalımını etkileyen sinyalleşme ağlarını başlatmaktır.

### Sinir sistemi

Semaforinleri aksonlar için tanımlayan en erken gelişmelerden beri bu sinyal moleküllerinin, gelişme ve sonrasında sinir sistemini şekillendiren birçok işleme dahil olduğu gösterilmiştir. Semaforinler, nöronal çoğalmayı ve göçü düzenler, nöronal polariteyi belirlemeye yardımcı olur, akson ve dendritler için itici ve çekici ileti gibi davranır, sinaps oluşumunu ve fonksiyonunu düzenler ve dendrit morfolojisini etkilerler [9,15,16]. Belki de şaşırtıcı olmayan bir şekilde, semaforinler ve ilgili reseptörleri gelişim ve fonksiyonda birçok rolleri göz önüne alındığında, Charge Sendromu, Epilepsi, Şizofreni ve Anksiyete Bozuklukları, Otizm, Alzheimer, Parkinson, Amyotrofik Lateral Skleroz, Multiple Skleroz gibi gelişimsel ve erişkin başlayan sinir sistemi hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir [9,17-19]. Bu hastalıkların/rahasızlıkların her biri ayrı bir etyolojiye sahipken anormal SEMA ekspresyonu veya fonksiyonunun, sinaptik yeniden düzenleme, sinaps kaybı veya değişen sinaptik fonksiyon da dahil olmak üzere hastalığın karakteristik özelliklerini oluşturan nöronal bağlantıdaki patolojik değişikliklere katkıda bulunması mümkündür. Semaforinlerin ayrıca sinir sistemi hasarından sonra önemli

moleküler oyuncular [20,21]. SEMA3A ve SEMA3F, merkezi sinir sisteminde (MSS) çevresel duyu ve motor projeksiyonlarının etrafındaki bölgelerde ifade edilir ve gelişmekte olan nöronların yanlış oluşumunu önler [22]. Spinal kord yaralanması gibi MSS travmasından sonra, aksonların rejeneratif büyümesi çok sınırlıdır ve kalıcı işlevsel hasarlar bırakmaktadır. Santral sinir sistemi akson rejenerasyonunun yetersizliğinden sorumlu faktörlerden biri, yaralanma bölgesinde büyüme önleyici faktörlerin varlığıdır ve birçok semaforinin, bu tür baskılayıcı (veya itici) aksonal kılavuz ipuçları olarak işlev gördüğü gösterilmiştir [20]. Özellikle, 3. sınıf semaforinler skar dokusunda hücreler tarafından ifade edilir ve SEMA3 reseptörleri yaralı MSS nöronlarında bulunur [23].

### Endokrin sistem

Semaforinler, nöronal rehberlikte rollerinin bir fonksiyonu olarak, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) nöronlarının göçü üzerindeki etkileri yoluyla nöroendokrin sistemin geliştirilmesine katılırlar [24,25]. Yapılan fare modeli çalışmalarında, GnRH nöronlarının göç yolu boyunca ifade edildiği ve birkaç semaforin veya reseptörlerinin kaybı ile GnRH nöronlarının anormal göçüyle ve üreme anormallikleriyle sonuçlandığı gösterilmiştir [26,29]. Bununla birlikte son çalışmalar, SEMA7A'nın yetişkin menstrual döngüsü boyunca hipotalamusta gerçekleşen periyodik nöroglial yeniden biçimlenmeyi kontrol ettiğini göstermiştir [30]. Yapılan başka bir çalışmada, SEMA4D'nin, MSS dışındaki fare yumurtalıklarında follikül gelişimi sırasında eksprese edildiği ve steroid hormonların folikül üretimini arttırdığı gösterilmiş [31], SEMA4D'nin kaybının anormal üreme ile sonuçlandığı bildirilmiştir [32]. Son çalışmalarda, Haşimato tiroidli hastalarda SEMA5A düzeylerinin arttığı [33], diyabetik retinopati ve nefropatide SEMA3A'nın biyobelirteç olabileceği [34], diyete bağlı obezitede SEMA3E'nin viseral yağ dokusunda inflamasyonu arttırdığı, insülin direncine ve diyabete katkıda bulunduğu bildirilmiştir [35,36].

### Dolaşım sistemi

Sema sinyalizasyon vaskülojenesis (endotel hücrelerinin farklılaşması ve bir araya getirilmesiyle primordiyal kan damarlarının oluşumu), anjiyogenezis (mevcut damarlardan yeni kan damarlarının oluşumu), kalp oluşumu ve lenfatik gelişme ile ilgilidir. Kan damarı ve nöronal ağlar genellikle benzer şekilde desenlenmiştir. Semaforinler ve diğer klasik nöronal sinyallerin her iki sistemi de organize ettiği açıkça görülmektedir [37,38]. Örneğin, PlexD1 reseptörleri gelişmekte olan kan damarı endotel hücreleri ile ifade edilir [39]. Fare ve zebra balığı üzerindeki genetik deneyler intersomitik kan damarlarının büyümesini yönlendirmek ve bu dorsal aortun oluşumunu yönlendirmek için pleksin reseptörleri vasıtasıyla 3. sınıf semaforin sinyalini kurmuştur [15,30]. Semaforinler kalbin gelişimine katılırlar. SEMA3A mutant farelerde yapılan çalışmalar, anormal sempatik nöron inervasyon ile tutarlı kalp inervasyon defektleri göstermiştir ve kardiyak inervasyonunda semaforin sinyalizasyonun rol oynadığı önerilmektedir [40]. Vasküler geçirgenlik durumunda, SEMA3A ve SEMA7A ifadesi vasküler geçirgenliği artırmak için endotel hücreleri arasındaki bağlantıları zayıflarken, SEMA3F sinyali, geçirgenliği azaltmak için bu kavşakları güçlendirir. Damar yaralanması durumunda, SEMA4D ve potansiyel olarak diğer semaforinler, hemostaz sırasında tromboz oluşumuna izin veren trombositler

arasındaki etkileşimlerin oluşturulmasında önemli bir rol oynamaktadır.

### İmmün Sistem

SEMA4D (CD100), T lenfositleri üzerinde bir antijen olarak bağışıklık sisteminde tanımlanan ilk semaforindir [41,42]. Günümüzde ise bağışıklık işlevleri, diğer 4. sınıf semaforinlerin yanı sıra 3, 6 ve 7. Sınıf semaforinler ile NRP ve pleksin reseptörleri için de tarif edilmiştir [43]. Hem artmış hem de azalmış Sema sinyali, MS, Romatoid Artrit, Sistemik Lupus Eritematoz, Alerjik Hastalıklar gibi bağışıklık sistemi hastalıklarıyla bağlantılıdır. Yakın tarihli çalışmalar, bağışıklık hücresi göç olaylarının semaforinler tarafından aracılık edildiğini ortaya çıkarmaya başlamıştır. Örneğin, birkaç semaforin ve bunların reseptörleri (NRP'ler ve pleksinler) timusta ve timusdan geçerek olgun T hücreleri haline gelen T-lenfositlerinde (timosit) ekspresyon edilmiştir. Cozacov ve arkadaşlarının yaptığı in vitro bir çalışmada, SEMA3A serum seviyeleri ve Tregler üzerindeki ekspresyonunun, orta ve şiddetli astımı olan hastalarda sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede düştüğünü göstermiştir [44].

### Kemik metabolizması ve kemik hastalıkları

Kemik dokusunun büyük bir kısmı rezorpsiyon ve kemik matrisi oluşumu ile sürekli yenilenir [45]. Uygun bir kemik yoğunluğunun korunması için, bu kemik dokusunun yeniden biçimlendirilmesi dengeli olmalıdır. Özellikle net kemik doku kaybı, osteoporoz veya kanserde meydana gelen lokal kemik yıkımı gibi bir çok kemik bozukluğunun karakteristik bir özelliğidir. İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGFI) ve TGF $\beta$  da dahil olmak üzere çoklu sistemik ve lokal faktörlerin etkisi altında mezenkimal kök hücrelerden gelişen osteoblastlar, kemik oluşumundan sorumlu kilit hücrelerdir. Buna karşılık, kemik materyali, makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) ve nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B) ligandı (RANKL) için reseptör aktivatörü de dahil olmak üzere çeşitli mediyatörlerin etkisi altında, hematopoietik kök hücrelerden gelişen büyük ve çok çekirdekli hücreler olan osteoklastlar tarafından rezorbe edilir. Son kanıtlar, semaforin-pleksin sisteminin kemik hücreleri arasındaki bu iletişimde önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir [8,46].

Farelerde, SEMA3A osteoblastlar tarafından üretilir ve öncü hücrelerden osteoklastların farklılaşmasını önler. SEMA3A eksik farelerin kemik yoğunluğunu düşürdüğünün belirlendiği çalışmada, intravenöz SEMA3A enjeksiyonu, farelerde meydana getirilen menopoz modelinde kemik kaybını önlemiş ve SEMA3A'nın kemik kaybını azaltmak için potansiyel bir ajan olabileceğini düşündürmüştür [47]. SEMA3A, osteoklast farklılaşması üzerindeki inhibisyon etkilerine ilaveten, osteoklast öncüllerini püskürtür ve muhtemel kemik rezorpsiyonu üzerindeki olumsuz etkilerine katkıda bulunur. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, SEMA3A'nın kemik dokusunun doğru duyuşal invazyonunun gelişmesinde önemli bir rolü olduğu gösterildi ve SEMA3A eksik farelerde kemik kaybından nöron kaynaklı SEMA3A'nın (ancak osteoblast değil) sorumlu olduğu tespit edildi [48]. Bu veriler, SEMA3A'nın gelişim sırasında duyuşal invazyonu modüle ederek kemik metabolizmasını düzenlediğini göstermektedir.

Osteoklastlar tarafından kemik rezorpsiyonu sırasında osteoblast farklılaşması baskılanır ve SEMA4D bu sürecin kritik bir aracısıdır. Osteoklastlar tarafından ekspresyon edilen SEMA4D, osteoblastlar tarafından gerçekleştirilen

mineralizasyonu inhibe eder ve osteoklast oluşumunu indükler [49]. Yapılan çalışmada, osteoklast kaynaklı osteoblast oluşumu ve fonksiyonunun engellenmesindeki rolü ile uyumlu olarak, SEMA4D veya reseptör pleksin B1'den yoksun farelerin kemik kütlesi artmıştır (47). Dacquin ve ark. [49], ekstra hematopoietik hücrelerdeki SEMA4D kaybının kemik kütlesi artışından sorumlu olduğunu göstermişken, Negishi-Koga ve ark. [8] bunun yerine, osteoklastlar da dahil olmak üzere hematopoietik hücrelerdeki SEMA4D kaybının artmış kemik külesine yol açtığını göstermiştir. Gelecekteki yapılacak çalışmalar, SEMA4D'nin kemik fonksiyonu üzerindeki etkilerinin altında yatan mekanizmanın açıklığa kavuşturulması üzerine odaklanmalıdır.

## SONUÇLAR VE PERSPEKTİFLER

1990'lı yıllarda semaforin-pleksin sisteminin bulunmasından bu yana, semaforin-pleksin sinyalizasyonunun çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde önemli bir rolü olduğu gösterilmiş ve çeşitli hastalıkları tedavi etmek için yeni ilaçların geliştirilmesi için bir hedef olarak ortaya çıkmıştır. Son 10 yılda yapılan çalışmalar, semaforinler ve pleksinlerin moleküler ve hücresel işlevlerinin temel mekanizmalarını tanımlamıştır ve bu proteinlerin birçoğunun belirli hastalıklarda çok önemli rol oynadıkları görülmüştür. Çeşitli patolojik durumlarda, semaforinlerin veya semaforin-pleksin fonksiyon inhibitörlerinin uygulanması, klinik öncesi hastalık modellerinde koruyucu veya terapötik etkilere sahiptir. Küçük molekülü ilaçlar ve çeşitli biyolojik ajanlar, klinik öncesi hastalık modellerinde geliştirilmiş ve test edilmiştir. Bu yeni keşiflere, belirli hastalıkları önlemek veya tedavi etmek için semaforin-pleksin sinyalinin bloke eden veya teşvik eden yeni yaklaşımlar tanımlayan, literatürde giderek artan sayıda rapor eşlik etmiştir. Son 5 yılda, semaforinler ve pleksinlerin yapısını anlamada ilerleme kaydedilmiştir. Semaforin-pleksin sisteminin bir ilaç hedefi olduğunu düşündüren verilerin çoğu, farelerde ve ratlarda yapılan deneyler ve klinik öncesi hastalık modellerinde gösterilmiştir. Semaforin-pleksin sistemini hedef alan ilaçların geliştirilmesine yönelik mevcut çabalar, hayvan deneylerinde elde edilen verilerin insanlarda uygulanıp uygulanamayacağını göstermek zorundadır.

Semaforin-pleksin sistemini hedef alan terapötiklerin gelişimi için en umut verici alanlar kanser, kemik hastalıkları (osteoporoz gibi), bağışıklık ve inflamatuvar bozukluklar, mikrovasküler hastalıklar ve yaralanmadan sonra sinirsel rejenerasyon olarak gösterilmektedir. Birçok semaforinin kendisi özellikle de kanser başta olmak üzere terapötik potansiyele sahiptir, bunları stabilize etmek, potenslerini ve etkinliklerini geliştirmek için yeni yollar bilim insanlarının ilgi alanındadır.

Pleksin aktivasyonunun temel mekanizmaları son yıllarda açıklığa kavuşmuş olmasına rağmen, pleksinlerin ve diğer semaforin reseptörlerinin nasıl sinyal verdiğini henüz ortaya konmamıştır. Pleksinlerin önemli sinyal işlevleri henüz keşfedilmemiş olabilir. Semaforin-pleksin sisteminin, spesifik protein-protein etkileşimine bağlı olarak çeşitli hastalık süreçlerinde kritik fonksiyonları olduğu göz önüne alındığında, bu proteinler umut vadeden ilaç hedefleri olup, potansiyelleri önümüzdeki yıllarda ortaya çıkacaktır.

## KAYNAKLAR

- [1] Luo Y, Raible D, Raper J.A. 1993. Collapsin: a protein in brain that induces the collapse and paralysis of neuronal growth cones. *Cell*. 75, 217–227
- [2] Kolodkin AL, Matthes DJ, Goodman CS. 1993. The semaphorin genes encode a family of transmembrane and secreted growth cone guidance molecules. *Cell*. 75:1389–1399.
- [3] Raper JA, Kapfhammer JP. 1990. The enrichment of a neuronal growth cone collapsing activity from embryonic chick brain. *Neuron*. 1990;4:21–29.
- [4] Robert P. K, Jennifer A, Kun-Liang G. 2005. Semaphorins command cells to move. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. volume6, pages 789–800
- [5] Alto LT, Terman JR. 2017. Semaphorins and their signaling mechanisms. *Methods Mol Biol*. 1493:1-25.
- [6] Siebold C, Jones E. Y. 2013. Structural insights into semaphorins and their receptors. *Semin. Cell Dev. Biol*. 24, 139–145.
- [7] Kang S, Kumanogoh A. 2013. Semaphorins in bone development, homeostasis, and disease. *Semin. Cell Dev. Biol*. 24, 163–171
- [8] Negishi-Koga T, Takayanagi H. 2012. Bone cell communication factors and Semaphorins. *BoneKey Rep*. 1, 183.
- [9] Pasterkamp R. J, Giger R. J. 2009. Semaphorin function in neural plasticity and disease. *Curr. Opin. Neurobiol*. 19, 263–274
- [10] Janssen, B. J. et al. 2012. Neuropilins lock secreted semaphorins onto plexins in a ternary signaling complex. *Nature Struct. Mol. Biol*. 19, 1293–1299
- [11] Castellani V, De Angelis E, Kenwric S, Rougon G. 2002. Cis and trans interactions of L1 with neuropilin 1 control axonal responses to semaphorin 3A. *EMBO J*. 21, 6348–6357.
- [12] Swiercz J. M, Kuner R, Offermanns S. 2004. Plexin B1/ RhoGEF-mediated RhoA activation involves the receptor tyrosine kinase ErbB 2. *J. Cell Biol*. 165, 869–880.
- [13] Giordano S et al. 2002. The semaphorin 4D receptor controls invasive growth by coupling with Met. *Nature Cell Biol*. 4, 720–724.
- [14] Casazza A. et al. 2010. Sema3E Plexin D1 signaling drives human cancer cell invasiveness and metastatic spreading in mice. *J. Clin. Invest*. 120, 2684–2698.
- [15] Tran TS, Kolodkin AL, Bharadwaj R. 2007. Semaphorin regulation of cellular morphology. *Annual review of cell and developmental biology*. 23:263–292.
- [16] Yoshida Y. 2012. Semaphorin signaling in vertebrate neural circuit assembly. *Frontiers in molecular neuroscience*. 5:71.
- [17] Hota PK, Buck M. 2012. Plexin structures are coming: opportunities for multilevel investigations of semaphorin guidance receptors, their cell signaling mechanisms, and functions. *Cell Mol Life Sci*. 69:3765–3805.
- [18] Mann F, Chauvet S, Rougon G. 2007. Semaphorins in development and adult brain: Implication for neurological diseases. *Progress in neurobiology*. 82:57–79.
- [19] Yaron A, Zheng B. 2007. Navigating their way to the clinic: emerging roles for axon guidance molecules in neurological disorders and injury. *Developmental neurobiology*. 67:1216–1231.
- [20] Fawcett JW, Schwab ME, Montani L, et al. 2012. Defeating inhibition of regeneration by scar and myelin components. *Handbook of clinical neurology*. 109:503–522.
- [21] Giger RJ, Hollis ER, Tuszynski MH. 2010. Guidance molecules in axon regeneration. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2:a001867.
- [22] Wang F, Julien DP, Sagasti A. 2013. Journey to the skin: Somatosensory peripheral axon guidance and morphogenesis. *Cell adhesion & migration*. 7:388–394.
- [23] Pasterkamp, R. J, Verhaagen, J. 2006. Semaphorins in axon regeneration: developmental guidance molecules gone wrong? *Phil. Trans. R. Soc*. 361, 1499–1511
- [24] Giacobini P, Prevot V. 2013. Semaphorins in the development, homeostasis and disease of hormone systems. *Seminars in cell & developmental biology*.;24:190–198.
- [25] Messina A, Giacobini P. 2013. Semaphorin signaling in the development and function of the gonadotropin hormone-releasing hormone system. *Frontiers in endocrinology*. 4:133.
- [26] Giacobini P, Messina A, Morello F, et al. 2008. Semaphorin 4D regulates gonadotropin hormone-releasing hormone-1 neuronal migration through PlexinB1-Met complex. *J Cell Biol*. 183:555–566.
- [27] Messina A, Ferraris N, Wray S, et al. 2011. Dysregulation of Semaphorin7A/beta1-integrin signaling leads to defective GnRH-1 cell migration, abnormal gonadal development and altered fertility. *Human molecular genetics*. 20:4759–4774.
- [28] Cariboni A, Hickok J, Rakic S, et al. 2007. Neuropilins and their ligands are important in the migration of gonadotropin-releasing hormone neurons. *J Neurosci*. 27:2387–2395.
- [29] Cariboni A, Davidson K, Rakic S, et al. 2011. Defective gonadotropin-releasing hormone neuron migration in mice lacking SEMA3A signalling through NRP1 and NRP2: implications for the aetiology of hypogonadotropic hypogonadism. *Human molecular genetics*. 20:336–344.
- [30] Parkash J, Messina A, Langlet F, et al. 2015. Semaphorin7A regulates neuroglial plasticity in the adult hypothalamic median eminence. *Nature communications*. 6:6385.
- [31] Regev A, Goldman S, Shalev E. 2007. Semaphorin-4D (Sema-4D), the Plexin-B1 ligand, is involved in mouse ovary follicular development. *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*. 5:12.
- [32] Dacquin R, Domenget C, Kumanogoh A, et al. 2011. Control of bone resorption by semaphorin 4D is dependent on ovarian function. *PloS one*. 6:e26627.
- [33] Liu Y, Wang S, Guo Q, et al. 2017. Elevated semaphorin 5A in patients with Hashimoto's thyroiditis: a case-control study. *Endocr Connect*. 6(8):659-666.
- [34] Kwon SH, Shin JP, Kim IT, Park DH. 2016. Association of Plasma Semaphorin 3A With Phenotypes of Diabetic Retinopathy and Nephropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 57(7):2983-9.
- [35] Shimizu I, Yoshida Y, Moriya J et al. 2013. Semaphorin3E-induced inflammation contributes to insulin resistance in dietary obesity. *Cell Metab*. 18(4):491-504.
- [36] Schmidt AM1, Moore KJ. 2013. The Semaphorin 3E/PlexinD1 axis regulates macrophage inflammation in obesity. *Cell Metab*. 18(4):461-2.
- [37] Carmeliet P, Tessier-Lavigne M. 2005. Common mechanisms of nerve and blood vessel wiring. *Nature*. 436:193–200.
- [38] Gelfand MV, Hong S, Gu C. 2009. Guidance from above: common cues direct distinct signaling outcomes in



vascular and neural patterning. *Trends Cell Biol.* 19:99-110.

[39] Van der Zwaag B, Hellemons AJ, Leenders WP, et al. 2002. PLEXIN-D1, a novel plexin family member, is expressed in vascular endothelium and the central nervous system during mouse embryogenesis. *Dev Dyn.* 225:336–343

[40] Ieda M, Fukuda K. 2009. New aspects for the treatment of cardiac diseases based on the diversity of functional controls on cardiac muscles: the regulatory mechanisms of cardiac innervation and their critical roles in cardiac performance. *Journal of pharmacological sciences.* 109:348–353

[41] Bougeret C, Mansur IG, Dastot H, et al. 1992. Increased surface expression of a newly identified 150-kDa dimer early after human T lymphocyte activation. *J Immunol.* 148:318–323.

[42] Delaire S, Elhabazi A, Bensussan A, et al. 1998. CD100 is a leukocyte semaphorin. *Cell Mol Life Sci.* 54:1265–1276.

[43] Kumanogoh A, Kikutani H. 2013. Immunological functions of the neuropilins and plexins as receptors for semaphorins. *Nature reviews Immunology.* 13:802–814.

[44] Cozacov R, Halasz K, Haj T, Vadasz Z. 2017. Semaphorin 3A: Is a key player in the pathogenesis of asthma *Clin Immunol.* 184:70-72

[45] Del Fattore A, Teti A, Rucci N. 2012. Bone cells and the mechanisms of bone remodelling. *Front. Biosci. (Elite Ed.)* 4, 2302–2321.

[46] Tamagnone L. 2012. Emerging role of semaphorins as major regulatory signals and potential therapeutic targets in cancer. *Cancer Cell* 22, 145–152.

[47] Hayashi M, et al. 2012. Osteoprotection by semaphorin 3A. *Nature* 485,69–74.

[48] Fukuda T, et al. 2013. Sema3A regulates bone-mass accrual through sensory innervations. *Nature* 497,490–493.

[49] Dacquin R, et al. 2011. Control of bone resorption by semaphorin 4D is dependent on ovarian function. *PLoS ONE* 6.



## Pestisitlerle Kirletilmiş Ortamların Biyoremediasyonu

Ülküye Dudu Gül<sup>1,2</sup> Şule Aybüke Yavuz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sağlık Hiz. MYO, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilecik, Türkiye

<sup>2</sup>Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilecik, Türkiye

<sup>3</sup>Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilecik, Türkiye

\*Sorumlu Yazar:

Geliş Tarihi : 15 Mayıs 2018

E-posta: [ulkuyedudu.gul@bilecik.edu.tr](mailto:ulkuyedudu.gul@bilecik.edu.tr)

Kabul Tarihi: 19 Ekim 2018

### ÖZET

Modern tarım uygulamalarında pestisitler verim artırıcı olarak kullanılmasına karşın, uygunsuz pestisit kullanımı sonucu yüksek miktarlardaki pestisitler toprak ve sulara birikmektedir. Hem çevre hem de sağlık açısından problemler oluşturan bu pestisitlerin biyoremediasyon teknolojileri ile alıcı ortamlardan uzaklaştırılması yaklaşımları son zamanlarda önem kazanmıştır. Bu çalışmada literatürde hem dünya hem de ülkemizde pestisit kullanımı ile ilgili veriler derlenmiş olup, kullanılan pestisitlerin oluşturduğu sorunların giderimi için son yıllarda yapılan biyoremediasyon çalışmaları incelenmiştir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde; biyoremediasyon teknolojilerinin pestisitlerle kirletilmiş ortamların iyileştirilmesinde başarılı bir şekilde kullanılabildiği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyoremediasyon, çevre kirliliği, pestisit

## Bioremediation of Pesticide Contaminated Environment

### ABSTRACT

Although pesticides are used as fertilizer in modern agriculture practices, high amounts of pesticides accumulate in soil and water, resulting in inappropriate pesticide use. Approaches to the removal of these pesticides from the receiving environment with bioremediation technologies have gained importance in recent times, which are problems both in terms of environment and health. In this study, data on the use of pesticides in both the world and our country have been collected in the literature and bioremediation studies carried out in recent years for the remediation of problems caused by used pesticides have been examined. When the studies in the literature are examined; it has been found that bioremediation technologies can be used successfully in the amelioration of pesticide contaminated environments.

**Keywords:** Bioremediation, environmental pollution, pesticide

## GİRİŞ

Son yıllarda tarımsal üretim faaliyetleri önemli derecede artan bir nüfusun gıda talebini karşılamak amacıyla artış göstermiştir. Tarımsal üretimin verimini artırmada önemli rolü olan pestisitlerin kullanımındaki artışa bağlı olarak daha yüksek verimle tarımsal üretim mümkün hale gelmiştir.

Pestisitler haşere olarak adlandırılan böcekler, fareler ve diğer hayvanlar, yabancı otlar gibi istenmeyen bitkiler veya mikroorganizmalar gibi tarımsal verime zarar veren canlıları öldürücü, yok edici veya önlenmesi için kullanılan maddeler veya karışımlardır [1]. Modern tarıma önemli katkısı olan pestisitlerin aşırı ve kalıcı kullanımları, tarım arazilerinde hasara yol açmakla birlikte ciddi toprak kirliliğine, toprak kalitesinin ve çevrenin bozulmasına neden olmaktadır. Tarımsal alanlara uygulanan pestisitlerin büyük bir yüzdesi hiçbir zaman hedef organizmalara tam olarak ulaşmamaktadır [2]. Çizelge 1'de farklı pestisit grupları ve etkilediği hedef zararlı grubu verilmiştir.

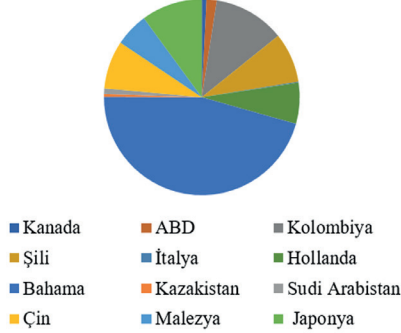
Çizelge 1. Pestisitlerin Önemli Sınıfları [3]

Pestisit Tipleri	Hedef Zararlı Grubu
Akarisit	Kene, Örtümcek
Bakterisit	Bakteri, Virüsler, Diğer mikroplar
Avenisit	Kuşlar
Fungusit	Funguslar
Herbisit	Yabancı Otlar
İnsektisit	Böcekler
Mollusisit	Salyangoz, Sümüklü böcek
Nematisit	Nematodlar
Predasit	Omurgalı yırtıcı hayvanlar
Rodentisit	Kemiriciler

Birleşmiş Milletler Çevre Programı Yönetim Konseyi 1995 yılında çevre ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle 12 adet kimyasal Kalıcı Organik Kirlenici (KOK) olarak tanımlanmıştır. Çevreye salınımını ortadan kaldırmak veya azaltmak için önlemler alınması gereken bu toksik bileşikler için küresel bir yasaklama politikası geliştirilmiştir. Bu KOK'ların sekizi insektisit (endrin, heptaklor, mireks, toksafen, aldrin, klordan, dieldrin ve DDT), biri fungusit (heksaklorobenken, HCB), diğerleri ise dioksinler (bazıları böcek ilaçlarının yan ürünleri), PCB'ler

ve PCDF'lerdir. Bu toksik pestisitler çevrede uzun süre var olmaya devam etmekte olup, besin zincirinde biyolojik olarak bozunmaktadır [4].

Dünya genelinde pestisit kullanımına devam edilmesinin (Şekil 1) yanı sıra bilinçsiz pestisit kullanımına karşı önlemler alınmaktadır. Pestisit kullanımı Bahama'da 59,4 kg/Ha iken, İtalya'da 0,2 kg/Ha'dır (Şekil 1).



Şekil 1. Dünyada Pestisit Kullanımı (kg/he)

Ülkemizde de uzun yıllardan beri tarımsal uygulamalarda pestisitler yüksek miktarlarda kullanılmaktadır. Çizelge 2'de ülkemizde 2002 ile 2013 yılları arasında kullanılan farklı gruplardaki pestisitlere ait kullanım miktarları verilmiştir. Çizelge 2'de görüldüğü üzere 2002 yılında en fazla 3,697 ton herbisit grubu pestisitler kullanılırken, 2013 yılında en fazla 16,248 ton ile fungusitler kullanılmıştır. Diğer taraftan 2011 yılında 18,124 ton değerine ulaşmış olan fungusit kullanımı 2012 ve 2013 yıllarında ise azalmıştır. Bu durum tarımsal zararlı mantarların mücadelesinde başarıya ulaşıldığını ve kullanım miktarının sonraki yıllarda azalarak devam ettiğini göstermektedir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Türkiye'de Yıllara Göre Pestisit Tüketimi (Ton)

[5, 6]

Yıllar/ Pestisitler	Insektisit (Böcek öldürücü)	Fungusit (Mantar öldürücü)	Herbisit (Bitki öldürücü)	Akarisit (Örümcek öldürücü)	Rodentisit (Fare öldürücü)
2002	2,251	1,964	3,697	297	1,8
2006	3,406	4,432	5,400	219	6,7
2007	7,304	4,945	4,638	315	11,0
2008	9,251	17,863	6,177	737	351
2009	9,914	17,396	5,961	1,533	78
2010	7,176	17,546	7,452	1,040	147
2011	6,120	18,124	7,407	1,062	421
2012	7,264	15,525	7,351	859	247
2013	7,741	16,248	7,336	858	129
<b>Toplam</b>	<b>60,427</b>	<b>114,043</b>	<b>55,423</b>	<b>6,920</b>	<b>1.392,5</b>

Ülkemizde de pestisitlerin bilinçsiz ve gereksiz kullanımını önlemek amacıyla çeşitli yasal sınırlamalar getirilmiştir. Çizelge 3'de Türkiye'de 2013-2014 yıllarında bazı bitkilerde bulunan pestisit miktarlarının yasal sınırları ve sınırın üzerindeki değerler verilmiştir.

Çizelge 3. Türkiye'de 2013-2014 Yıllarında Bitkilerde Bulunan Pestisit Miktarlarının Yasal Sınırı ve Sınırın Üzerindeki Değerleri (mg/kg) [7]

Pestisit	Ürün	Yasal Sınır (MKL)	Bulunan En Düşük ve En Yüksek Miktar (mg/kg)
Captan	Salatalık	0,02	0,031 – 0,896
Folbet	Kabak	0,02	0,078 – 0,861
Iprodione	Biber	0,05	0,012 – 0,452
Azinphos-methyl	Portakal	0,05	0,012 – 0,254
Fenamiphos	Patlıcan	0,02	0,037 – 0,112
Acetamiprid	Domates	0,15	0,012 – 0,667
Cyhexatin	Çilek	0,01	0,014 – 0,090

Bilinçsiz ve gereksiz pestisit tüketiminin neden olduğu en önemli sorunlardan biri de zararlı organizmalarda görülen duyarlılık azalışı ve takiben dayanıklılık sorunudur [5]. Bir pestisite karşı organizmaların duyarlılığı azaldıkça, o pestisit etkinliği de düşmektedir. Direncin ortaya çıkışına en fazla etki eden faktörlerin başında, pestisit dayanıklılık açısından riski ile pestisitlerin kullanım biçimi gelmektedir. Bilinçsiz ve kontrolsüz kullanım, ilaca karşı zararlı direncinin daha hızlı ortaya çıkmasına yol açmaktadır [8].

Pestisitler toprağa uygulandığında, oluşan tortular ve metabolitler atıklar halinde toprakta yüksek seviyelerde birikebilmektedir. Pestisitlerin çevre ve insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri, artık dünya genelindeki hükümetler ve insanlar tarafından kabul edilmiştir. Günümüzde insan sağlığını korumak ve sürdürülebilir kalkınmayı sağlamak için kirlenmiş toprakları iyileştirmek istenen bir hedef haline gelmiştir [9].

Ülkemizde ve dünyada tarımsal uygulamalarda kullanılan pestisitler ürün verimini artırmakta ancak kalıntı analizlerinde yüksek çıkan pestisit miktarları tarımsal ürünlerin ekonomik değerini olumsuz etkilemektedir. Diğer taraftan tarımsal alanlara uygulanan pestisitler toprak ve su kirliliğine neden olmaktadır. Çevre ve sağlık üzerine olumsuz etkileri olan toksik pestisitlerin toprak ve sulardan giderimi oldukça önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu derleme çalışmasının amacı, son yıllarda pestisitler ile kirlenmiş toprakların biyoremediasyonu ile ilgili literatürü özetlemektir.

### Pestisit Remediasyonu

Pestisitlerle kirlenmiş topraklar tek bir kirletici yerine farklı bileşiklerin kompleks karışımlarını içerdiğinden, bunların iyileştirilmesi karmaşık bir süreç olabilmektedir. Bir pestisiti azaltmak, ortadan kaldırmak, izole etmek veya stabilize etmek için toprak remediasyon teknolojileri fiziksel, kimyasal veya biyolojik süreçleri kullanmaktadır. Remediasyon; geleneksel ve biyolojik olmak üzere iki yönetime ayrılmaktadır.

Geleneksel remediasyon kazı ve tarama, toprak buharı çıkarma, katılaşma ve stabilizasyon, toprak yıkama, hava serpme, pompalama ve arıtma, kimyasal oksidasyon ve yakma gibi yöntemleri kapsamaktadır. Geleneksel yöntemlerin maliyetinin yüksek olması, tamamen kirletici giderim yapamamaları, seçiciliklerinin düşük olması, uygulamada fazla enerji harcamaları, pahalı ekipmana gereksinim duymaları, ağır metal kirliliğinin yüksek derişimlerde olması durumunda etkin olmamaları ve zehir

etkisi oluşturmaları gibi dezavantajları bulunmaktadır [10].

Biyolojik remediasyon (biyoremediasyon) ise tehlikeli maddeleri, zararsız veya daha az zararlı maddelere parçalamak için bitkiler, algler, bakteriler ve mantarlar gibi canlı organizmaların kullanıldığı uzun süreli arıtım proseslerini içermektedir. Biyoremediasyonun kirleticinin olduğu bölge (ortam içi) veya kirleticili maddelerin kirlenmiş bölgeden alınıp başka yerde muamele edilmesi (ortam dışı) olmak üzere iki farklı yaklaşımı bulunmaktadır. Ortam dışı biyoremediasyon kirliliklerin çıkarımını ve bunların özel bir bölgeye yerleştirilmesini içermektedir. Bu özel bölge, çevre koşullarının sağlanabilmesi ve işlemlerin daha kolay izlenebilmesi avantajını sağlamaktadır. Böylece biyoremediasyon süreci daha hızlı gerçekleşmektedir. Buna rağmen, kirlilik giderimi zaman alıcı ve pahalıdır. Ayrıca yüzeyden kirliliklerin giderilmesi, çalışanların ve genel halkın zehirli materyalden olumsuz etkilenmesine neden olabilmektedir. Bunun tersine ortam içi biyoremediasyon kirlenmiş bölgeden kirliliklerin çıkarılmasını gerektirmez. Kirleticilerin çıkarılmasına gerek duyulmaması ortam içi biyoremediasyon için önemli bir avantajdır. Örneğin kirleticilerin çıkarılmasında görev alacak çalışanların kirliliklerden etkilenmez. Buna ek olarak bu yöntemin maliyeti ortam dışı biyoremediasyona göre daha azdır.

**Çizelge 4.** Biyoremediasyonu etkileyen faktörler [13]

Uygun Kimyasal ve Biyolojik Faktörler	Uygun Olmayan Kimyasal ve Biyolojik Faktörler
Az sayıda organik kirlilik	Birçok organik ve inorganik kirleticilerin karışımı
Aşırı toksik olmayan kirleticiler	Toksik kirleticiler
Mikroorganizmaların çeşitliliği	Düşük mikrobiyal popülasyon
Oksidasyon için uygun elektron alıcı	Oksidasyon için elektron alıcısı yokluğu
Uygun pH aralığı	Uygun olmayan pH aralığı
Uygun Hidrojeolik Faktörler	Uygun Olmayan Hidrojeolik Faktörler
Granüler boşluklu alan	Kırınc kayalar
Yüksek permeabilite ( $10^{-4}$ cm/s)	Düşük permeabilite
Uniform mineraloji	Kompleks mineraloji
Homojen alan	Heterojen alan
Doyurulmuş tabaka	Doyurulmamış tabaka

Uygun teknolojilerin seçimi, saha özellikleri ve pestisitlerin konsantrasyonu, türü ve kontamine ortamın son kullanımı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Organik pestisitlerin giderimi, benzer özelliklere sahip diğer organik kirleticiler için geliştirilen tekniklerden herhangi biri kullanılarak yapılabilir. Bu derlemede çalışmada sadece pestisitlerle kirlenmiş toprakların biyoremediasyon süreçleri incelenmiştir. Bu bağlamda bitkiler, algler, bakteriler ve mantarlar gibi mikroorganizmalarla yapılan biyoremediasyon çalışmaları araştırılmıştır.

#### Bitkilerle Pestisit Biyoremediasyonu

Çevredeki kirleticileri gidermek için bitkilerin kullanımı fitoremediasyon olarak adlandırılmaktadır. Fitoremediasyon terimi ilk olarak 1980'lerde kullanılmış, ancak organik kirleticilerdeki hızlı artış son yüzyılın sonunda başlamıştır [14]. Bazı pestisitler gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşikler bitki zarları boyunca nakledilip, daha sonra topraktan çıkarılabilmektedir. Yapraklardan evapotranspirasyon işlemleri yoluyla serbest bırakılabilirler. Uçucu olmayan bileşikler bozulabilir (fitodegradasyon) veya enzimatik modifikasyon yoluyla toksik hale gelemeyen veya rizosferde bulunan mikroorganizmalar tarafından bozunur

Yine de bu yöntemin de birtakım dezavantajları vardır. Özel biyoremediasyon bölgesi içermediğinden koşulların denetlenmesi ve işlemlerin izlenebilmesi diğer yöntemlere göre çok daha zordur [11].

Biyoremediasyon diğer yöntemlerden daha ekonomik olması, proses sonunda atık madde üretmemesi ve diğer teknolojilerle birleştirilebilmesi nedeniyle avantaj sağladığı için son yıllarda tercih edilen bir teknoloji olmuştur. Diğer taraftan biyoremediasyonun dezavantajları arasında ise filtrelerin veya enjeksiyon kanallarının mikroorganizmalarca tıkanabilmesi, düşük geçirgenli akiferlere (yer altı suyunu tutan ve ileten kayalar) uygulanmasının zor olması, uygulanan akiferlerde sadece fazla geçirgen tabakaların temizlenebilmesi, sürekli izlenme ve bakım gerektirmesi sayılabilir [10].

Başarılı bir biyoremediasyon stratejisi, toprak özelliklerindeki değişken etmenleri de kapsayacak özellikte olmalıdır. Toprak özellikleri, toprak kirleticilerinin davranışlarını önemli ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle kullanıma uygun bir remediasyon metodu, spesifik toprak özelliklerini ve arıtımı yapılacak alanın şartlarını göz önünde bulundurmalıdır [12]. Biyoremediasyonu etkileyen faktörler hidrojeolojik, kimyasal ve biyolojik faktörler şeklinde gruplandırılabilir (Çizelge 4).

(rizodegradasyon). Bitkilerde tutulan bu toksik bileşikler, yakma için biyokütle ile ayrılabilir [14]. Bitki aktivitesi ile giderim; iyileştirilecek ortama, kullanılan bitkinin türüne ve aynı zamanda kirleticinin özelliklerine bağlıdır [15].

*Thlapsi sp.*, *Urtica sp.*, *Chenopodium sp.*, *Polygonum sachalase* ve *Allyssim sp.* gibi bazı bitkilerin kadmiyum, bakır, kuşun, nikel ve çinko bünyelerinde biriktirme yetenekleri vardır ve bu nedenle söz konusu bitkilerin yetiştirilmesi kirlenmiş toprakların arıtılmasında dolaylı bir metot olarak kabul edilmektedir [16]. Karthikeyan ve ark. (2004), pestisit ile kirlenmiş toprağın düzeltilmesinde ağaç, çalı ve ot gibi hedef olmayan bitkilerin potansiyel kullanımıyla ilgili ayrıntılı bilgi vermiştir [17]. White (2002) ve White ve ark. (2003), DDT (dikloro - difenil trikloroetan)'nin yıkım ürünü olan DDE'nin alınmasının belirli alt türlere özgü olduğunu bildirmiştir [18,19]. *Cucurbitaceae* familyasından olanlar gibi bitkiler önemli ölçüde daha yüksek alım gösterirler. Mitton ve ark. (2016) domates, soya fasulyesi veya kaba yonca bitkilerine göre ayçiçeğinin, endosülfanı özütleme kapasitesi en yüksek bitki olduğunu göstermiştir [20]. Ancak, DDT (dikloro - difenil trikloroetan) ile kirlenmiş topraklarda domates bitkileri en uygun fitoremediasyon adayı gibi görünmektedir [21,20].

Fitoremediasyonda, son on yılda, spesifik pestisit-giderici enzimleri ifade eden transgenik bitkiler geliştirilmiştir [22,23]. Metabolizmaya dahil olan genlerin aşırı ekspresyonu, transgenik bitkilerde spesifik kirlenici maddelerin alınması veya taşınması, yüksek konsantrasyonlarda pestisitler veya organik kirleniciler biriktiren bitkilerin bertaraf edilmesi gibi bazı fito-modifikasyon dezavantajlarının üstesinden gelmeye olanak tanır [24,25]. Pestisitler, belirli transgenik bitkiler tarafından toksik olmayan metabolitlere indirgenmiş veya tamamen mineralize edildiğinde, bitkiler güvenli bir şekilde bertaraf edilebilmektedir. Saha uygulamaları çevre ve biyolojik çeşitlilik üzerindeki olası etkileri nedeniyle henüz düzenlenmiş olmasa da yakın gelecekte bu strateji giderek daha fazla dikkat çekmektedir. İyileştirme amaçlı seçilen bir bitkinin iyileştirme yapılacak her ortam için uygun hale getirilmesi gerektiğinden, iyi bir aday bitki pestisitlerle kirlenmiş alanda doğal bitki ortamında veya spesifik kirlenmiş toprakta yetişebilmelidir. Her iki durumda da bitkiler kirlenici konsantrasyonunu azaltabilmelidir.

Fitoremediasyon ve mikrobiyal biyoremediasyon stratejilerinin etkileri, organik bileşiklerin iyileştirilmesinde daha başarılı bir yaklaşıma yol açmıştır. Rizodegradasyon; bitki büyümesi ve kök uçlarının salınmasıyla zenginleştirilmesi sonucu hem bitkileri hem de onların ortak rizosfer mikroplarını içeren spesifik bir fito-modifikasyon yöntemidir [26].

Bitki stres faktörü, kirlenici bitkilerin düzgün olmayan dağılımı, nem içeriği, mikrobik aktivitenin mekansal değişkenliği, iklim koşullarının değiştirilmesi, farklı toprak özellikleri, besin içerikleri, toprağın havalandırılması gibi değişkenlerin çokluğu nedeniyle sayısız sonuçsuz ve başarısız girişim olmuştur. Bu iyileştirici stratejinin sınırları kabul edilmekle birlikte, bitki gelişimi ve özellikle köklenme, organik kirlenici ortamdaki uzaklaştırmanın ekonomik ve etkili yollarından biri haline gelmek için her zamankinden daha fazla potansiyele sahiptir. Fitoremediasyon diğer iyileştirme teknolojilerine kıyasla azaltılmış maliyetler, erozyon oranının azaltılması, kimyasal, fiziksel ve biyolojik toprak özelliklerinin iyileştirilmesi ve arazi estetiği geliştirme ve yüksek nüfus konsensüsü gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır. Fakat aynı zamanda iklim koşulları, kirlenici konsantrasyonu ve biyoyararlanımı, kirlenici maddelere karşı bitki toleransı, arazi restorasyonunun daha uzun sürmesi ve bunun güçlü bağımlılığı gibi bazı dezavantajları da beraberinde getirmektedir. Bu teknik, kontaminasyonun

düşük olduğu ve geniş alanlara yayılarak, müdahaleye zamansal sınırlar olmadığı yerler için özellikle uygundur.

### Mikroorganizmalarla Gerçekleştirilen Biyoremediasyon

Biyoremediasyonda kullanılan ana biyolojik ajanlar, kirlenici besin veya enerji kaynağı olarak kullanan bakteriler ve mantarlardır. Bölgenin mikrobiyal çeşitliliği, kirlenicilerin doğasıyla birlikte biyoremediasyon için en önemli parametrelerden biridir.

Bosecker (2001), toprak ve sedimentlerin, mineral endüstrisi atıklarının ve maden sahalarının artırılmasında mikrobiyal sızma teknolojilerinin basit ve etkili sistemler olduğuna dikkat çekmiş ve metalleri çözünebilir hale getirebilen mikroorganizmaların mutasyon ve seleksiyonla genetik anlamda geliştirilmesinin biyoremediasyon teknolojilerinin gelecekteki uygulamalarını arttıracaklarını vurgulamıştır [27].

Son yıllarda çeşitli fermantasyon atığı mikroorganizmalar, aktif çamur sistemlerinden çıkan atık aktif çamur, denizlerden toplanan algler çeşitli ağır metal ve boyarmaddelerin gideriminde ucuz ve yüksek kapasiteli adsorbanlar olarak kullanım alanı bulmaktadır. Çeşitli enzimlerin üretiminde kullanılan küf mantarları da pek çok ağır metal ve boyar madde gibi çeşitli kirlenicilerin adsorpsiyonunda oldukça sık olarak tercih edilmektedir [28, 29].

Mikroorganizmalar ile biyoremediasyon iki biçimde uygulanır. İlk yöntemde; atıkların döküldüğü bölgeye besin aktarımı yapılarak, toprağın mikrobiyal kompozisyonuna göre, halihazırda toprakta bulunan mikroorganizmalar etkin duruma geçirilir. Diğer yöntemde ise; toprağa yeni mikroorganizmalar aktarılır. Çevresel koşullar kontrol edilir veya mikroorganizmaların metabolik aktivitelerini ve büyümelerini optimize etmek için koşullar değiştirilir. Biyoremediasyon için çevrenin optimizasyonunda; sıcaklık, inorganik besinler (azot ve fosfor), elektron alıcılar (oksijen, nitrat ve sülfat) ve pH gibi çevresel faktörler modifiye edilmektedir.

Literatürde son yıllarda yapılan çalışmalarda çeşitli pestisitlerin gideriminde laboratuvar ve pilot ölçekli uygulamaların başarılı bir şekilde uygulandığı görülmektedir (Çizelge 5). Buna ilaveten Çizelge 5'de farklı *Bacillus* sp. gibi farklı bakterilerin ve *Aspergillus* sp. gibi farklı mantar türlerinin başarılı bir şekilde pestisit biyoremediasyonunda kullanılabilirliği görülmektedir.

Çizelge 5. Pestisit ile kirlenmiş topraklarda mikroorganizmalar tarafından biyoremediasyon kullanımı [30].

Pestisit / Biyolojik Fonksiyon	Ölçek / Kirlenme	Mikroorganizmalar	Sonuçlar / Pestisit Giderme	Referanslar
<b>Molinat (herbisit)</b>	Laboratuvar (çeltik alan toprakları)	Endojen flora Mikrobiyal konsorsiyum: <i>G. molinativorax</i> 2012 ON4T, <i>Pseudomonas</i> (iki suş), <i>Stenotrophomonas</i> ve <i>Achromobacter</i>	%39 mineralize %63 mineralize	[31]
<b>Miklobutanil, tetrakonazol ve flusilazol (Mantar öldürücüler)</b>	Pilot (bağ arazileri)	<i>Bacillus</i> suşları, yani, DR-39, CS-126, TL-171 ve TS-204	20 gün sonra %85 biyo-degrade	[32]

<b>Fenpropatrin (böcek ilacı)</b>	Laboratuvar (çözüm)	<i>Bacillus</i> sp. DG-02	%93.3, 72 saat sonra biyobozunur.	[33]
<b>2,4-D (herbisit)</b>	Laboratuvar (Çeltik ekilen alan)	Novosphingobium, DY4 türü	%50-95, sırasıyla 3 ve 7 gün sonra biyolojik olarak bozunur.	[34]
<b>Klorpirifos (Bitki öldürücü)</b>	Laboratuvar (Tarımsal toprak)	<i>Bacillus cereus</i> , Ct3 suşu	7 gün sonra %88 biodegradasyon	[35]
<b>Klorpirifos (Bitki öldürücü)</b>	Laboratuvar (çeltik alan toprakları)	<i>Aspergillus terreus</i> JAS1	48 saat sonra %100 biyolojik olarak bozunur.	[36]
<b>Bensülfüron-metil (Bitki öldürücü)</b>	Laboratuvar (Tarımsal toprak)	<i>Penicillium pinophilum</i> suşu, BP-H-02	60 saat sonra %87 biyolojik olarak bozunur	[37]
<b>Organoklor Tarım ilacı</b>	Pilot (tarımsal toprak)	Endojen flora	Biyodegrede	[38]
<b>DDT (böcek ilacı)</b>	Laboratuvar (toprak kırsal alanlardan)	Endojen flora	7 hafta biyolojik olarak parçalandıktan sonra %23	[39]
<b>Pentaklorofenol (Bitki öldürücü)</b>	Laboratuvar (çeltik alan toprakları)	Endojen flora	%97'ye varan oranda biyo-degrade	[33]
<b>Atrazin (herbisit)</b>	Laboratuvar (Tarımsal toprak)	Endojen flora	67 gün sonra, %54.4 mineralize	[40]
<b>Atrazin (herbisit)</b>	Laboratuvar (Tarımsal toprak)	<i>Pseudomonas</i> sp. soy ADP	7 gün sonra %30.6 mineralize	[40]
<b>Atrazin (herbisit)</b>	Laboratuvar (Tarımsal toprak)	<i>Pseudomonas</i> sp. soy ADP	13 gün sonra %79.9 mineralize	[40]
<b>Klorpirifos (Bitki öldürücü)</b>	Laboratuvar (Tarımsal toprak)	CS2 suşu	6 gün sonra %55 biodegradasyon	[41]
<b>Atrazin (herbisit)</b>	Laboratuvar (Tarımsal toprak)	Suşu A6 ( <i>Acinetobacter</i> )	6 gün sonra %30 biodegradasyon	[42]
<b>Atrazin (herbisit)</b>	Laboratuvar (Tarımsal toprak)	Suş A6, ramnolipidler ve Triton X-100	6 gün sonra %80 biodegradasyon	[42]
<b>Diuron (herbisit)</b>	Laboratuvar (Tarımsal toprak)	Bakteriyel konsorsiyum: <i>Arthrobacter</i> sp. N2, <i>Variovorax</i> sp. SRS16	%45 sonra mineralize 120 gün	[43]
<b>Diuron (herbisit)</b>	Laboratuvar (Tarımsal toprak)	Bakteri konsorsiyumu hidroksipropil-β siklodekstrin	120 gün sonra %98 mineralize	[43]
<b>Organoklor pestisitler (OCP'ler)</b>	Laboratuvar (çeltik tarla toprakları)	Nitrate (KNO <sub>3</sub> ), methyl-β-cyclodextrin	%74.3'ü 180 gün sonra degrede	[44]

<b>Atrazin, metolachlor, trifluralin (Herbisit)</b>	Laboratuvar (tarımsal toprak)	Mısır sapları, mısır fermantasyonu yan ürün, turba, gübre ve talaş	245 gün sonra %30, 33 ve% 44 biyolojik olarak bozunur.	[45]
<b>Triazin herbisitler</b>	Laboratuvar (tarımsal toprak)	Zeytin keki, kompost ve vermikompost zeytin keki	ilk hafta inkübasyon, daha hızlı herbisit konsantrasyonunu düşüşü	[46]
<b>Atrazin (herbisit)</b>	Laboratuvar (tarımsal toprak)	Sodyum sitrat, çiftlik gübresi	Sodyum sitrat, çiftlik gübresi	[47]
<b>Diuron (herbisit)</b>	Laboratuvar (tarımsal toprak)	Mikronütrientler, kanalizasyon çamuru karışımı budama atıkları ile kentsel katı kalıntıları, hidroksipropil-β siklodekstrin	140 gün sonra %46.5 mineralize	[48]
<b>Linuron, diazinon ve miklobutanil (Herbisit)</b>	Pilot (tarımsal toprak)	Aritma çamuru, üzüm marusu, harmanlanmış mantar substratı	Organik değişikliğe bağlı olarak mineralizasyon üzerinde olumlu veya olumsuz etkiler	[49]
<b>Hexachlorocyclohexane (böcek ilacı)</b>	Pilot Lindane üretim yeri	Endojen flora	21 gün sonra %89 biodegradasyon	[50]
<b>Lindane (herbisit)</b>	Laboratuvar	Lindane-acclimated inoculum, final electron acceptor (O <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> and SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> ) yardımcı substrat (sakaroz)	7 gün sonra %55-70 oranında biyolojik olarak bozunur.	[51]
<b>Pendimetalin (Bitki öldürücü)</b>	Laboratuvar	Lağım	%91 biyolojik olarak bozulmuş	[52]
<b>2,4-D (herbisit)</b>	Laboratuvar	Aerobik (endojen flora)	14 gün sonra %93 biodegradasyon	[53]
<b>2,4-D (herbisit)</b>	Laboratuvar	Sülfat azaltıcı bakteriler	14 gün sonra %25 biodegradasyon	[53]
<b>Lindane (herbisit)</b>	Laboratuvar	Lağım pisliği	10 gün sonra %90 biodegradasyon	[54]
<b>Metoksiklor (Bitki öldürücü)</b>	Laboratuvar	<i>Actinobacteria</i>	12 saat sonra%60 degrade	[55]
<b>2,4-D (herbisit)</b>	Laboratuvar	İklimlendirilmiş aktif çamur	%90, 6 saat sonra biyo-degrade	[56]
<b>Bentazon, boscalid ve pirimehanil (Herbisit)</b>	Pilot (tarımsal toprak)	Biyofiltre materyalleri (toprak ile karışımları digestate ve / veya biochar)	Desorpsiyon, tüm pestisitler için histerikti.	[57]

<b>Karbofuran (böcek ilacı)</b>	Pilot (tarımsal toprak)	Lignoselülozik malzemeler kompostla karıştırıldı	16 gün sonra %98.5 mineralize	[58]
<b>Klorotalonil (Mantar öldürücü)</b>	Laboratuvar	Tükenmiş mantar substratı	DT50 7-9 gün, Biyodegradasyon	[59]
<b>Atrazin (herbisit)</b>	Laboratuvar	Toprak, turba ve saman, lignoselülozik artıkları.	90 gün sonra %90 degradasyon	[60, 61]
<b>Oxyfluorfen (herbisit)</b>	Laboratuvar	Vermicompost	30 gün sonra %70 biodegradasyon	[62]
<b>Karbofuran (böcek ilacı)</b>	Karbofuran (böcek ilacı)	Ligninolitik mantar <i>Trametes versicolor</i> , organik gübre	48 gün sonra %100 biyolojik olarak bozunur.	[63]

### Mikroalglerle Gerçekleştirilen Biyoremediasyon

Siyanobakteriler (*Cyanobacteria* veya *Cyanophyta*) aynı zamanda, mavi-yeşil algler olarak da bilinen ve enerjilerini fotosentez yolu ile elde eden mikroorganizmalardır. Atık sularındaki birçok kirleticinin çeşitli mikroalglerle arıtımı ile ilgili literatürde pek çok çalışma bulunmakta olmasına rağmen pestisitlerin mikroalglerle arıtımı konusundaki literatür çok daha kısıtlıdır [64].

Pestisit içeren atık suların arıtımında insektisitlerden "İmidakloprid" (IMI) ve preemerjans herbisitlerden "Knockdown 48 SL" içeren ortamlarda *Synechocystis* sp. ve *Phormidium* sp. türlerinin biyoremediasyon kapasiteleri incelenmiştir. *Synechocystis* sp. IMI, KD 48 SL ve triakontanol (TRIA) hormonu içeren kültür ortamında en yüksek biyokütle artışı ve % IMI giderimi göstermiştir. *Phormidium* sp. ise farklı olarak IMI içeren ortamda en yüksek popülasyon büyümesi ve giderim etkinliği göstermiştir [65].

### Bakterilerle Gerçekleştirilen Biyoremediasyon

Bakteriler, zararlı atıkları, zararsız yan ürünlere dönüştürdüktan sonra ya ölürlere ya da sayıları normal popülasyon düzeyine gelir. Böylece ekolojik denge bozulmamaktadır.

Lopes ve ark. (2012), bir tarım toprağındaki molinleşmeyi düşürmek için doğal zayıflama ya da biyodegradasyon potansiyel kapasitesini ve biyomodifikasyon teknolojilerinin yerel mikrobiyota bileşimi üzerindeki etkisini değerlendirmiştir [31]. Biyolojik olarak parçalanma deneylerinde inokulum olarak bir molinat mineralizasyon konsorsiyumu kullanılmıştır. İyileştirmede kullanılacak suşlar, kirlenmiş alandan yerli toprak flora izolasyonu suşlarından elde edilebilmekte ve kirletici (zenginleştirme kültürleri) uyarınca laboratuvar koşullarında seçilebilmektedir. Laboratuvar ortamında geliştirilen suşlar daha sonra, kirlenmiş alana inoküle edilebilmektedir.

Salunkhe ve ark. (2015), izole edilmiş *Bacillus* suşları ile üç triazol fungusitin *in-vitro* ve *in-vivo* biyodegradasyonunu bildirmektedir [32]. Chen ve ark. (2014), yaptıkları deneylerde *Bacillus* sp. türünün daha önce bir piretroid imalat atık sularından izole edilen DG-02, fenpropratin ve çok çeşitli sentetik piretroidleri degrade edebildiğini göstermiştir [33]. Dai ve ark. (2015), 2,4-D ile kirlenmiş toprak için yeni bir ayrıştırıcı suşun biyoremediasyon potansiyelini ve mikrobiyal toprak topluluğu üzerindeki biyodegradasyon etkisini araştırmıştır [34]. Farhan ve ark. (2014) pamuk yetiştiren tarım topraklarından izole edilen mikrobik suşları klorpirifosla yönetmiştir [35].

Ayrıca, yüzey aktif maddeler topraktaki maddelerin çözünürlüğünü arttırmak suretiyle pestisit

mineralizasyonunu hızlandıran biyoremediasyon promotörleri olarak kullanılabilir. Singh ve ark. (2016), ChlD tarafından üretilen, ham pramolipid biyosüfaktanı kullanmış ve bu da klorpirifosun sulu faz çözünürlüğünü 2-15 kat arttırmıştır [41]. Singh ve Cameotra (2014), farklı yüzey aktif maddelerin (ramnolipidler ve triton X 100) atrazin herbisitinin, *Acinetobacter*'lere ait A6 degrader türüyle biyodegradasyonu üzerindeki etkisini incelemişlerdir [42]. Bakteri hücre yüzeyi hidrofobikliğinin yanı sıra atrazin çözünürlüğü, yüzey aktif madde varlığında artmıştır. Villaverde ve ark. (2012), ilk kez bir diuron biyodegrader konsorsiyumu kullanarak toprakta neredeyse tam bir diuron cevherleşmesini gösteren bir siklodekstrin bazlı biyoremediasyon teknolojisini geliştirmiştir [43].

Larsen ve ark., (2009) yaptıkları çalışmada arıtma çamurundaki PAH'ların giderilmesinde biyoreaktörlerin kullanılabilirliğini göstermişlerdir. Biyolojik parçalanmanın hızlanması için *Proteiniphilum acetatigenes* kullanılarak biyotik ve abiotik şartlarda %80'e varan parçalanma meydana geldiğini bulmuşlardır.

### Mantarlarla Gerçekleştirilen Biyoremediasyon

Mantarlar çok hücreli, ökaryotik, klorofil içermeyen organizmalardır ve kendi besinlerini sentezleyemezler. Genellikle tatlı sularda ve toprakta, nadiren de denizlerde yaşarlar. Karanlık ve nemli yerlerde iyi gelişirler. Organik maddelere zengin olan her yerde bulunurlar. Mantarlar aleminde en önemli mikroorganizmalar mayalar ve küflerdir [66].

Pestisitlerin mikrobiyal biyodegradasyonu çoğunlukla bakteriler kullanılarak çalışılmış olsa da son yapılan çalışmalarda farklı pestisitlerin biyodegradasyonunda kullanılmak üzere farklı cinslere ait birkaç mantar suşu da izole edilmiş ve karakterize edilmiştir [67]. Peng ve ark. (2012) bensulphuron-methyl'i hızla parçalayabilen bir mantar suşunu (BP-H-02) kontamine toprak numunesinden izole etmiştir. Bu suş, sülfonilüre herbisit kontaminasyonunu gidermek için kullanılmıştır [37]. Klorpirifosun biyodegradasyonu, mineral ortamı ve toprakta, çeltik tarlalarından izole edilen yeni mantar suşu JAS1 ile incelenmiştir [36]. Çevre mikrobiyolojisi çalışanlar mikroorganizmaların 2%'sinin laboratuvar ortamında kültürlenebildiğini tahmin etmekte ve bu nedenle biyoremediasyonda kullanılacak mikroorganizmaların seçilmesi ile ilgili araştırmalar için moleküler yaklaşımları içeren bir biyoremediasyon tekniğinin uygulanması ihtiyacının değerlendirilmesi gerekmektedir.

Biyoremediasyonda mantarların kullanılmasının pek çok avantajları vardır. Örneğin mantarlar, bitki ya da alglere göre daha hızlı büyüebilme yeteneğine sahiptir ve kültür



alınmaları çok kolay olmaktadır. Üretimlerinin kolay olması dışında büyüdükleri besiyerleri de pahalı değildir ve biyokütle üretimi fazla miktarlarda gerçekleştirilmektedir [68]. Bu şekilde fermantasyon teknolojisinde kullanılmaları da ekonomik avantaj sağlamaktadır. Bir diğer en önemli özellikleri de patojenite göstermemeleridir. Böylelikle güvenle kullanılmaktadırlar [69].

*Rhizopus arrhizus* kültürünün biyobirikim ve biyosorpsiyonla atrazin giderimine pH değerlerinin etkisi belirlenmiştir. Atrazin analizinde elektrokimyasal yöntem kullanılmıştır. Biyobirikim ve biyosorpsiyon sonunda en iyi atrazin giderimi sırasıyla pH 4 ve pH 6'da gerçekleşmiştir. Gelişmekte olan *R. arrhizus* kültürü ve kurutulmuş fungal biyokütle sırasıyla %57.45 ve %63.16 atrazin giderimi gerçekleştirmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre fungal biyokütle pestisitlerle kirlenmiş sıvı ortamlardan atrazin giderimini kısa bir zaman aralığında gerçekleştirebilmektedir [70]. Madrigal-Zúñiga ve ark. (2016) pestisit karbofuranın hızlı biyodegradasyonunu elde etmek için kompost ve turba bazlı biyomikstrasyonlarda biyo-parçalanma ajanları olarak ligninolitik mantar *Trametes versicolor* kullanmıştır [63].

Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda bakteri ve fungusların biyoremediasyonda birlikte kullanımı olanakları araştırılmıştır. Castillo-Diaz ve ark. (2016) farklı herbisitlerin mineralleşme oranlarını arttırmak için bir ay boyunca kuluçkalan farklı karışımlardan 6 bakteri ve 4 mantar suşu kullanmıştır [62].

## SONUÇ

Topraklarda pestisit birikimi araştırmacıların dikkatinin son zamanlarda odaklandığı oldukça önemli bir çevresel konudur. Bu derleme, pestisitler ile kirlenmiş toprakların iyileştirilmesi için kullanılan teknolojilere genel bir bakış sunmuştur. Teknolojilerin temelleri, avantajları ve dezavantajları, ilerlemeleri ve sınırlamaları özetlenmiş ve analiz edilmiştir.

Geleneksel remediasyon yöntemleri; yüksek maliyetli olması, tamamen kirletici giderim yapamamaları, seçiciliklerinin düşük olması, uygulamada fazla enerji harcamaları ve zehir etkisi oluşturmaları gibi dezavantajlara sahipken, biyolojik remediasyon yöntemleri diğer yöntemlerden daha ekonomik olması, proses sonunda atık madde üretmemesi ve diğer teknolojilerle birleştirilebilmesi nedeniyle avantaj sağlayan bir teknolojidir. Diğer taraftan biyoremediasyonun dezavantajları arasında ise filtrelerin veya enjeksiyon kanallarının mikroorganizmalarca tıkanabilmesi, düşük geçirgenli akiferlere uygulanmasının zor olması, uygulanan akiferlerde sadece fazla geçirgen tabakaların temizlenebilmesi, sürekli izlenme ve bakım gerektirmesi sayılabilir. Biyoremediasyon teknikleri, geleneksel remediasyon yöntemlerine kıyasla ekolojik çevrenin kalitesinin korunması sağlayan daha kaliteli bir giderim teknolojisidir.

Ortam dışı biyoremediasyonda; çevre koşullarının sağlanabilmesi ve işlemlerin daha kolay izlenebilmesi avantajını sağlamaktadır. Buna rağmen, kirlilik giderimi zaman alıcı ve pahalıdır. Bunun tersine ortam içi biyoremediasyon kirlenmiş bölgeden kirliliklerin çıkarılmasını gerektirmemesi nedeniyle daha avantajlıdır. Buna ek olarak bu yöntemin maliyeti ortam dışı biyoremediasyona göre daha azdır. Yine de bu yöntemin de birtakım dezavantajları vardır. Özel biyoremediasyon bölgesi içermediğinden koşulların denetlenmesi ve işlemlerin izlenebilmesi diğer yöntemlere göre çok daha zordur. Her iki yöntem de bir takım avantaj ve dezavantajlara sahip olup uygulanacak olan yöntem; kirlilik miktarı, kirletici çeşidi, ortamın büyüklüğü ve dış faktörler gibi birçok parametreye

dikkat edilerek seçilmelidir.

Fitoremediasyon diğer iyileştirme teknolojilerine kıyasla azaltılmış maliyetler, erozyon oranının azaltılması, kimyasal, fiziksel ve biyolojik toprak özelliklerinin iyileştirilmesi ve arazi estetiği geliştirme ve yüksek nüfus konsensüsü gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır. Fakat aynı zamanda iklim koşulları, kirletici konsantrasyonu ve biyoyararlanımı, kirletici maddelere karşı bitki toleransı, arazi restorasyonunun daha uzun sürmesi ve bunun güçlü bağımlılığı gibi bazı dezavantajları da beraberinde getirmektedir.

Biyoremediasyonda mantarların kullanılmasının bazı avantajları; bitki ya da algelere göre daha hızlı büyüyebilme yeteneğine sahip olup kültüre alınmalarının çok kolay olmasıdır. Üretimlerinin kolay olması dışında büyüdükleri besiyerleri de pahalı değildir ve biyokütle üretimi fazla miktarlarda gerçekleştirilmektedir. Bu şekilde fermantasyon teknolojisinde kullanılmaları da ekonomik avantaj sağlamaktadır. Bir diğer en önemli özellikleri de patojenite göstermemeleridir. Böylelikle güvenle kullanılabilirler.

Biyoremediasyon teknolojilerinde özellikle mikrobiyal süreçler endüstri atıklarından kimyasalların, kötü muamele sistemleri olarak ortadan kaldırılması için geniş çapta kullanılmaktadır. Kirleticiler biyolojik aktivitelerle karbondioksit ve su gibi zararsız son ürünlere dönüştürülmektedir. Proses biyolojik aktiviteye dayalı olarak gerçekleştiği için ortamda yeterli mikroorganizma bulunması, biyoremediasyon boyunca oluşacak ürünlerin toksisite yaratmaması, mikroorganizmaları inhibe edici kimyasallar mevcutsa seyreltilmesi büyük önem taşımaktadır. Ayrıca mikroorganizmaların büyümesini ve aktivitesini arttıracak besinler, oksijen, diğer elektron alıcılar, uygun nem oranı, sıcaklık, karbon ve enerji kaynağı sağlanmalıdır. Bununla birlikte, biyolojik parçalanma aktivitesine sahip olan bir mikrofloranın olmaması nedeniyle pek çok bileşik her zaman tamamen bozulmaz, bunun için yeni veya modifiye biyoremediasyon tekniklerine olan ihtiyacı vurgulayan optimize edilmiş teknikler önerilmektedir. Biyoremediasyon teknikleri ile başarılı ve etkin pestisitlerle kirlenmiş ortamların iyileştirilmesine yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 1999. "Waste Research Strategy", *Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH*, EPA/600/R98/154.
- [2] Niti, C., Sunita, S., Kamlesh, K., Rakesh, K., 2013. 'Bioremediation: An emerging technology for remediation of pesticides', *Res. J. Chem. Environ*, 17, 88–105.
- [3] Delaplane, K., S., 1996. "Pesticide usage in the United States: Benefits, Risks and Trends", *Cooperative Extension Service, The University of Georgia, Athens, Georgia*.
- [4] Ali, U., Syed, J.H., Malik, R.N., Katsoyiannis, A., Li, J., Zhang, G., Jones, K.C., 2014. "Organochlorine pesticides (OCPs) in South Asian region: a review", *Sci. Total Environ*, 476, 705–717.
- [5] Delen, N., Durmuşoğlu, E., Günçan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A., 2008. "Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları", *Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre ve Eğitim Merkezi, Nükleer Kimya Bölümü, Ankara*.
- [6] Delen N., Tirkayi O., Türkseven S., Temur C., 2015. "Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Dayanıklılık Sorunları, Çözüm Önerileri", *Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi, At Ankira, Volume:*

*Bildiriler Kitabı - 2*, 758 – 778.

[7] Şık A., 2015. “Meyvemizi bile zehir ettiler”, *Cumhuriyet Gazetesi*, 05 Temmuz 2015, [http://www.cumhuriyet.com.tr/haber/turkiye/314463/Meyvemizi\\_bile\\_zehir\\_ettiler.ht ml](http://www.cumhuriyet.com.tr/haber/turkiye/314463/Meyvemizi_bile_zehir_ettiler.ht ml).

[8] Delen, N., Tosun, N., Toros, S., Öztürk, S., Yücel, A. ve Çalı, S., 1995. “Tarım ilaçları kullanımı ve Üretimi”, Türkiye Ziraat Mühendisliği IV. Teknik Kongresi, T.C. Ziraat *Bankası Kültür Yayınları*, 1015-1028.

[9] Cheng, M., Zeng, G., Huang, D., Lai, C., Xu, P., Zhang, C., Liu, Y., 2016. “Hydroxyl radicals based advanced oxidation processes (AOPs) for remediation of soils contaminated with organic compounds: a review” *Chem. Eng. J.* 284, 582–598.

[10] Yılmaz, P., 2006. “Sulu ortamlardan ağır metallerin mikroorganizmalar yoluyla giderimi”, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1-17.

[11] Rittman, B. E., McCarty, P. L., 2001. “Environmental Biotechnology: Principles and Applications”, *McGraw-Hill International Editions*, 695-725.

[12] Cheng, H. H., Mulla, D. J., 1999. “Bioremediation of Contaminated Soils”, *The Soil Environment. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, USA*.

[13] Dindar E., Başkaya H. S., Topaç Şağban F. O., 2010. “Kirlenmiş Toprakların Biyoremediasyon ile Islahı”, *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, Cilt 15, Sayı 2.

[14] Gerhardt, K. E., Huang, X. D., Glick, B. R., Greenberg, B. M., 2009. “Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: potential and challenges”, *Plant Sci.* 176, 20–30.

[15] Newman, L. A., Reynolds, C. M., 2004. “Phytodegradation of organic compounds”, *Curr. Opin. Biotechnol.* 15, 225–230.

[16] Mulligan, C. N., Yang, R. N., Gibbs, B. F., 2001. “Remediation Technologies for Metal-Contaminated Soils and Ground Water: an evaluation”, *Engineering Geology*, Vol:60, pp.193-207.

[17] Karthikeyan, R., Davis, L. C., Erickson, L. E., Al-Khatib, K., Kulakow, P. A., Barnes, P. L., Hutchinson, S. L., Nurzhanova, A. A., 2004. “Potential for plant-based remediation of pesticide-contaminated soil and water using nontarget plants such as trees, shrubs, and grasses”, *Crit. Rev. Plant Sci.* 23, 91–101.

[18] White, J. C., 2002. “Differential bioavailability of field-weathered p,p'-DDE to plants of the Cucurbita and Cucumis genera”, *Chemosphere*, 49, 143–152.

[19] White, J. C., Wang, X., Gent, M. P., Iannucci-Berger, W., Eitzer, B. D., Schultes, N. P., Arienzo, M., Mattina, M. I., 2003. “Subspecies-level variation in the phytoextraction of weathered p,p'-DDE by Cucurbita pepo”, *Environ. Sci. Technol.* 37, 4368–4373.

[20] Mitton, F. M., Gonzalez, M., Monserrat, J. M., Miglioranza, K. S. B., 2016. “Potential use of edible crops in the phytoremediation of endosulfan residues in soil”, *Chemosphere*, 148, 300–306.

[21] Wu, N., Zhang, S., Huang, H., Shan, X., Christie, P., Wang, Y., 2008. “DDT uptake by arbuscular mycorrhizal alfalfa and depletion in soil as influenced by soil application of a non-ionic surfactant” *Environ. Pollut.* 151, 569–575.

[22] Doty, S. L., 2008. “Enhancing phytoremediation through the use of transgenic plants and endophytes”, *New Phytol.* 179, 318–333.

[23] Hussain, S., Siddique, T., Arshad, M., Saleem, M., 2009. “Bioremediation and phytoremediation

of pesticides: recent advances”, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 39, 843–907.

[24] Kawahigashi, H., Hirose, S., Ohkawa, H., Ohkawa, Y., 2006. “Phytoremediation of the herbicides atrazine and metolachlor by transgenic rice plants expressing human CYP1A1, CYP2B6, and CYP2C19. *J. Agric.*”, *Food Chem.* 54, 2985–2991.

[25] Viktorova, J., Novakova, M., Trbolova, L., Vrchotova, B., Lovecka, P., Mackova, M., Mack, T., 2014. “Characterization of transgenic tobacco plants containing bacterial bphc gene and study of their phytoremediation ability”, *Int. J. Phytorem.* 16, 937–946.

[26] Agnello, Huguenot, D., Van Hullebusch, E. D., Esposito, G., 2014. “Enhanced phytoremediation: a review of low molecular weight organic acids and surfactants used as amendments”, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 44, 2531–2576.

[27] Bosecker, K., 2001. “Microbial leaching in environmental clean-up programmes, Hydrometallurgy”, 59, 245-248.

[28] Maurya, N. S., Mittal, A. K., Cornel, P., Rother, E., 2006. “Biosorption of dyes using dead macrofungi: effect of dye structure, ionic strength and pH”, *Biores. Technol.* 97, 512521.

[29] Vilar, V. J. P., Botelho, C. M. S., Boaventura, R. A. R., 2007. “Methylene Blue adsorption by algal biomass based materials: Biosorbents characterization and process behaviour”, *J. Hazard. Mater.* 147, 120-132.

[30] Morillo e., Villaverde j., 2017. “Advanced technologies for the remediation of pesticide-contaminated soils” *Institute of Natural Resources and Agrobiolgy of Seville (IRNAS-CSIC)*.

[31] Lopes, A. R., Danko, A. S., Manaia, C. M., Nunes, O. C., 2012. “Molinate biodegradation in soils: natural attenuation versus bioaugmentation”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-012-4096-y>.

[32] Salunkhe, V. P., Sawant, I. S., Banerjee, K., Wadkar, P. N., Sawant, S. D., 2015. “Enhanced dissipation of triazole and multiclass pesticide residues on grapes after foliar application of grapevine-associated bacillus species”, *J. Agric. Food Chem.* 63, 10736–10746.

[33] Chen, S., Chang, S., Deng, Y., An, S., Hu, Dong, Y. H., Zhou, J., Hu, M., Zhong, G., Zhang, L. H., 2014. “Fenpropathrin biodegradation pathway in bacillus sp. DG-02 and its potential for bioremediation of pyrethroid-contaminated soils”, *J. Agric. Food Chem.* 62, 2147–2157.

[34] Dai, Y., Li, N., Zhao, Q., Xie, S., 2015. “Bioremediation using Novosphingobium strain DY4 for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-contaminated soil and impact on microbial community structure”, *Biodegradation*, 26, 161–170.

[35] Farhan, M., Ali-Butt, Z., Khan, A. U., Wahid, A., Ahmad, M., Ahmad, F., Kanwal, A., 2014. “Enhanced biodegradation of chlorpyrifos by agricultural soil isolate”, *Asian J. Chem.* 26, 3013–3017.

[36] Silambarasan, S., Abraham, J., 2013. “Ecofriendly method for bioremediation of chlorpyrifos from agricultural soil by novel fungus Aspergillus terreus JAS1”, *Water Air Soil Pollut.* 224, 369.

[37] Peng, X., Huang, J., Liu, C., Xiang, Z., Zhou, J., Zhong, G., 2012. “Biodegradation of bensulphuron-methyl by a novel Penicillium pinophilum strain BP-H-02”, *J. Hazard. Mater.* 213, 216–221.

[38] Islas-García, A., Vega-Loyo, L., Aguilar-López, R., Xoconostle-Cázares, B., RodríguezVázquez, R., 2015.

- “Evaluation of hydrocarbons and organochlorine pesticides and their tolerant microorganisms from an agricultural soil to define its bioremediation feasibility”, *J. Environ. Sci. Health B*, 1532–4109.
- [39] Ortíz, I., Velasco, A., Le Borgne, S., Revah, S., 2013. “Biodegradation of DDT by stimulation of indigenous microbial populations in soil with cosubstrates”, *Biodegradation*, 24, 215–225.
- [40] Silva, E., Fialho, A., SA-Correia, I., Burns, R.G., Shaw, L.J., 2004. “Combined bioaugmentation and biostimulation to cleanup soil contaminated with high concentrations of atrazine”, *Environ. Sci. Technol.*, 38, 632–637.
- [41] Singh, P., Saini, H.S., Raj, M., 2016. “Rhamnolipid mediated enhanced degradation of chlorpyrifos by bacterial consortium in soil-water system”, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 134, 156–162.
- [42] Singh, A.K., Cameotra, S.S., 2014. “Influence of microbial and synthetic surfactant on the biodegradation of atrazine”, *Environ. Sci. Pollut Res.*, 21, 2088–2097.
- [43] Villaverde, J., Posada-Baquero, R., Rubio-Bellido, M., Laiz, L., Saiz-Jimenez, C., SanchezTrujillo, M.A., Morillo, E., 2012. “Enhanced mineralization of diuron using a cyclodextrin-based bioremediation technology”, *J. Agric. Food Chem.*, 60, 9941–9947.
- [44] Ye, M., Sun, M., Hu, F., Kengara, F.O., Jiang, X., Luo, Y., Yang, X., 2014. “Remediation of organochlorine pesticides (OCPs) contaminated site by successive methyl- $\beta$ -cyclodextrin (MCD) and sunflower oil enhanced soil washing - Portulaca oleracea L. Cultivation”, *Chemosphere* 105, 119–125.
- [45] Moorman, T.B., Cowan, J.K., Arthur, E.L., Coats, J.R., 2001. “Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils”, *Biol. Fertil. Soils*, 33, 541–545.
- [46] Delgado-Moreno, L., Peña, A., 2009. “Compost and vermicompost of olive cake to bioremediate triazines-contaminated soil”, *Sci. Total Environ.*, 407, 1489–1495.
- [47] Kadian, N., Gupta, A., Satya, S., Mehta, S.K., Malik, A., 2008. “Biodegradation of herbicide (atrazine) in contaminated soil using various bioprocessed materials”, *Bioresour Technol.*, 99, 4642–4647.
- [48] Rubio-Bellido, M., Madrid, F., Morillo, E., Villaverde, J., 2015. “Assisted attenuation of a soil contaminated by diuron using hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin and organic amendments”, *Sci. Total Environ.*, 502, 699–705.
- [49] Marin-Benito, J.M., Herrero-Hernández, E., Andrades, M.S., Sánchez-Martín, M.J., Rodríguez-Cruz, M.S., 2014. “Effect of different organic amendments on the dissipation of linuron, diazinon and myclobutanil in an agricultural soil incubated for different time periods”, *Sci. Total Environ.*, 476–477, 611–621.
- [50] Rubinos, D.A., Villasuso, R., Muniategui, S., Barral, M.T., Díaz-Fierros, F., 2007. “Using the landfarming technique to remediate soils contaminated with hexachlorocyclohexane isomers”, *Water Air Soil Pollut.*, 181, 385–390.
- [51] Varo-Arguello, W.E., Camacho-Pérez, B., Ríos-Leal, E., Vazquez-Landaverde, P.A., Ponce-Noyola, M.T., Barrera-Cortés, J., Sastre-Conde, I., Rindernknecht-Seijas, N.F., Poggi-Varaldo, H.M., 2012. “Triphasic slurry bioreactors for the bioremediation of lindane-impacted soil under aerobic and anaerobic conditions”, *Environ. Eng. Manag. J.* 10.
- [52] Ramakrishnan, B., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., Sethunathan, N., Naidu, R., 2011. “Mixtures of environmental pollutants: effects on microorganisms and their activities in soils”, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 63–120.
- [53] Robles-González, I., Fava, F., Poggi-Varaldo, H.M., 2008. “A review on slurry bioreactors for bioremediation of soils and sediments”, *Microb. Cell Factories*, 7, 5–50.
- [54] Quintero, J.C., Moreira, M.T., Lema, J.M., Feijoo, G., 2006. “An anaerobic bioreactor allows the efficient degradation of HCH isomers in soil slurry”, *Chemosphere*, 63, 1005–1019.
- [55] Fuentes, M.S., Alvarez, A., Saez, J.M., Benimeli, C.S., Amoroso, M.J., 2014. “Use of actinobacteria consortia to improve methoxychlor bioremediation in different contaminated matrices”, *Bioremediation in Latin America. Current Res. Pers.*, 267–277.
- [56] Znad, H., Ohata, H., Tade, M.O., 2010. “A net draft tube slurry airlift bioreactor for 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) pesticide biodegradation”, *Can. J. Chem. Eng.*, 88, 565–573.
- [57] Mukherjee, S., Weihermüller, L., Tappe, W., Hofmann, D., Köppchen, S., Laabs, V., Vereecken, H., Burauel, P., 2016. “Sorption-desorption behaviour of bentazone, boscalid and pyrimethanil in biochar and digestate based soil mixtures for biopurification systems”, *Sci. Total Environ.*, 559, 63–73.
- [58] Chin-Pampillo, J.S., Ruiz-Hidalgo, K., Masis-Mora, M., Carazo-Rojas, E., RodríguezRodríguez, C.E., 2015. “Adaptation of biomixtures for carbofuran degradation in onfarm biopurification systems in tropical regions”, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 22, 9839–9848.
- [59] Gao, H., Gao, X., Cao, Y., Xu, L., Jia, L., 2015. “Influence of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin on the extraction and biodegradation of p,p'-DDT, o,p'-DDT, p,p'-DDD, and p,p'-DDE in soils”, *Water Air Soil Pollut.*, 226, 208–213.
- [60] Diez, M.C., Levio, M., Briceño, G., Rubilar, O., Tortella, G., Gallardo, F., 2013a. “Biochar as a partial replacement of peat in pesticide-degrading biomixtures formulated with different soil types. J. Biobased Mater”, *Bioenergy*, 7, 741–747.
- [61] Diez, M.C., Tortella, G.R., Briceño, G., Castillo, M.P., Díaz, J., Palma, G., Altamirano, C., Calderón, C., Rubilar, O., 2013b. “Influence of novel lignocellulosic residues in a biobed biopurification system on the degradation of pesticides applied in repeatedly high doses”, *Electron. J. Biotechnol.*, 0717–3458.
- [62] Castillo-Diaz, J.M., Delgado-Moreno, L., Núñez, R., Nogales, R., Romero, E., 2016. “Enhancing pesticide degradation using indigenous microorganisms isolated under high pesticide load in bioremediation systems with vermicomposts”, *Bioresour. Technol.*, 214, 234–241.
- [63] Madrigal-Zúñiga, K., Ruiz-Hidalgo, K., Chin-Pampillo, J.S., Masis-Mora, M., CastroGutiérrez, V., Rodríguez-Rodríguez, C.E., 2016. “Fungal bioaugmentation of two rice husk-based biomixtures for the removal of carbofuran in on-farm biopurification systems”, *Biol. Fertil. Soils*, 52, 243–250.
- [64] Cáceres, T., Megharaj, M. and Naidu, R., 2008. “Biodegradation of The Pesticide Fenamiphos By Ten Different Species Of Green Algae and Cyanobacteria. Current Microbiology”, 57, 643-6.
- [65] Aminfarzaneh H., 2010. “Siyenobakterilerde Bitki

Büyüme Düzenleyicilerin Biyokütle Üretimi Ve Pestisit Giderimi Üzerine Etkisi”, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi*, 10.1501/ankara-24407.

[66] Çoban, Ç., 2011. “Saccharomyces cerevisiae Mayasıyla Reactive Blue 222 Biyosorpsiyonunun Kinetik Ve Termodinamiği”, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 22 s.

[67] Maqbool, Z., Hussain, S., Imran, M., Mahmood, F., Shahzad, T., Ahmed, Z., Azeem, F., M u z a m m i l , S.,2016. “Perspectives of using fungi as bioresource for bioremediation of pesticides in the environment: a critical review”, *Environ. Sci. Pollut. Res*, 23, 16,904–16,925.

[68] Eliçin, K., Koç, C., Gezici, M., Gürhan, R., 2013. “Biyoyakıt Amaçlı *Nannochloropsis salina* Mikroalg Türünün Bazı Yetiştirme Parametrelerinin Belirlenmesi”, *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 99-107.

[69] Girgin, M., 2011. “Pinus nigra kozalaklarında immobilize Saccharomyces cerevisiae biyokütlesi ile sulu çözeltilerdeki bazı tekstil boyarmaddelerinin renk giderimi”, *Yüksek lisans tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi*, 112 s.

[70] Gül Ü. D., Silah H., 2017. “Tarımda Kullanılan Atrazinin Gideriminde Rhizopus Arrhizus Kullanım Potansiyelinin Belirlenmesi”, *GIDA*, 42 (3): 261-267.



## ***Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. Türünde Yapılan Doku Kültürü Araştırmaları Üzerinde Bir İnceleme**

Cevdet GÜMÜŞ<sup>1\*</sup> Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bartın Üniversitesi, Bartın Meslek Yüksekokulu, Bartın

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara

\*Sorumlu Yazar:

E-posta:cgumus@bartin.edu.tr

Geliş Tarihi : 19 Eylül 2018

Kabul Tarihi: 22 Ekim 2018

### **Özet**

*Kalanchoe blossfeldiana* dünyada bilinen ve Hollanda mezarlarında satış oranı en yüksek iç mekan süs bitkilerinden biridir. Bu çalışmada *Kalanchoe blossfeldiana* türünde *in vitro* koşullarda yapılan mikroçoğaltım, somatik embriyogenezis, çiçeklenme ve ıslah araştırmaları derlenmiştir. Mikroçoğaltım çalışmalarında eksplant kaynağı olarak gövde (sürgün ucu, boğum ve boğum arası), yaprak (yaprak ayası ve yaprak sapı) ve çiçek kısımları (inflorescence); dezenfektan olarak NaOCl ve HgCl<sub>2</sub>; büyümeyi düzenleyici olarak BA, NAA, GA<sub>3</sub> ve TDZ'nin farklı dozlarının ve besin ortamı olarak farklı MS konsantrasyonlarının kullanıldığı görülmüştür. İncelenen çalışmalarda sürgün rejenerasyonu ve bitkicik oluşumunun meydana geldiği, elde edilen bitkiciklerin başarılı bir şekilde dış koşullara aktarıldığı bildirilmiştir. Somatik embriyogenezis çalışmalarında klonal çoğaltım ve suni tohum elde edilmesi üzerine çalışmaların yapıldığı anlaşılmıştır. *In vitro* çiçeklenme üzerine yapılan araştırmalarda kültür koşulları, besin elementleri, büyümeyi düzenleyiciler ve gallik asitin etkisi incelenmiş, ıslah araştırmalarında ise türler arası melezleme ile elde edilen hibrit embriyoların kurtarılması ve poliploid bitki elde edilmesi konularında çalışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Kalanchoe*, doku kültürü, bitki büyüme düzenleyicileri, çoğaltım, çiçeklenme, ıslah

## **A review on Tissue Culture Studies of *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln.**

### **Abstract**

*Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. is one of the ornamental pot plants known around the world and the highest selling rate in Dutch auctions. In this compilation, studies on micropropagation, somatic embryogenesis, *in vitro* flowering and *in vitro* breeding of *Kalanchoe blossfeldiana* is edited. In the micropropagation studies, stem (shoot-tip, node and internode), leaves (leaf blade and leaf stalk) and flower parts (inflorescence) as explant source; NaOCl and HgCl<sub>2</sub> as disinfectants; different doses of BA, NAA, GA<sub>3</sub> and TDZ as growth regulators and different concentrations of MS as nutrient medium were used. It has been reported in the examined studies that the plant regeneration and plantlets arisen from explants, and the plantlets were successfully transferred to external conditions. It has been understood that studies on somatic embryogenesis studies have been carried out on clonal propagation and artificial seed production. Investigations on *in vitro* flowering studies have examined the effects of culture conditions, nutrients, growth regulators and gallic acid. In breeding studies, hybrid embryos obtained by interspecies hybridization were rescued and polyploid plants were obtained.

**Keywords:** *Kalanchoe*, tissue culture, plant growth regulators, propagation, flowering, breeding

### **GİRİŞ**

Günümüzde yaklaşık 7,6 milyar insanın yaşadığı dünyada, hızlı nüfus artışının dolaylı etkisi sonucu sanayileşme ve globalleşme ile birlikte şehirleşme hızı da artmaktadır. Artan şehirleşme hızı fiziksel ve ekolojik çevre sorunlarını da beraberinde getirmekte şehirlerde yaşayan insanların yeşile, doğaya olan özlemi giderek artmaktadır. Gerek iç mekanda gerekse dış mekanda insanların bu gereksinimlerini karşılamada süs bitkileri zamanla vazgeçilmez bir unsur haline gelmiştir [15,22,44]. Süs bitkileri kesme çiçekler, geofitler, iç mekan ve dış mekan süs bitkileri olarak dört grupta incelenmekte olup, iç mekanda en fazla kullanılan süs bitkilerinden biri de kalanço (*Kalanchoe*)'dur.

*Crassulaceae* familyası içerisinde yer alan *Kalanchoe*, tek yıllık veya çok yıllık çalı, tırmanıcı veya küçük ağaç formunda; sukulent, otsu, otsu-odunsu karakterli yaklaşık 130 türe sahiptir. Türlerin çoğunluğu Afrika ve Madagaskar olmak üzere bazıları Asya ve bir türü de Güney Amerika kökenlidir [13,16,23,45,46]. Dünya'da en çok bilinen türü *Kalanchoe blossfeldiana*'dır [29]. *K. blossfeldiana*'nın 1932 yılında Robert Blossfeld tarafından tanıtılmasından sonra

üreticiler, hem tür içi hem de türlerarası melezleme ile elde edilen yeni çeşitleri piyasaya sunmuştur. Ana türde diploid kromozom sayısı  $2n = 34$  iken, türlerarası hibritlerde ploidi seviyeleri (triploid,  $2n = 51$  ve tetraploid,  $2n = 68$ ) daha yüksektir [49].

*Kalanchoe blossfeldiana* sukulent karakterli bitkilerdir. Yaprakları etli, parlak yeşil renkli, kenarları oymalı dişli; kimöz durumlu çiçekleri ise kırmızı, pembe, beyaz, sarı, turuncu ve mor renklerde, yalın kat veya katmerlidir [32,34]. Her infloresans 100'ün üzerinde çiçeğe sahiptir [46]. Kış aylarında açan çiçekleri 7-8 hafta canlı kalmaktadır [18,29].

*Kalanchoe blossfeldiana* kısa gün bitkisidir [31,32,38,39]. Kritik gün uzunluğu 12.5 saattir [46] ve bitkilerin çiçek tomurcuğu oluşumu için günlük karanlık periyot 14 saat olmalıdır [31]. Çiçeklenme için en az 2 kısa güne ihtiyaç duyar ve kısa gün sayısının artmasıyla çiçek sayısı da katlanarak artar. Bu nedenle fotoperiyot ile çiçek oluşumu arasındaki ilişkiyi araştırmada model bitki olarak kullanılır [32,38,39]. Optimum gelişme sıcaklığı 64-68 °F olan *Kalanchoe blossfeldiana* türünde en iyi çiçeklenme 70 °F'de meydana gelmektedir [46].

Avrupa ve Amerika'da ekonomik olarak önemi

gittikçe artan en önemli iç mekan süs bitkilerinden biridir [18,19,37]. Her iki kıtada da orkidelerden sonra en çok satılan bitkilerdir. Avrupa'nın en çok süs bitkisi ticareti yapılan ülkesi konumundaki Hollanda'nın en büyük mezarı olan FloraHolland'da 2015 ve 2016 yılında 90 milyon adet, 2017 yılında 100 milyon adet *Kalanchoe* satılırken, bu ticareten sırasıyla 62, 67 ve 69 milyon € gelir elde edilmiştir [47]. Kalanchoe bitkisine olan talep ülkemizde de her geçen yıl artmaktadır. Yılda ortalama 20 TL fiyat ile ortalama 5 milyon adet *Kalanchoe blossfeldiana* bitkisi sakı ile satılmakta olup bunların yarısına yakın bölümü doğrudan ithal edilmekte, diğer kısmı da ithal gelen bitki materyallerinin sera içerisinde büyütülmesiyle hazır hale getirilmekte ve iç piyasaya satılmaktadır. İthal edilen süs bitkileri kategorisinde yer alan *K. blossfeldiana*'nın Orta Anadolu İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği tarafından FloraHolland süs bitkileri borsasına göre belirlenen, 2017 Aralık ayı ithalat referans fiyatı 0.62 Avro'dur [48].

*Kalanchoe blossfeldiana*, farklı tip ve renkteki çiçeklerinin uzun süre canlı kalması ve bakım ihtiyacının az olması nedeniyle çokça tercih edilen ve en fazla ticareti yapılan iç mekan süs bitkilerinden biri olup ülkemize halen yurtdışından getirilmektedir. Bu nedenlerle yapılacak ıslah ve hızlı çoğaltım çalışmalarına temel oluşturmak üzere gerçekleştirilen kaynak araştırması kapsamında elde edilen bilgiler gözden geçirilerek bu derleme hazırlanmıştır.

#### ***Kalanchoe Blossfeldiana* Poelln. Türünde Yapılan Doku Kültürü Çalışmaları**

Doku kültürü, bitki gen kaynaklarının korunmasında en uygun üretim yöntemi olmakla birlikte, vejetatif olarak hızlı ve fazla miktarda bitki çoğaltılabilmesine olanak sağlayan bir üretim şeklidir [40]. Klonal çoğaltım amaçlı *in vitro* kültür tekniklerini ilk uygulayan araştırmacı Georges Morel olmuştur. Morel, 1985 yılında orkidelerde sürgün uçlarını kullanarak hızlı bir şekilde mikroçoğaltımı sağlamıştır. Morel' in bu başarısından sonra, ekonomik önemi olan bitkilerin *in vitro* kültür yoluyla çoğaltılması bu bitkilerin bilinen vejetatif (eşeysiz) yollarla çoğaltılmasına alternatif olarak görülmeye başlanmıştır. Bugün dünyada yaklaşık 156 süs bitkisi, doku kültürü yöntemi ile farklı ticari laboratuvarlarda üretilmektedir [14].

*Kalanchoe blossfeldiana* türünde yapılan doku kültürü çalışmaları, mikroçoğaltım, somatik embriyogenezis, *in vitro* çiçeklenme ve ıslah çalışmaları olmak üzere dört başlık altında gruplandırılmıştır.

#### **Mikroçoğaltım Çalışmaları**

Geleneksel vejetatif çoğaltım yollarıyla bitki materyalinin elde edilmesinde sınırlamalar bulunmaktadır. Ancak doku kültürü yöntemi kullanıldığında çoğaltım katsayısının yüksekliği sayesinde kısa sürelerde binlerce aynı genetik yapıya sahip bitki elde edilebilir. Doku kültürü teknikleri kullanılarak bitki üretilmesi (mikroçoğaltım), birçok bitki türünde olduğu gibi süs bitkilerinin de vejetatif olarak hızlı ve çok miktarda çoğaltılabilmesine olanak sağlayan bir üretim şeklidir.

Bitki doku kültürü işlemlerinde kullanılan temel sistem bitki rejenerasyonudur. Bitki rejenerasyonu meristematik hücreleri ihtiva eden somatik dokular ile meristematik olmayan somatik dokulardan ve mayoz bölünme geçirmiş gametik hücrelerden elde edilmektedir [3].

Avrupa ve Amerika kıtasının en önemli iç mekan süs bitkilerinden biri olan *Kalanchoe blossfeldiana* hibritleri

günümüzde ticari olarak tepe çelikleri ile çoğaltılmaktadır. Geleneksel olan yöntem sınırlı sayıda çoğaltım izin vermektedir. Bu nedenle türün çoğaltım katsayısını artırmak, üretim süresini azaltmak amacıyla hızlı klonal çoğaltım yöntemleri geliştirilmiş ve *in vitro* kültür tekniklerinin kullanıldığı çok sayıda mikroçoğaltım çalışmasına ulaşılmıştır.

*Kalanchoe blossfeldiana* türünde yapılan mikroçoğaltım çalışmaları kapsamında genellikle farklı doku tiplerinde sürgün rejenerasyonu ve elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine büyümeyi düzenleyici maddelerin etkileri araştırılmıştır. Yapılan değerlendirmelerde bu konu üzerinde genellikle Çin'li araştırmacıların yoğunlaştıkları görülmüştür. Türün mikroçoğaltım konusunda yapılmış çok sayıda araştırma, doku kaynağı olarak kullanılan organlar esas alınarak gövde, yaprak ve çiçek kısımları ile yapılan mikroçoğaltım çalışmaları şeklinde sınıflandırılarak sunulmuştur.

#### **Gövde kısımları kullanılarak yapılan mikroçoğaltım çalışmaları**

Meristematik dokular bitkilerin büyüme bölgelerinde bulunan ve sürekli bölünebilme yeteneğine sahip hücrelerden oluşan bitkisel dokulardır. Kökenlerine göre primer meristem ve sekonder meristem olarak, bitkilerde buldukları yere göre ise apikal meristem ve lateral meristem olarak isimlendirilir. Sürekli bölünebilme yeteneğindeki hücrelerden oluşması sebebiyle rejenerasyon kabiliyeti yüksek olup vejetatif olarak bitki çoğaltımında en fazla kullanılan dokulardır. Meristematik dokuları içeren sürgün ucu, boğum ve boğumarası gibi gövde kısımlarının *Kalanchoe blossfeldiana* türünde de mikroçoğaltım amacıyla başlangıç materyali olarak kullanıldığı araştırmalara ulaşılmıştır.

*Kalanchoe blossfeldiana*'nın meristematik dokularla mikroçoğaltımını konusunda ilk araştırma Cui vd. [8,9] tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar sürgün ucu, gövde ve yan tomurcuk eksplantlarını farklı NAA ve BA içeren besin ortamlarında kültüre almışlar ve her iki hormonun da sürgün proliferasyonu üzerine önemli etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Aylık üretim endeksinin 2.67 olarak belirlendiği araştırmada 1.0 mg/l BA ve 0.3 mg/l NAA ilave edilen MS ortamında kültüre alınan tüm eksplant tiplerinde farklılaşma katsayısı daha avantajlı olmuştur. Çalışmada NAA ile kombine edilen IBA'nın kök gelişimini teşvik ettiği belirlenmiş ve en iyi köklenme sonuçları ½ MS + 0.1 mg/l NAA + 0.5 mg/l IBA kombinasyonunda tespit edilmiştir. Bu ortamda elde edilen bitkiciklerin de daha kuvvetli olduğu belirtilmiştir. Yan tomurcuk, sürgün ucu ve gövde eksplantlarını BA ve NAA ilave edilmiş MS besin ortamında kültüre alarak aylık üretim katsayısını 5.8'e yükseltmişlerdir. IBA ile kombine edilen NAA'nın kök gelişimini teşvik ettiğini gözlemleyen araştırmacılar, 4 mg/l BA ve 0.2 mg/l NAA içeren MS ortamında kültüre alınan tüm eksplantlarda farklılaşmanın daha olumlu olduğunu, ½ MS + 0.4 mg/l IBA kombinasyonunda ise en iyi kök gelişiminin elde edildiğini rapor etmişlerdir.

Çinli araştırmacıların ilk sonuçlarından sonra İranlı araştırmacılar apikal meristem dokusunu içeren sürgün ucu eksplantlarını kullanarak *Kalanchoe blossfeldiana* türünde adventif sürgün rejenerasyonu ve elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi konusunda gelişmeler kaydetmiştir. Bunlardan Kordi vd. [24] tarafından yürütülen çalışmada *K. blossfeldiana*'nın sürgün ucu eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu ve elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi üzerine büyümeyi düzenleyici maddelerin etkisi araştırılmıştır. Araştırmada eksplantların 15 dakika

süre ile %15'lik NaOCl ile ardından 5 dakika %70'lik etanol uygulaması ile yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduğu ve 0, 0.5, 1 ve 2 mg/l BA ve NAA ilave edilen pH'sı 5.7-5.8'e ayarlanmış katı MS besin ortamında kültüre alındıkları bildirilmiştir. Kùltürler 25±2°C sıcaklık, %75-80 nem ve günlük 14 saat 50 µmol/m<sup>2</sup>/s ışık şiddeti koşullarında inkübe edilmiş, kültür başlangıcından 45 gün sonra bitkicik boyu, sürgün sayısı, kök sayısı ve kök uzunluğu ölçülmüştür. MS + 1 mg/l BA + 1 mg/l NAA içeren besin ortamından en iyi sonuçlar alındığı, buna göre en yüksek bitki boyunun 6.22 cm, kök sayısının 9.34 ve kök uzunluğunun ise 10.36 cm olarak tespit edildiği belirtilmiştir. Maksimum sürgün sayısı (5.39) ise MS + 1 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA uygulamasından elde edilmiştir. Doku kültüründe çoğaltılmış bitkiciklerin %85'i başarılı bir şekilde dış koşullara alıştırılmıştır.

Apikal meristem dokusunu içeren sürgün ucu eksplantlarının kullanıldığı benzer bir araştırma yine İranlı araştırmacılar Kaviani vd. [20] tarafından yapılmıştır. *K. blossfeldiana* cv. White çeşidinin mikroçoğaltımı üzerine farklı büyüme düzenleyici ve konsantrasyonlarının etkisinin araştırıldığı çalışmada, sürgün proliferasyonu ve köklenme elde etmek amacıyla serada muhafaza edilen ve aktif olarak büyüyen sürgünlerden hazırlanmış sürgün ucu eksplantları farklı dozlarda NAA ve BA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Araştırmada hem BA hem de NAA'in 0.0, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg/l dozları kullanılmıştır. Eksplantlar 20 dakika %20'lik NaOCl ardından 3 dakika % 70 etanol ile yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Besin ortamının pH'sı 5.7-5.8'e ayarlanmıştır. Kùltürler 5 hafta süreyle 26±1 °C sıcaklık, %75-80 nem ve günlük 16 saat 50 µmol/m<sup>2</sup>/s ışık şiddeti koşullarında inkübe edilmiştir. Maksimum bitkicik boyu (7.012 cm), nod sayısı (4.516), kök sayısı (8.860 adet) ve kök uzunluğu (10.16 cm) 1 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Maksimum sürgün sayısı (5.886 adet), yaprak sayısı (8.98 adet) ve proliferasyon indeksi (1.791) 1 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA ilave edilen ortamda hesaplanmıştır. En düşük bitkicik boyu (1.988 cm), node (boğum) sayısı (1.283), kök sayısı (2.72), kök uzunluğu (3.016 cm), sürgün sayısı (1.221), yaprak sayısı (2.015) ve proliferasyon indeksi (0.405) büyüme düzenleyici içermeyen kontrol grubu bitkilerinde meydana gelmiştir. Mikroçoğaltılmış bitkiciklerin yaklaşık %85'i eşit oranda kum, torf ve perlit içeren ortamlarda başarılı bir şekilde dış koşullara aktarılmıştır.

*Kalanchoe blossfeldiana* türünün mikroçoğaltımına ilişkin apikal meristem içeren sürgün ucu eksplantları yanında, lateral meristem içeren boğum ve sekonder meristem içeren boğum arası gibi gövde eksplantlarının da kullanıldığı birçok çalışma elde edilmiştir.

*K. blossfeldiana*'da sürgün proliferasyonu, sürgünlerin köklendirilmesi ve bitkiciklerin dış koşullara aktarılması üzerine Deng vd. [10] tarafından yapılan çalışmalarda başlangıç materyali olarak boğum eksplantları kullanılmıştır. Araştırmada en uygun başlangıç ortamı olarak % 100 gelişme oranı ile MS + 0.5 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA ortam kombinasyonu tespit edilirken, sürgün çoğaltımında BA, NAA ve GA<sub>3</sub> kombinasyonlarının daha etkili olduğu ifade edilmiştir. MS + 2.0 mg/l BA + 0.2 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> besin ortamında 9.3 kat proliferasyon elde edilmiştir. Sürgünlerin çoğaltımı ve köklenmesi üzerine MS+ 2.0 mg/l BA+ 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> + 2.0 g/l aktif kömür içeren yarı katı ortam katı ortama göre daha başarılı bulunmuştur. Eksplant başına 5.5'in üzerinde sürgünün elde edildiği çalışmada tüm sürgünler başarılı bir şekilde köklendirilmiş ve dış koşullara aktarılan bitkiciklerde canlılık oranının % 100 olduğu

vurgulanmıştır.

Boğum eksplantlarını başlangıç materyali olarak tercih eden Luo vd. [30], *K. blossfeldiana*'nın hızlı çoğaltımı ve çiçeklenmesi üzerine denemeler yapmışlardır. Çalışmada kontaminasyon oranı üzerine HgCl<sub>2</sub> konsantrasyonu ve süresi, üretim katsayısı ve elde edilen bitkiciklerin çiçeklenmesi üzerine ise büyüme düzenleyicilerin etkisi araştırılmıştır. Yüzeysel sterilizasyon denemelerinde en düşük kontaminasyon oranı 8 dakika HgCl<sub>2</sub> ile dezenfekte edilen örneklerden (%20) elde edilmiş, kontrol grubu örneklerinde ise bu oran %77.8 olarak gerçekleşmiştir. Sürgün proliferasyonu denemelerinde MS + 0.30 mg/L IAA + 2.1 mg/L BA + 0.6 mg/L GA<sub>3</sub>, bitkiciklerin çiçeklenmesi için ise MS + 2.5 mg/L NAA en uygun ortam kombinasyonu olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar GA<sub>3</sub>'in tek başına kullanıldığı örneklerde çiçeklenmeyi uyarıcı etkide bulunmadığını, ancak NAA ile birlikte kullanıldığında bitkiciklerin çiçeklenme süresini 15 gün öne aldığını rapor etmişlerdir.

*K. blossfeldiana*'da başarılı bir sürgün rejenerasyonu elde ettiklerini açıklayan Filipinli araştırmacılar Nieves vd. [33] de boğum eksplantlarından yararlanmıştır. Araştırmacılar "White" çeşidine ait boğum eksplantlarını paclobutrazol bulunan veya bulunmayan farklı dozlarda TDZ içeren ortamlarda kültüre aldıklarını, kültür başlangıcından 7 ila 11 gün sonra yeni sürgünlerin geliştiğini ve en yüksek sürgün proliferasyonunun (25 sürgün) kültürün 12. haftasında 10 µM TDZ uygulamasından elde edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmada besin ortamına ilave edilen paclobutrazolün gelişmeyi (sürgün proliferasyonu, yaprak sayısı, yaprak genişliği, gövde çapı, boğumarası uzunluğu ve sürgün uzunluğu) önemli ölçüde azalttığı, TDZ ile birlikte kombine edildiğinde ise sürgün proliferasyonunu önemli oranda engellediği belirlenmiştir. Kültür kaplarının en üst kısmındaki etilen yoğunluğunun (0.015-0.039 ppm) tüm uygulamalarda düşük düzeyde olduğunu tespit eden araştırmacılar, bu durumu etilenin *K. blossfeldiana*'nın boğum kültürleri üzerinde bir etkisinin olmadığı şeklinde yorumlamışlardır.

Yapraklı ve yapraksız olarak hazırladıkları gövde eksplantlarını kullanarak Kalanço'da bitkicik rejenerasyonu üzerine çalışan Huang vd. [17], kültürün 7-8. gününde eksplantlar üzerinde aksillar tomurcukların sürdüğünü, 30 günlük kültür sonucunda tomurcukların uyarılması için en uygun besin ortamı kombinasyonunun MS + 1 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA olarak belirlendiğini bildirmiştir. Araştırmada yapraksız gövde eksplantlarında sürme oranının yapraklı gövde eksplantlarından daha yüksek olduğu, yapraklı olarak hazırlanan kültürlerde kültürün 9-14.gününde yaprak sapı tabanında adventif tomurcukların oluşmaya başladığı ve bu sürenin kullanılan besin ortamına göre değiştiği belirtilmiştir. Araştırmacılar adventif tomurcuk rejenerasyonu için ½ MS + 1 mg/l BA, köklenme için ¼ MS'i en uygun ortam olarak tespit ettiklerini açıklamışlardır.

*Kalanchoe blossfeldiana* türünün mikroçoğaltımı üzerine yapılan araştırmalarında kullanılan bir diğer gövde kısmı da boğumalarıdır. İnternode eksplantlarını kullanarak beyaz çiçekli bir *K. blossfeldiana* çeşidinde hızlı çoğaltım tekniğinin optimizasyonu üzerine araştırmalar yapan Xinzhen vd. [52] çalışmalarında, tomurcukların proliferasyonu ve elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi için sırasıyla 2.0 mg/l BA + 0.1 mg/l IBA + 2.0 mg/L GA<sub>3</sub> + 40 g/l şeker ilave edilmiş MS ve 0.4 mg/l IBA + 0.1 mg/l BA + 1.5 mg/L GA<sub>3</sub> + 40g/l şeker ilave edilmiş MS'i en uygun ortam kombinasyonu olarak tespit ettiklerini, elde edilen bitkiciklerin de %99 oranında dış koşullara alıştırıldığını

rapor etmişlerdir.

*Kalanchoe blossfeldiana*'da boğumarası eksplantları kullanılarak sürgün rejenerasyonunun optimizasyonu üzerine bir diğer araştırma Sanikhani vd. [37] tarafından yapılmıştır. Çalışmada 7 farklı *K. blossfeldiana* çeşidine ait (Debbie, Molly, Celine, Gold strike, Cora, Purple Jaqueline ve African Yellow) internode eksplantlarının % 2'lik NaOCI ile 9 dakika çalkalanarak yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra farklı konsantrasyonlarda NAA (0 ve 0.57 M) ve TDZ (0, 0.45, 4.5, 22.5 ve 67.5 µM) içeren MS besin ortamında kültüre alındığı ve 8 hafta boyunca 25±1 °C sıcaklıkta 16 saat 55 µmol m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> şiddetindeki serin beyaz floresan ışığı altında inkübe edildiğini, 5 hafta sonra ise alt kültüre alındığı bildirilmiştir. Araştırma sonucunda tüm çeşitlerde eksplant başına düşen sürgün sayısı ve sürgün rejenerasyonu frekansının TDZ konsantrasyonunun yükselmesi ile arttığı, maksimum rejenerasyon frekansı ve optimum TDZ konsantrasyonunun önemli ölçüde çeşide bağlı olduğu, en iyi sonuçların alındığı Purple Jaqueline çeşidinde 8 haftalık kültürün sonunda 0.45 µM TDZ içeren besin ortamından yaklaşık 10 adet adventif sürgün elde edildiği, bazı çeşitlerde ise büyümeyi düzenleyici olmaksızın da adventif sürgün elde edilebildiği belirtilmiştir.

#### Yaprak kısımları kullanılarak yapılan mikroçoğaltım çalışmaları

Bazı sürekli doku hücreleri (özellikle parankima) özellikle bitki hormonlarının etkisiyle yeniden bölünme yeteneği kazanarak sekonder meristeme dönüşür. Parankimatik dokular bu özelliği nedeniyle *in vitro* koşullarda yapılan çoğaltım çalışmalarında başlangıç materyali olarak kullanılmaktadır. Sukulent karakterli *Kalanchoe blossfeldiana* türünde de mikroçoğaltım çalışmalarında parankimatik dokulardan oluşan yaprak kısımlarından (yaprak sapı ve yaprak ayası) hazırlanan eksplantlar çeşitli büyümeyi düzenleyici maddelerin ilave edildiği besin ortamlarında kültüre alınarak rejenerasyon elde edilmeye çalışılmıştır.

*Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. türünde ilk doku kültürü çalışması Hollanda'lı araştırmacılar Varga vd. [50] tarafından yapılmıştır. Süs bitkilerinin *in vitro* vejetatif çoğaltılmasında epigenetik varyasyonun temel problem olduğuna dikkati çeken araştırmacılar epigenetik varyasyon üzerine büyümeyi düzenleyicilerin etkisini belirlemek amacıyla "Yukatán" çeşidine ait yaprak eksplantlarını farklı oksin ve sitokinin içeren besin ortamlarında kültüre almışlardır. Araştırmada, 2,4-D'in sürgün taslaklarında deformasyonlara neden olduğu, IAA ve Zeatin içeren ortamlarda ise en hızlı kallus üretimi ile iyi gelişmiş sürgün rejenerasyonunun meydana geldiği gözlenmiştir. Her iki büyümeyi düzenleyici için de optimum konsantrasyonun 1 µM olarak belirlendiği çalışmada, büyümeyi düzenleyicilerin uygulama süresinin 6 haftadan 3 haftaya düşürülmesi ile epigenetik varyasyonun azaldığı vurgulanmıştır.

Yuliang vd. [53], *K. blossfeldiana*'nın bitkicik rejenerasyonunda yüksek verimlilik elde etmek amacıyla yaprak disk kültürünü kullanmıştır. Çalışmada 2.5 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA hormon kombinasyonunda % 86.6 oranında kallus, % 83.3 oranında ise sürgün rejenerasyonu meydana geldiği tespit edilmiş, yaprak diski yüzeylerinin kültür ortamı ile temas ettirilmesinin, eksplantların rejenerasyon oranını önemli oranda etkilediği belirtilmiştir. Araştırmada ayrıca yaprak disklerinin ortama inokulasyonu safhasında ortama 4 mg/l AgNO<sub>3</sub> ilave edilmesinin sürgün rejenerasyonu olumlu yönde direkt olarak etkilediği, kallus oluşumundan sonraki

süreçte sürgün rejenerasyon frekansını önemli derecede artırdığı bildirilmiştir. Son olarak rejeneren olan sürgünlerin *in vitro*'da kolayca köklendirildiği ve saksılara aktarıldıktan sonra bitkilerin normal bir şekilde büyümelerine devam ettiği rapor edilmiştir.

*Kalanchoe* bitkisinde yaprak kısımlarından adventif sürgün rejenerasyonu üzerine yapılan bir diğer çalışmada *in vitro* koşullarda elde edilen yapraklar eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu amaçla *K. blossfeldiana* cv. "Rako" çeşidinde yapılan araştırmalarda, besin ortamı içerisindeki hormon içeriği ve oranının yapraklardan rejenerasyon üzerine etkili olduğu, besin ortamı ile temas eden alt epidermis hücrelerinden üst epidermis hücrelerine nazaran daha kolay rejenerasyon meydana geldiği bildirilmiştir. Çalışmada genç yapraklarla oluşturulan bu kültürlerde %70 oranında rejenerasyon sağlandığı, bunların %95'inde köklenmenin meydana geldiği ve köklenen bitkiciklerin %95 oranında başarılı bir şekilde dış koşullara aktarıldığı diğer araştırma bulguları olarak açıklanmıştır [54].

Pembe çiçekli bir *K. blossfeldiana* çeşidinde yaprak eksplantlarından bitkicik rejenerasyonu üzerine farklı kültür koşullarının (besin ortamı, karanlık periyot ve büyümeyi düzenleyiciler) etkisini araştıran Linjian vd. [27], çalışmalarında en yüksek rejenerasyon oranının 5.2 ile MS + 2 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA besin ortamı kombinasyonunda meydana geldiğini, 2 haftalık karanlık periyot uygulamasının rejenerasyon oranını 5.47 ye çıkardığını ve elde edilen sürgünlerin 1 mg/L IBA ilave edilmiş MS ortamında köklendirildiğini bildirmişlerdir.

*K. blossfeldiana*'nın yaprak eksplantlarından adventif sürgünler ve bitkicikler elde etmek amacıyla Tang [43], MS + 2 mg/l BA + 0.3 mg/l NAA ortam kombinasyonunu en uygun proliferasyon ortamı olarak belirlemiştir.

Chen vd. [6], *K. blossfeldiana*'nın büyük ölçekli ticari üretimi için bilimsel bir temel oluşturduğunu belirten çalışmada, genç yaprakları eksplant kaynağı olarak kullanmış, adventif tomurcuk oluşumu ve köklenme üzerine MS temel besin ortamına ilave edilen dört farklı NAA ve BA kombinasyonunun etkisini araştırmıştır. Her iki hormonun da rejenerasyon frekansı üzerine etkili olduğu araştırmada, adventif tomurcuk proliferasyonu için MS + 1 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA, köklenme için ise ½ MS + 0.5 mg/L NAA en uygun ortam kombinasyonu olarak belirlenmiştir. Çalışmada çoğaltma katsayısı 10'a ulaşmış, hem köklenme oranı hem de aktarılan bitkiciklerin canlılık oranı % 95 olarak gerçekleşmiştir. Araştırmada üretim sürecinin konvansiyonel çoğaltma yöntemlerine göre kısaldığı ifade edilmiştir.

*K. blossfeldiana*'nın büyük ölçekli üretimine temel oluşturmak amacıyla Penghui ve Xingze [36] yapılan çalışmada, yaprak eksplantlarından kallus ve bitkicik rejenerasyonu amaçlanmıştır. Eksplantların %0.1 oranındaki cıva klorürde 4 dakika süreyle muamele edilmesinin en etkili yüzey sterilizasyonunu sağladığını, bu uygulamada %12.5 oranında kontaminasyon ve % 2.5 oranında ölüm meydana geldiği belirlenmiştir. En yüksek kallus oluşumu (%95.8) MS + 1.0 mg/L BA + 0.1-0.3 mg/L NAA ortamından elde edilmiş, sürgün sayısını 12.2 kat artıran ½ MS + 1.0 mg /L BA + 0.1 mg /L NAA kombinasyonu en uygun proliferasyon ortamı olarak belirlenmiştir. Elde edilen bitkicikler de %99 oranında dış koşullara aktarılmıştır.

İspanyol araştırmacılar Castelblanque vd. [4], *K. blossfeldiana*'nın protoplastlarından bitki rejenerasyonu elde etmek için basit ve etkili bir protokol geliştirmiştir. Mezofil protoplastları bir ön kültür sonrası aksenik yapraklardan



izole edilmiştir. Dokunun enzimatik yıkımı %0.4 Cellulase Onozuka R-10 ve % 0.2 Driselase içeren bir solüsyon ile yapılmış ve gram taze ağırlık başına 6.0 x 10<sup>5</sup> protoplast elde edilmiştir. Protoplastlar, 320 mM mannitol, 130 mM sükröz, 2.3 µM 2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D), 5.4 µM' naftalenasetik asit (NAA) ve 2.2 µM 6-benzilamin (BA) içeren sıvı ortam içinde, mililitrede 1 x 10<sup>5</sup> yoğunluğunda ve karanlıkta kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 4 gün sonra hücre duvarı rejenerasyonu gözlenmiş, 5-7 gün sonra ise hücre bölünmesi başlamıştır. Protoplastlar 5.4 µM NAA ve 8.9 µM BA içeren sıvı bir ortamda kültüre alındığında, küçük gözle görülebilir kalluslar gelişmiş ve fotoperiyodik koşullara aktarıldığında ise adventif tomurcuklar ortaya çıkmıştır. Geliştirilen sürgünler, 0.6 µM indol-3-asetik asit (IAA) ilave edilen katı besin ortamında köklendirilmiş ve başarılı bir şekilde sera koşullarına adapte edilmiştir. 1 x 10<sup>5</sup> protoplast başına 6.4 bitkinin elde edildiği çalışmada protoplast izolasyonundan köklü bitki elde edilinceye kadar geçen süre 4 ay olmuştur. Araştırmacılar, çalışmanın *Crassulaceae* familyasında protoplastlardan bitki rejenerasyonu elde etmek amacıyla oluşturulan ilk protokol olduğunu bildirmiştir.

*K. blossfeldiana*'da parankimatik dokulardan sürgün rejenerasyonu çalışmalarında çoğunlukla yaprak ayası kullanılmıştır. Peng vd. [35], bu amaçla turuncu renkli bir *K. blossfeldiana* çeşidinin yaprak sapı eksplantlarını kullandığı araştırmasında farklı gelişme aşamaları için en uygun ortam kombinasyonunu belirlemeye çalışmıştır. Bu amaçla yapılan denemelerde başlangıç ortamı olarak MS + 0.5 mg/L BA + 2.0 mg/L NAA; adventif tomurcuk oluşumu için MS + BA 0.5 mg/L + 0.4 mg/L NAA, köklenme için ise ½ MS + 0.2 mg/L IBA en uygun kombinasyonlar olarak tespit edilmiştir. Dış koşullara aktarılan bitkiciklerin ise %98 oranında canlılıklarını koruduğu belirtilmiştir.

Kırmızı çiçekli bir *Kalanchoe* çeşidinin mikroçoğaltımını araştıran Lin vd. [26] yaprak ve gövde kısımlarından rejenerasyon elde etmeyi amaçladığı çalışmada, her iki eksplant tipinde de direkt olarak tomurcuk oluşumunun uyarıldığını ve MS + 0.25 mg/L NAA + 1 mg/L BA + 2 mg/L GA kombinasyonunu aksillar tomurcuk oluşumu için en uygun ortam olarak belirlediklerini bildirmişlerdir. Araştırmada, sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla yapılan denemelerde 0.25 mg/L NAA ilave edilmiş MS ortamından en yüksek köklenme oranı elde edilmiştir.

Liu vd. [28], *Kalanchoe blossfeldiana*'da hızlı çoğaltım çalışmalarında genç yaprak ve internode eksplantlarını kullanmıştır. Başlangıç ortamı olarak MS + 1.0 mg/l BA + 0.2 mg/l NAA kombinasyonunu kullanan araştırmacılar, daha sonra örnekleri yüksek bir çoğaltım katsayısı elde etmek amacıyla farklı hormonlar içeren alt kültür ortamına transfer etmişlerdir. Çalışmada en yüksek adventif tomurcuk oluşumu %95 gibi yüksek bir oran ile MS + 0.5 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> besin ortamı kombinasyonunda tespit edilmiştir. Proliferasyon frekansının 20 olarak belirlendiği araştırmada elde edilen bitkiciklerin de kuvvetli olduğu bilgisi verilmiştir. Sürgünlerin köklendirilmesinde farklı bir yol izlediklerini belirten araştırmacılar çalışmalarında sünger kullanarak %95 oranında köklenme elde ettiklerini, dış koşullara aktardıkları bitkiciklerde ise canlılık oranının % 100 olduğunu bildirmişlerdir.

#### **Çiçek kısımları kullanılarak yapılan mikroçoğaltım çalışmaları**

Süs bitkilerinin mikroçoğaltımında başlangıç materyali olarak kullanılan bitki kısımlarından biri de çiçeklerdir. *Kalanchoe blossfeldiana*'nın mikroçoğaltımını

amacıyla çiçek kısımlarının kullanıldığı çalışmada, katmerli çiçek yapısına sahip bir *K. blossfeldiana* çeşidinden hazırlanan inflorescence eksplantları, BA ve IAA'ın 4 farklı konsantrasyonunun ilave edildiği MS besin ortamında kültüre alınarak çeşidin hızlı çoğaltımı amaçlanmış, farklılaşma için 2.5 mg/L BA ve 0.5 mg/L IAA ilave edilmiş MS besin ortamının tercih edilebileceği ifade edilmiştir [7].

*Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. türünde yapılan mikroçoğaltım çalışmalarında çoğunlukla sürgün proliferasyonu üzerine farklı eksplant kaynakları, büyümeyi düzenleyici cinsi ve konsantrasyonu ile kültür koşullarının etkisinin araştırıldığı gözlemlenmiştir. Araştırmalarda, eksplant kaynağı olarak gövde (node, internode, sürgün ucu), yaprak (yaprak sapı ve ayası) ve çiçek kısımlarının kullanıldığı, bunların NaOCl veya HgCl<sub>2</sub> ile yüzey sterilizasyona tabi tutulduğu belirtilmektedir. Karşılaşılan tüm çalışmalarda temel besin ortamı olarak farklı kuvvetlerde MS kullanılmıştır. Sürgün rejenerasyonu için genellikle oksin - sitokin kombinasyonları araştırılmış, en fazla kullanılan oksin olarak NAA, en fazla kullanılan sitokin olarak ise BA dikkati çekmiştir. Bunun yanında sürgün rejenerasyonu için diğer büyümeyi düzenleyicilerden (IAA, GA<sub>3</sub>, TDZ ve paclobutrazol) de yararlanılmıştır. Araştırmalarda *in vitro* koşullarda elde edilen sürgünlerin köklendirilmesinde genellikle IBA kullanıldığı, köklendirilen bitkiciklerin ise başarılı bir şekilde dış koşullara aktarıldığı belirlenmiştir. Çalışmalarda kültür koşulları hakkında bilgiler verilmiş, çeşitlere göre değişmekle birlikte genellikle sıcaklığın 25-26 °C, ışıklandırma süresinin 14-16 saat, ışık intensitesinin 40-50 µmol/m<sup>2</sup>/s ve hava nisbi neminin de %75-80 arasında olması gerektiği ifade edilmiştir. Araştırmalarda eksplant başına 5-25 arasında sürgün elde edildiği, bu sürgünlerin %95-100 oranında köklendirildiği ve aynı oranda bitkiciklerin dış koşullara aktarıldığı görülmüştür.

#### **Somatik Embriyogenezis Çalışmaları**

Bitki hücrelerinden embriyo elde edilmesi döllenmiş yumurta hücresi ile sınırlı değildir. *In vitro* kültür şartlarını ve özellikle de bitki büyüme düzenleyicilerini ayarlayarak bir bitkinin herhangi bir somatik hücre, doku veya organdan embriyo elde etmek mümkün olabilmektedir. Vejetatif hücrelerden gelişen embriyolar somatik embriyo olarak adlandırılmaktadır. Somatik embriyogenezis bitki doku kültürlerinde klonal çoğaltım, sentetik tohum üretimi ve gen aktarımı gibi amaçlarla kullanılmaktadır [3]. *K. blossfeldiana*'da klonal çoğaltım ve sentetik tohum üretimi amacıyla yapılmış sınırlı sayıda somatik embriyogenezis çalışmasına ulaşılmıştır.

*K. blossfeldiana*'nın klonal çoğaltımını amacıyla somatik embriyogenezis çalışmaları yapan Chao vd. [5], açık sarı renkli, dağınık halde bulunan tanecik şeklindeki yapıyı embriyonik kallus olarak tanımlamıştır. Embriyoid uyarımı sırasında, farklı konsantrasyonlarda büyümeyi düzenleyiciler içeren kültür ortamlarının kullanıldığı araştırmada, en yüksek redüksiyon sıklığının (185 embriyoid/ gram) MS + 2 mg/l BA + 0.2 mg/l NAA + 30 g/l sakaroz + 4 g/l aktif karbon kombinasyonunda belirlendiği, rejenerasyon ortamı olarak ise MS + 30 g/l sakaroz kullanıldığı bildirilmiştir. Araştırmacılar ayrıca embriyoidin globüler, kalp ve kotiledon evrelerinin kallusun parafin dilimleri aracılığıyla gözlemlendiğini ifade etmişlerdir.

*K. blossfeldiana* türünde sentetik tohum üretimi üzerinde de çalışılmıştır. Farklı ortamlar, büyümeyi düzenleyiciler ve konsantrasyonlarının kullanıldığı çalışmada, embriyonik

kallus teşviki için en uygun ortam olarak MS + 2 mg/l 2,4-D + 0.2 mg/l BA kombinasyonunun belirlendiği, en yüksek embriyo oluşum frekansının ise MS + 2 mg/l BA + 0.2 mg/L NAA + 4 g/l aktif karbon ortam kombinasyonundan elde edildiği bildirilmiştir. Somatik embriyoların sentetik tohuma dönüştürülmesinde katılaştırma (kaplama) maddesi olarak %4 oranında sodyum aljinat, birleştirme faktörü olarak ise %2 oranında CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O kullandıklarını belirten araştırmacılar, elde edilen sentetik tohumlarda çimlenme oranının büyüme düzenleyici içermeyen MS ortamı üzerinde %96'nın üzerinde olduğunu açıklamışlardır [51].

### Çiçeklenme Çalışmaları

Çiçeklenme, apikal meristemin çiçek meristemine dönüşmesiyle başlamaktadır. Apikal meristemin dönüşümünü etkileyen faktörler bitkinin olgunluğu, ışık, sıcaklık, fotoperiyot ve gece-gündüz uzunluğudur. Son yıllarda *in vitro* çiçeklenme, yeni geliştirilen çeşitlerin bir an önce piyasaya kazandırılmasında mikroçoğaltım yapan üreticilere yardımcı olan değerli bir araç haline gelmiştir [42].

*Kalanchoe blossfeldiana* türünde *in vitro* koşullarda çiçeklenme üzerine yapılan çalışmalarda genellikle besin elementleri ve büyüme düzenleyici maddeler ile ışık, sıcaklık ve kültür kaplarının havalandırılmasını içeren kültür koşullarının etkileri araştırılmıştır.

*K. blossfeldiana*'nın *in vitro* koşullarda çiçeklenmesi üzerine besin elementleri ve kültür koşullarının etkisini araştıran Dickens ve Van Staden [11], boğum ekplantlarını hormonsuz zayıf bir besin ortamında kültüre almıştır. Kısa gün koşullarında çiçeklenmenin başarılı olduğu araştırmada, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> ve KNO<sub>3</sub> formundaki azotun çiçeklenme ve vejetatif gelişmeyi farklı şekillerde teşvik ettiği, kültür kabı ve/veya besin ortamı hacminin azalmasını ise çiçeklenmeyi engellediği belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca ortamdaki sukroz içeriğinin artırılmasının, çiçeklenme ve yaprakta antosiyanin üretiminde bir miktar artışa neden olduğu ancak vejetatif gelişmenin birçok yönünü engellediği tespit edilmiştir. Araştırmacıların bir başka çalışmasında ise gallik asit ve büyüme düzenleyicilerin etkileri araştırılmış, yine boğum ekplantları hormonsuz zayıf bir besin ortamında kültüre alınmıştır. Çiçeklenmenin kısa gün koşullarında elde edildiği, bitki hormonlarının çiçeklenmenin farklı yönlerini etkilediği, hormon içermeyen besin ortamlarında vejetatif gelişmenin olumsuz etkilenmesine karşın çiçeklenme elde edildiği belirlenmiştir. Ayrıca fenolik bir bileşik olan gallik asitin *K. blossfeldiana*'nın çiçeklenmesinde spesifik bir inhibitör olmadığı ifade edilmiştir [12].

*Kalanchoe* bitkisinin *in vitro* çiçeklenmesi üzerine Amaki ve Higuchi [2] tarafından yapılan kapsamlı bir çalışmada çevre koşulları ve çeşitlerin etkisi araştırılmıştır. Araştırmacılar bu amaçla *K. blossfeldiana*'nın büyümesi ve çiçeklenmesi üzerine sıcaklık, gün uzunluğu, fotosentetik ışık yoğunluğu ve kültür kaplarının havalandırılması (saatte hava değişim sayısı) gibi kültür koşullarının etkilerini incelemiştir. Araştırmada *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında kültüre alınan bitkiler arasındaki çiçek tomurcuklarının farklılaşma ve gelişim sürelerindeki değişimler tartışılmıştır. Denemeye alınan kültürlerde *in vitro* çiçeklenme, kısa-gün koşullarında erkenci ve orta çiçeklenme grubunda yer alan 5 çeşitte meydana gelmiş, geçici olan diğer iki çeşitte (Sensation ve Rose Crown) ise, 25 hafta boyunca çiçek tomurcuğu oluşmamıştır. İlk çiçeklenme erkenci çeşitlerden Singapur ve Adagio'da tespit edilmiş, bunları orta-mevsim grubunda yer alan Oukan, Houkan ve Fortyniner çeşitleri izlemiştir.

Ortam sıcaklığı bakımından yapılan değerlendirmelerde, Singapur, Adagio, Houkan ve Fortyniner çeşitleri 20 °C'de çiçek tomurcuğu oluştururken, Oukan çeşidinde hem 20 °C hem de 25 °C'de çiçek tomurcukları meydana gelmiştir. *In vitro* çiçeklenme üzerine ışığın etkisi çarpıcı olmuş, çiçeklenme 40 µmol/m<sup>2</sup>/s ışık şiddetinde meydana gelmiştir. 10 ve 30 µmol/m<sup>2</sup>/s ışık şiddetinde, yukarıdaki çeşitlere ait bitkiler *in vitro* çiçek tomurcukları üretmekte başarısız olmuştur. Alüminyum folyo ile oluşturulan kapak kullanarak saatte 0.03 hava değişimi ile yapılan kültür kapları içindeki bitkilerde çiçek tomurcukları oluşmamış, buna karşılık silikon kauçuk bir tıpa ile kapatılan ve saatte 3.40 ile 3.75 hava değişimine sahip kültürlerde, gelişme ve çiçek tomurcuğu farklılaşması olumlu bulunmuştur. Çalışmada, çiçek tomurcuğu ayırma periyodundan çiçek tomurcuğu oluşumuna kadar geçen süre 35 gün olarak belirlenmiş, *in vitro* ve *in vivo* kültüre alınmış bitkilerde çiçek tomurcuğu gelişme oranının neredeyse eşit olduğu belirtilmiştir.

*Kalanchoe blossfeldiana*'da *in vitro* koşullarda çiçeklenme elde etmek için yapılan araştırmalardan, çiçeklenmenin kısa gün koşullarında meydana geldiği ve kritik uzunluğunun 12.5 saat olduğu, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> ve KNO<sub>3</sub> formundaki azotun çiçeklenmeyi teşvik ettiği, hormon ilave edilmeksizin de çiçeklenmenin elde edilebileceği, kültür kaplarında saatte 3.40 ile 3.75 hava değişimine ihtiyaç duyulduğu, genellikle 20 °C'lik sıcaklığın yeterli bulunduğu, ışık şiddetinin ise 40 µmol/m<sup>2</sup>/s olması gerektiği anlaşılmıştır.

### Islah Çalışmaları

Bitki ıslahı, herhangi bir bitki türünde istenilen özellikleri elde etmek için bitkilerin kalıtımının değiştirilmesi veya iyileştirilmesi bilim ve sanattır. Türler arası melezlemelerden sonra embriyo kültürü, haploid bitki üretiminde (polen) ve yumurtalık (ovül) kültürü, somaklonal varyasyon, *in vitro* seleksiyon, *in vitro* döllenme, *in vitro* germplazm muhafazası, somatik hücre melezlemesi (protoplast füzyonu) ve gen transferi doku kültürlerinin bitki ıslahındaki uygulama alanlarıdır [3]. *Kalanchoe blossfeldiana* türünde doku kültürü yöntemi ile yapılan ıslah çalışmaları hibrit embriyoların kurtarılması ve poliploid bitki elde etmek amacıyla yapılan somaklonal varyasyon çalışmaları ile sınırlıdır.

Izumikawa vd. [18], *K. blossfeldiana* ve birkaç yabancı *Kalanchoe* türü arasında tür içi ve türler arası melezlemeler sonucu elde ettikleri hibrit embriyoları kurtarmak amacıyla ovül kültürü tekniğini kullanmışlardır. Araştırmada, F1 hibritlerin analizi flow sitometri ve RAPD tekniği ile yapılmış, çalışmada 6 adet tür içi, 3 adet türler arası melez kombinasyon elde edilmiştir. Yalnızca 2 yabancı tür ile yapılan çaprazlamalarda karşılıklı uyum gözlemlendiği, diğer hibritlerin tamamının ana donör olarak *K. blossfeldiana* kullanılması durumunda elde edilebildiği bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca hibritlerin çiçek morfolojisi ve renginin, her iki ebeveyn tür arasında neredeyse orta düzeyde gerçekleştiği ve F1 hibritlerin doku kültüründe kromozomları katlanarak fertil hale getirildiği belirtilmiştir.

Somaklonal varyasyon bitki doku kültüründe genetik kararsızlık sonucunda ortaya çıkan kalıtsal değişikliklerdir [25]. Somaklonal varyabilenin meydana gelmesinden sorumlu olan kromozomlardaki sayısal varyasyonlardan en yaygın görüleni poliploididir [41].

*Kalanchoe*'de poliploidizasyon çalışmaları için yaprak segmentlerinden bitki rejenerasyonunun etkili bir metot olduğunu belirten Aida ve Shibata [1], *K. blossfeldiana*

cv. "Tetra Vulcan" çeşidinde yüksek frekansta poliploidi oluşturmak amacıyla yaptıkları çalışmalarda, yaprak segmentlerinden elde ettikleri rejenerantların yaklaşık % 80'ninde ploidi seviyelerinde artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Araştırmada rejenerantların % 20.7'sinin (24 adet) 4x, % 75.0'inin (87 adet) 8x, % 0.9'unun (1 adet) 12x ve % 3.4'ünün (4 adet) ise 16x ploidi seviyesinde olduğu tespit edilmiş, bunlardan 4x ve 8x ploidi seviyesine sahip rejenerantların normal bir şekilde gelişerek ana bitkiye benzer oldukları, ancak 12x ve 16x ploidi seviyesindeki bitkilerde ise gelişmenin ciddi bir şekilde geciktiği gözlemlenmiştir. Araştırmacılar yaprak genişliği ve bitki boyu bakımından yapılan değerlendirmelerde çarpıcı sonuçlar elde ettiklerini belirtmiş, 4x ve 8x ploidi seviyesine sahip bitkilerin ana bitkilere benzer olduğunu, 12x ve 16x ploidi seviyesindeki bitkilerde bu değerlerin azaldığı, 8x ve daha yüksek ploidi seviyesine sahip bitkilerin yapraklarının ploidi seviyesi 4x olan bitkilere göre daha ince olduğu ve bu özelliğin ploidi seviyesi yükseldikçe artış gösterdiğini vurgulamışlardır.

*Kalanchoe blossfeldiana* türünde yapılan ıslah amaçlı çalışmalarda melezlemeler sonucu elde edilen hibrit embriyoların kurtarılması ve poliploid bitki elde etmek amacıyla doku kültüründen yararlanıldığı görülmektedir. Tür içi ve/veya türler arası melezlemelerde melez kombinasyonların elde edildiği, türler arası melezlemelerde daha ziyade ana donör olarak *K. blossfeldiana* kullanıldığında F1 hibritlerin elde edildiği belirtilmiştir. Poliploidi çalışmalarında ise rejenerantların yaklaşık %80'inin ploidi seviyesinde artış meydana geldiği, bunların % 95.7'sinin 4x ve 8x ploidi seviyesine sahip olduğu bilgisine ulaşılmıştır. 12x ve 16x ploidi seviyesine sahip bitkilerin yaprak genişliği ve bitki boyunun, ana bitkiden daha küçük ve ince olduğu sonucu dikkat çekici bulunmuştur.

Türkiye'de genelde süs bitkilerinde olduğu gibi kalanzo bitkisinde de ıslah çalışmaları yeni yeni ivme kazanmaktadır. Kalanzo türünde türler arası melezleme yapılarak hibrit bireylerin embriyo kültürü yöntemi kullanılmak suretiyle yaşatılması ve varyasyonlar elde edilmesi konusunda çalışmalar Çukurova Üniversitesi ve BATEM tarafından yürütülen ortak projeler ve tez çalışmaları ile başlatılmıştır [21]. Önümüzdeki yıllarda bu bitki türünde doku kültürü tekniklerinden de faydalanılarak ıslah edilmiş yerli çeşitlerin üreticinin kullanımına sunulacağı öngörülmektedir.

## SONUÇ

Bu derlemede, *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. türünde yapılan doku kültürü çalışmaları mikroçoğaltım, somatik embriyogenezis, çiçeklenme ve ıslah çalışmaları şeklinde gruplandırılarak özetlenmiştir. Genellikle farklı eksplant tipleri, büyümeyi düzenleyiciler ile kültür koşullarının etkisinin araştırıldığı mikroçoğaltım çalışmalarında, sürgün proliferasyonu için BA, NAA ve TDZ'in kullanıldığı, ekspant başına 5-25 adet arasında sürgün elde edildiği, bu sürgünlerin % 95-100 oranında köklendirildiği ve aynı oranda bitkiciklerin dış koşullara başarıyla aktarıldığı görülmüştür. *In vitro* çoğaltmada en uygun kültür koşulları olarak ise 25-26 °C sıcaklık, 14-16 saat ışıklandırma süresi, 40-50 µmol/m<sup>2</sup>/s ışık yoğunluğu ve % 75-80 hava nispi nemi olarak gösterilmiştir. Bitkide çiçeklenmenin kısa günde genellikle 20 °C sıcaklıkta ve 40 µmol /m<sup>2</sup>/s ışık şiddetinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Klonal çoğaltım ve sentetik tohum üretimi amacıyla yapılan somatik embriyogenezis çalışmalarında 185 embriyoid/gram redüksiyon sıklığına

ulaşmış, elde edilen suni tohumlar ise *in vitro*'da %96'nın üzerinde çimlenme oranına ulaşıldığı bildirilmiştir. Türler arası melezlemelerde daha ziyade ana donör olarak *K. blossfeldiana* kullanıldığında F1 hibritlerin elde edildiği, poliploidi çalışmalarında ise yüksek ploidi seviyelerine ulaşmakla birlikte bu bitkilerin boyunun ve yaprak genişliğinin ilginç bir biçimde ana bitkiden daha küçük ve ince olduğu bilgisine ulaşılmıştır.

Tüm bu çalışmalar *Kalanchoe blossfeldiana*'nın doku kültürüne cevap veren bir tür olduğunu göstermiştir. Türün *in vitro* çoğaltımında büyük ilerlemeler kaydedilmiş olması, Avrupa ile Amerika'da en çok ticareti yapılan saksı bitkilerinden biri olma özelliği taşıdığı halde ülkemiz ihtiyacının yaklaşık yarısının yurtdışından ithal edilmesi, diğer kısmının da patentli yabancı çeşitlerin yurt içinde üretilmesi şeklinde gerçekleştirilen bu tür ile ilgili ıslah ve çoğaltım çalışmalarına hız verilmesi, yeni yerli çeşitlerin hızla geliştirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Aida, R. ve Shibata, M. (2002). High frequency of polyploidization in regenerated plants of *Kalanchoe blossfeldiana* cultivar 'Tetra Vulcan'. *Plant Biotechnology*, 19(5): 329-334.
- [2] Amaki, S.W., Higuchi, H. (1999). Effects of cultivars and ambient environments on *in vitro* flowering in *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 68:1170-1177.
- [3] Babaoğlu, M., Yorgancılar, M., Akbudak, M.A. (2001). Doku Kültürü Temel Laboratuvar Teknikleri. M. Babaoğlu, E. Gürel, S. Özcan (Ed.), *Bitki Biyoteknolojisi Doku Kültürü Uygulamaları* içinde (s.1-35). Konya: S.Ü. Vakfı Yayınları.
- [4] Castelblanque, L., García-Sogo, B., Pineda, B., Moreno, V. (2010). Efficient plant regeneration from protoplasts of *Kalanchoe blossfeldiana* via organogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, January, p.100-107.
- [5] Chao, C., Guilan, W., Limin, T., and Ruisheng, C. (2004). Embryoid Induction and Regeneration in Callus of *Kalanchoe blossfeldiana*. *Acta Horticulturae Sinica*, 2. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-YYXB200402029.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-YYXB200402029.htm).
- [6] Chen, M. et al. (2007). Study on *in vitro* Rapid Propagation of *Kalanchoe blossfeldiana*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 32. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-AHNY200732072.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-AHNY200732072.htm).
- [7] Cheng, J. (2010). Research on *in vitro* Rapid Propagation of Inflorescence of Double-type *Kalanchoe blossfeldiana*. *Northern Horticulture*, 2. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-BFY201002069.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-BFY201002069.htm).
- [8] Cui, G., et al. (2003). Study on Tissue Culture of *Kalanchoe blossfeldiana*. *Journal of Henan Vocational Technical Teachers College*, 1. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-HZXB200301015.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-HZXB200301015.htm).
- [9] Cui, G., Wei, B. (2003). Studies on Propagation and Rooting Rate of *Kalanchoe blossfeldiana* *in vitro*. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 4. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-TCYA200304004.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-TCYA200304004.htm).

- [10] Deng, Q., Zhang, Y., Wang, C. (2005). Study on in Vitro Propagation of *Kalanchoe blossfeldiana*. Journal of Sichuan Agricultural University, 2. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-SCND200502013.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-SCND200502013.htm).
- [11] Dickens, C.W.S., Van Staden, J. 1988. The In Vitro Flowering of *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz: I. Role of Culture Conditions and Nutrients. Journal of Experimental Botany, 39(4):461-71.
- [12] Dickens, C.W.S., Van Staden, J. (1990). The In Vitro Flowering of *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz. II. The Effects of Growth Regulators and Gallic Acid. Plant and Cell Physiology, 31(6):757-762.
- [13] Everett, T.H. (1981). *Kalanchoe*. The New York Botanical Garden illustrated encyclopedia of horticulture, vol. 6. Garland, New York, pp 1884-1889.
- [14] Hatiboğlu, R. (1999). Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi. Syf: 55.
- [15] Hekimoğlu, B., Altındeğer, M. (2012). Süs Bitkileri Sektör Raporu. Samsun Valiliği Gıda, Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü. Erişim adresi (01.05.2018): [http://samsuntarim.gov.tr/yayinlar/tarimsal\\_strateji/tarimsal\\_strateji\\_pdf/Süs\\_Bitkileri\\_Endüstrisi\\_Sektör\\_Raporu](http://samsuntarim.gov.tr/yayinlar/tarimsal_strateji/tarimsal_strateji_pdf/Süs_Bitkileri_Endüstrisi_Sektör_Raporu).
- [16] Herwig, R. (1984). The Hamlyn encyclopedia of house plants: *kalanchoe*. Hamlyn, London, pp 188-189.
- [17] Huang, H., Baoyin, L., Ping, L. (2004). Several Factors Influencing in Vitro Culture and Plantlet Regeneration of *Kalanchoe blossfeldiana*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZNTB200402004.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZNTB200402004.htm).
- [18] Izumikawa, Y., Nakamura, I., Mii, M. (2007). Interspecific Hybridization between *Kalanchoe blossfeldiana* and Several Wild *Kalanchoe* Species with Ornamental Value. Acta horticulturae 743(743):59-65. DOI: 10.17660/ActaHortic.2007.743.7.
- [19] Jain, S.M., Ochatt, S.J. (2010). Springer Protocols, Humana Press.
- [20] Kaviani, B., Hashemabadi, D., Kordi, M. (2014). The Effect of Different Concentrations of Plant Growth Regulators on Micropropagation of *Kalanchoe blossfeldiana* cv. W hite. Journal of Ornamental Plants, 4(2):101-106.
- [21] Kahrman, M.U., Kösa, S., Boyacı, H.F., Karagüzel, Ö., Kaya, A.S., Gümrükçü, E., Aktaş, A., Kolak, B., Yalçın Mendi, Y. (2018). Kesme Çiçek ve İç Mekan Kalanço (*Kalanchoe blossfeldiana*) Çeşitlerinin Geliştirilmesi. TAGEM 2108 yılı Proje Değerlendirme Toplantıları, 5-10 Şubat 2018, Antalya. <https://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/pdgt/bbad/BBAD%202018%20YILI%20PDT%20K%C4%B0TAP%C3%87IKLAR.pdf>
- [22] Kelkit, A., Bulut, Y. (1998). Seralarda Süs Bitkileri Yetiştiriciliğinde Jeotermal Enerjinin Önemi. Çevre Koruma ve Araştırma Vakfı, 8(29), 21-24.
- [23] Khan, S., Naz, S., Ali, K., Zaidi, S. (2006). Direct organogenesis of *Kalanchoe tomentosa* (Crassulaceae) from shoot tip. *Pakistan Journal of Botany*, 38(4), 977-981.
- [24] Kordi, M., Kaviani, B., Hashemabadi, D. (2013). In vitro propagation of *Kalanchoe blossfeldiana* using BA and NAA. European Journal of Experimental Biology, 3(1):285-288.
- [25] Larkin, P.J., Scowcroft, W. (1981). Somaclonal variation - a novel source of variability from cell culture for plant improvement. Theor. Appl. Genet., 60: 197-214.
- [26] Lin, X., Lai, Z., Huang, S., Wu, J., Huang, Y., Huang, X., Ke, C. (2005). Study on in vitro culture and micropropagation from the stem sections and the leaves of *Kalanchoe blossfeldiana* with red flower. Sugar cane, 2. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-GZZZ200502001.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-GZZZ200502001.htm).
- [27] Linjian, F., Dongpo, J., Xinshuan, Z. (2006). Research of Different Culture Conditions on Plantlet Regeneration from Leaves of *Kalanchoe blossfeldiana*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 5. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZNTB200605021.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZNTB200605021.htm).
- [28] Liu, H. et al. (2010). High Propagation and Tissue Culture System and Outside-tube Rooting Technology of *Kalanchoe blossfeldiana*. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 12. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-AHNY201012018.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-AHNY201012018.htm).
- [29] Love, J.W. (1980). *Kalanchoe*. In: Larson RA (ed) Introduction to floriculture. Academic Press, New York, pp 409-434.
- [30] Luo Y. et al. (2009). Study on Rapid Propagation of *Kalanchoe blossfeldiana* and Flowering of Its Plantlet. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 6. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-AHNY200906023.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-AHNY200906023.htm).
- [31] Martin, T. (1986). Flowers and Foliage Accent The Sturdy *Kalanchoes*. The New York Times, September, 28.
- [32] Morton, J.F. (1981). Atlas of medicinal plants of middle America. Charles C Thomas, Springfield Illinois, USA, pp 258-260.
- [33] Nieves, M.C., Evalour, T. Aspuria, E.T., Bernardo, E., Tayangona, M.A.D. (2016). Growth responses of in vitro-derived nodal sections of *Kalanchoe blossfeldiana* Poellnitz as influenced by benzylaminopurine, thidiazuron and paclobutrazol. Asia life sciences, 25(1):207-220.
- [34] Oral, N. (1999). İç Mekan Süs Bitkileri. Ezgi Kitabevi, 374 s.
- [35] Peng, C., Wang, L., Li, K., Xia, L., Lu, F. (2008). Research on Tissue Culture and Plantlet Reproduction From Leafstalk of *Kalanchoe blossfeldiana* with Orange Flower. Tropical Agricultural Science & Technology, 01. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-YNRJ200801012.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-YNRJ200801012.htm).
- [36] Penghui, D., Xingze, L. (2010). Study on the Callus Induction and Plantlet Regeneration from the Leaves of *Kalanchoe blossfeldiana*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 1. Erişim adresi: [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZNTB201001039.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZNTB201001039.htm). 23.04.2018.
- [37] Sanikhani, M., Frello, S., Serek, M. (2006). TDZ induces shoot regeneration in various *Kalanchoe* *blossfeldiana* Poelln. cultivars in the absence of auxin. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 85: 75-82.
- [38] Schwabe, W.W. (1969). *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz. In: Evans LT (ed) The induction of flowering, Macmillan, Melbourne, Australia, pp 227-246.
- [39] Schwabe W.W. (1985). *Kalanchoe blossfeldiana*. In: Halevy AH (ed) CRC Handbook of flowering, vol III. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp 217-235.
- [40] Squires, W.M. & Langton, F.A. (1990). Potential and limitations of *Narcissus* micropropagation: An experimental evaluation. Acta Horticulturae, 266: 67-76.
- [41] Skirvin, R.M., (1978). Natural and induced variation in tissue culture. Euphytica, 27: 241- 266.
- [42] Sri Rama Murthy, K., Kondamudi, R., Chalapathi Rao, P.V., Pullaiah, T. (2012). In vitro flowering - A review. Journal of Agricultural Technology, 8(5): 1517-1536.

[43] Tang, J. (2007). Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Kalanchoe blossfeldiana* Leaves. Northern Horticulture, 10. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-BFY200710093.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-BFY200710093.htm).

[44] Uludağ, A., Ertürk, Y. E. (2012). İthal Ev Hayvanları ve Süs Bitkilerinin Çevreye Etkileri. Tarih, Kültür ve Sanat Araştırmaları Dergisi, Tüketim Toplumu ve Çevre Özel Sayısı, I (4), ISSN: 2147-06261, DOI: 10. 7596/taksad.v1i4, Karabük Üniversitesi.

[45] URL (2018 a). <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=kalanchoe>. Erişim Tarihi: 24.02.2018.

[46] URL (2018 b). <https://aggie-horticulture.tamu.edu/floriculture/hort429/Lecture/kalanchoe.pdf>. Erişim Tarihi: 11.03.2016.

[47] URL (2018 c). Royal FloraHolland Annual Book 2015-2017. Erişim adresi (31.08.2018): <https://www.royalfloraholland.com/en/about-floraholland/who-we-are-what-we-do/facts-and-figures/annual-reports>.

[48] URL (2018 d). <http://www.cncgumruk.com/sus-bitkileri-aralik-2017-kiymeti-28-11-2017>. Erişim Tarihi:11.03.2018.

[49] Van Voorst, A., Arends, J.C. (1982). The origin and chromosome number of cultivars of *Kalanchoe blossfeldiana*. Euphytica 31:573–584.

[50] Varga, A, Thoma, L.H, Bruinsma, J. (1988). Effects of Auxins and cytokinins on epigenetic instability of callus-propagated *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 15:223-231.

[51] Wang, G., Chen, C., Tian, L., Cui, R. (2003). Studies on Tissue Culture and Artificial Seeds of *Kalanchoe blossfeldiana*. Journal of Beijing Agricultural College, 04. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-BNXB200304016.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-BNXB200304016.htm).

[52] Xinzhen, S., Qingwei, L., Mingqing, M. (2006). Research on the Technology of *Kalanchoe blossfeldiana* with White Flower Tissue Culture and Rapid Reproduction. Chinese Agricultural Science Bulletin, 3. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZNTB200603010.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZNTB200603010.htm).

[53] Yuliang, C., Xiaogang, Z., Yanping, Z., Zhengying, Z. (2004). Isolation Leaf Disks Culture and High Efficient Plantlet Regeneration of *Kalanchoe Blossfeldiana*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 5. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZNTB200405008.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZNTB200405008.htm).

[54] Zhang, R., Guo, X. (2005). Study on Regeneration of Vitro Leaf of *Kalanchoe blossfeldiana*. Shanxi Forestry Science and Technology, 01. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-SXLK200501003.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-SXLK200501003.htm).



## Farklı Biyolojik Örnekler Geçirimli Elektron Mikroskop için Nasıl Hazırlanır?

İlknur Dağ<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı, Uygulama ve Araştırma Merkezi (ARUM), Eskişehir/Türkiye

\*Sorumlu Yazar:  
E-posta: idag280@gmail.com

Geliş Tarihi : 01 Ekim 2018  
Kabul Tarihi: 23 Ekim 2018

### Özet

Geçirimli Elektron Mikroskopları (TEM) hücre biyolojisi alanında ve biyomedikal araştırmalarda çok önemli veriler sunan araçlardır. Yeni teknolojilerin de geliştirilmesiyle örneğin daha iyi görüntülenmesi sağlanmakta; böylece hem biyolojik örneğe ait bilgilerimiz artmakta hem de önemli moleküllerin yerleşimi hakkında detaylı verilere ulaşmamız mümkün olabilmektedir. Günümüze kadar pek çok mikroskop tipi geliştirilmesine rağmen, elektron mikroskoplarının en büyük avantajı çözünürlüklerinin çok yüksek olması ve hücre mimarisi hakkında çok detaylı bilgiler sunabilmesidir. Örneğin canlı haline en yakın biçimde görüntülenebilmesi için yapısal componentlerinin iyi korunmuş olması gerekir ve amaca uygun hazırlık protokülünün belirlenmesi ve uygulanması esastır. Bu derlemede biyolojik örneklerin TEM ile görüntülenebilmesi için en sık kullanılan teknikler hakkında genel bir bakış açısı sunulması hedeflenmiştir. Geleneksel metodların yanı sıra en yeni kullanılan kriyo tekniklere de değinilmiş ve her tekniğin avantaj, dezavantaj ve sunduğu bilgiler detaylandırılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** geçirimli elektron mikroskopu, kriyo TEM

## How to Prepare Different Biological Samples for Transmission Electron Microscope?

### Abstract

Transmission electron microscopes are devices that introduce very important data in the field of cell biology and biomedical researches. With the developments new technologies, samples are visualized better. Thus, both our knowledges about biological sample increase and we can reach the detailed information about the location of important molecules. Although many types of microscopy developed to date, the most advantage of electron microscopes are the ability to give high resolution and the introduce very detailed information about cell architecture. To visualize sample in a state as close to a living state as possible, their structural components should be maintained and the determination and application of available preparation protocols is essential. This review aims to introduce an general point of view about the mostly used techniques about TEM imaging of biological samples. Both conventional and latest cryo techniques are defined, the advantages and disadvantages of each technique and introduced knowledges are detailed.

**Keywords:** transmission electron microscope, cryo TEM

## GİRİŞ

Geçirimli Elektron Mikroskoplar (TEM), hücrelerden makromoleküllere kadar çok çeşitli biyolojik örneklerin görüntülenmesi ve yapısal bilgi edinilmesini sağlayan araçlardır [1]. Bu sayede hücreler, dokular ya da virüsler gibi çok küçük organizmalar bile ultrayapısal düzeyde görüntülenebilmektedir [2]. Elde edilen verilerle,

- ▶ Hücre ve dokuların ince yapı araştırmaları,
- ▶ Bu örneklerdeki yapı ve fonksiyon ilişkilerinin değerlendirilmesi
- ▶ Hücre ve organellerin iki ve üç boyutlu yapılarının yüksek çözünürlüklü olarak elde edilmesi,
- ▶ Çeşitli doğal ve sentetik maddelerin, polimerlerin veya nanopartiküllerin morfolojik karakterizasyonu ile bunların hücre ile etkileşiminin görüntülenmesi mümkün olabilmektedir.

TEM ile ultrayapısal incelemelerin yanı sıra moleküler lokalizasyon, immünlokalizasyon, elektron tomografi ya da korelatif teknikler uygulanabilmekte ve bunların her biri için farklı ilave teknikler kullanılmaktadır [3]. Elde edilen bilginin çözünürlüğü örneğin özelliklerine, kullanılan hazırlık metoduna, elektron mikroskopunun teknik özelliklerine ve görüntüleme parametrelerine göre

değişiklikler göstermektedir. Günümüzde geliştirilen yeni teknolojiler sayesinde iki boyutlu elektron mikroskopu verileri işlenerek örneğin üç boyutlu yapısı hakkında bilgiler edinilebilmekte ve tek partikül analizi ya da helikal yapı hakkında da detaylı incelemeler yapılabilmektedir [1].

### Geçirimli Elektron Mikroskopu

Geçirimli elektron mikroskopta bir elektron tabancası ile oluşturulan elektronlar, mikroskop kolonunun yüksek vakumunda çok yüksek bir enerji ile hızlandırılırlar. Yüksek hızlı elektronlar manyetik alanlarla saptırıldığından dolayı, sistemde bulunan elektromanyetik mercekle elektronları yoğunlaştırır ve örneğin üzerine odaklarlar. Örnekten geçen elektronlar tespit edilir ve büyütülerek görüntülenen resimler kaydedilir [4]. Ancak yüksek vakum örnekler zarar verebilmekte ve biyolojik örnekler genellikle hafif elementlerden oluştuğundan elektronların oluşturacağı hasara karşı çok dayanıklı değildirler [5].

Biyolojik bir örneğin TEM ile incelenmek üzere hazır hale getirilmesi oldukça komplike ve kritik aşamalardan oluşan uzun bir süreç gerektirmektedir. Örnekte incelenmek istenen bölgeye ve özelliklere göre bir hazırlık işlemi yapılmalıdır. Kullanılan teknikler geniş bir yelpazeyi kapsamaktadır ve temel takip aşamaları genellikle ortaktır

ancak, belirli bir örnek için izlenecek yol ya da kullanılacak kimyasallar değişiklik gösterebilmektedir. Örneğin karaciğer ya da böbrek doku örneklerinin hazırlanma prosedürleri, virüs ya da polen örneklerine göre bazı farklılıklara sahip olmaktadır. Burada doku ya da hücrenin tipi, çalışılacak örneğin boyutu, örneğin elde ediliş şekli ve incelemenin hangi amaçla yapılacağı büyük bir önem taşımaktadır. Tüm bu sebeplerden dolayı, çalışma öncesinde örnekten elde etmek istediğimiz bilgiye göre kullanılacak metodlar arasından en iyi seçenek ya da seçeneklerin belirlenmesi esastır.

### Oda Sıcaklığı Koşullarında Örnek Hazırlanması

Biyolojik örneklerin çoğu yoğun bir örnek hazırlık aşaması gerektirmektedir. Bu, oldukça zaman alıcı bir süreçtir ve özellikle ultramikrotomda kesit alırken ideal incelikte örnek eldesi her zaman mümkün olamamakta ya da örneğin hazırlanması sırasında istenmeyen yapı değişiklikleri olabilmektedir. TEM ile inceleme sırasında sadece küçük bir alanın çalışılması tüm örnek hakkında net bilgi vermeyebilir. Bu sebeple çok fazla alanın taranması ve verilerin doğrulanması gerekmektedir.

İyi korunmuş bir örnek hazırlığı için en temel iki faktör örneğin uygun biçimde alınması ve uygun bir tespit solüsyonu ile fikse edilmesidir.

### Örneğin Alınması Tespiti Ve Rutin Takip İşlemleri

TEM ile çeşitli biyolojik örneklerin incelenmesi mümkündür. Cerrahi işlem ya da otopsi sırasında alınan örneklerden patolojik incelemeler yapılabildiği gibi, kültür edilmiş hücreler, bakteriler, virüsler, mantar ve bitkiler ya da diğer biyolojik organik materyaller TEM ile incelenebilmektedir. Örneğin elde edilmesi etik kuralları çerçevesinde yapılmalıdır. Mikroorganizmalar gibi etik düzenlemeler istemeyen örneklerde de prosedür yürütecek personel için olası sağlık riskleri gözönünde bulundurulmalıdır [2]. Çalışılacak örneğin boyutu, oryantasyonu ve örnekleme zamanı gibi faktörler de mutlaka dikkate alınmalıdır. Örneğin TEM incelemesi için doku parçalarının genellikle 1 mm<sup>3</sup>'den küçük olması istenir çünkü kullanılacak fiksatifin doku içine yeterince nüfuz etmesi gerekir [6]. Doku boyutunun büyük olması durumunda fiksatif örneği farklı derecelerde tespit edeceğinden örneğin yüzeyi iç kısımlarına göre daha çok fikse olur. Bu durumda dış kısım aşırı fiksasyondan dolayı zarar görürken, iç kısımlar zayıf penetrasyondan dolayı otoliz riski altındadır. Otoliz olayı hücrel ultrayapıyı yok ettiğinden dolayı yapısal detaylar korunamaz ve görüntü alınamaz. Bu sebeple eğer örnek parçaları büyükse uygun şekilde küçültülmelidir [2,7].

Örneğin alınması ya da küçültülmesi sırasında dikkat edilmesi gereken en önemli hususlardan biri örneğin hangi kısımdan veri alınmak isteniyorsa o bölgenin doğru şekilde küçültülmesi ve prosedür boyunca korunmasıdır [2]. Örneğin periferik sinirin proksimal bölgesi çalışılacaksa dokunun küçültülmesi buna uygun olarak yapılmalıdır. Örnek alınması sırasında çok hızlı davranılmalı ve örnek hemen küçültülerek uygun fiksatif içine alınmalıdır. Beyin ya da spinal kord gibi bazı dokularda perfüzyon fiksasyonu önerilmekte ve henüz örnek alınmadan fiksasyon sağlanmaktadır.

Biyolojik örneklerin hazırlanmasında en kritik adım fiksasyon yani örneğin tespit aşamasıdır. Tespit işlemindeki amaç örneğin hücrel karakteristiklerini, komponentlerini

ve bunların dağılımını, şeklini ya da boyutunu koruyarak incelenebilmesini sağlamaktır. Fiksasyon işlemi ayrıca otolizi ve bakteriler tarafından bozulmayı önlerken, örnekte oluşabilecek hacim ve şekil bozukluklarını da baskılar. Dokuyu sertleştirdiğinden dolayı da takip eden işlemler sırasında oluşabilecek hasarları minimize eder. Diğer yandan örnekleri TEM ile inceleme sırasında elektron akımına karşı daha dayanıklı bir hale getirir [8].

Tespit işlemi iki şekilde yapılmaktadır:

1. Kimyasal Fiksasyon
2. Kriyo Fiksasyon

Kimyasal fiksasyon işlemi 1950'lerden beri kullanılmakta olup, belirli oranlardaki kimyasal bileşenlerin tek başına ya da kombine olarak örnek ile muamale edilmesine dayanır [7,9]. Bu işlem fiksatif ve dokunun kimyasal grupları arasında gerçekleşen reaksiyon sayesinde dokudaki harabiyeti önlemeye yarayan bir prosedir. Kimyasal fiksasyonun bazı sınırlamaları da bulunmaktadır: 1. Bazı doku komponentlerinin değişimi ya da yok olmasını engelleyemez; 2. Bu yöntemde doku komponentlerinin enzimatik aktivite ya da antijenite gibi bazı biyolojik karakteristikleri sıklıkla değişime uğramaktadır. 3. Doku komponentlerinin farklı derecelerde tespit olması, hücre ya da dokunun üç boyutlu yapılanmasında değişimlere yol açabilir.

Fiksatifler genel olarak dokuya iki şekilde verilmektedir. İmmersiyon fiksasyon olarak tanımlanan ilk metotta doku küçük parçalara ayrılarak fiksatif içine alınır ve doku tespit olana kadar beklenir. Diğer metotta ise fiksatif kan damarı içine verilerek dolaştırılır. Perfüzyon fiksasyon denilen bu yöntem, küçük laboratuvar hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda ya da biyopsi sonrası hızlı lizise uğrayabilen dokularda tercih edilmektedir [8].

Uygun fiksatif seçiminde çalışmanın amacı, çalışılacak materyal, örnek boyutu ya da kullanım kolaylığı gibi faktörler gözönünde bulundurulmalıdır. Ayrıca tampon örneğin pH'sı ve ozmolaritesini korumak için uygun bir tampon içinde hazırlanmalıdır.

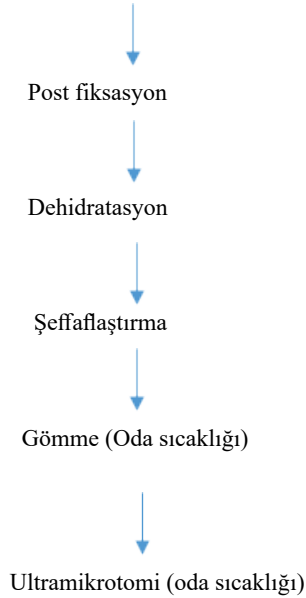
En yaygın olarak kullanılan fiksatiflerden biri 0.1 M fosfat tamponunda hazırlanan %2.5'lük glutaraldehit solüsyonudur. Diğer yandan fiksasyon prosesi süresince hücreler öldüğünden, ortamdaki lizozom içeriği artar ve dokudaki pH asidik bir hale gelir. Bu da yapıdaki makromoleküllerin yıkımını hızlandırır. Bu sebeple ortamdaki optimal pH'nın korunması çok önemlidir. Çoğu hayvan hücresinin optimum pH'sı 7.4 olduğundan, fiksatif pH'sının 7.2 ya da 7.4 olması önerilmektedir [2].

Eğer farklı fiksatifler kullanılarak ardışık bir tespit işlemi yapılacaksa örnekler her bir fiksasyon işlemi sonrasında fiksatif hazırlanmasında kullanılan tampon solüsyonla yıkanmalıdır. Böylece fiksatifler arasındaki kimyasal reaksiyonlar önlenmiş olur. Temel uygulamada aldehit kullanılarak yapılan bir primer fiksasyon sonrası osmiyum kullanılarak sekonder bir fiksasyon yapılır. Yaygın olarak kullanılan tampon solüsyonlar ise fosfat ve kakodilat tamponlarıdır. Ancak çalışmanın amacına uygun olarak farklı tamponlarda kullanılabilir.

Farklı fiksatifler dokulara farklı hızlarda penetre olmaktadır. Genelde yüksek sıcaklıklarda penetrasyon oranı daha hızlıdır. Fiksasyon sıcaklığı 0°C ve 4 °C olacak şekilde düşük tutularak oda sıcaklığına göre daha uzun bir süre bekletilir. Fiksasyon süresi de örnek çeşidine göre değişmektedir. Kullanılacak fiksatif miktarı doku hacminin 20-50 katı kadar olmalı ve fiksasyon süresi dikkatle belirlenmelidir.

Primer fiksasyon için genellikle %2'lik glutaraldehit ya da %2'lik paraformaldehit kullanırken, sekonder fiksasyon için %1- %2'lik osmiyum tetroksit kullanılmaktadır. Osmiyum genel olarak hücre membranının ana elemanları olan yağları tespit eder. Elektron akımı altında çok güzel kontrast sağladığından postfiksasyon amacıyla kullanılmaktadır [10]. Ancak son derece toksiktir ve solunum yolu ya da deri içine absorbe olabildiğinden çok dikkatli çalışılmalıdır. Formaldehit protein, nükleik asitler ya da lipitlerle çapraz bağlanan bir aldehit grubudur. Dokuya daha derin ve daha hızlı penetre olur ancak nispeten zayıf bir fiksasyon gücü vardır ve oluşturduğu kontrast yetersizdir. Bu yüzden osmiyum ile postfikse edilmelidir. Glutaraldehit ise bir aldehit olup lipid ve polisakkaritleri nispeten zayıf biçimde fikse eder. Hücre ve dokulardaki mikroyapının korunması için mükemmel bir fiksatiftir ancak aynı paraformaldehit gibi yeterli kontrast sağlayamaz ve dokuyu boyayamaz bu yüzden osmiyum tetroksit ile postfiksasyon gerektirir [2]. Biyolojik örnekler fiksasyon aşamasından sonra çeşitli proselerden geçirilmektedir. Kimyasal fiksasyon işleminde en yaygın olarak izlenen yol şu basamakları içermektedir:

Kimyasal fiksasyon (genelde +4 °C)



Primer fiksasyon sonrası yapılan sekonder fiksasyon işlemi ile tespit kalitesi artırılmaktadır. Dehidratasyon işleminde örnek içindeki suyun elimine edilmesi gerekir ve bu işleminde genel olarak alkol ya da aseton gibi organik bir çözücü, giderek artan konsantrasyon serileri şeklinde ve belirli sürelerde örnek ile muamele edilir. Sonrasında ise örnek suyla karışmayan epoksi tipinde bir resin içine gömülür. Sıcaklıkla polimerize olan örnekler blok haline getirilir ve elde edilen bloklar ultramikrotom ile kesit alınmaya uygun bir hale getirilir. Önce trim cihazı ile dokunun ucunu açmak için bir traşlama yapılır, daha sonra ise örneklerden 700 nm kalınlığında yarı ince kesitler alınır. Toluidin mavisi gibi bir boyayla boyanan alan ışık mikroskopunda tümüyle görüntülenebilmekte ve TEM için seçilecek alan buradan belirlenebilmektedir. Uygun bölge belirlendikten sonra ilgili bloktan tekrar bir trim işlemi yapılır ve 60 nm kalınlığındaki tam ince kesitler çalışmaya uygun olarak seçilen gridler üzerine alınır. Biyolojik örneklerin kontrastı düşük olduğundan gridler ağır metallerle (uranil asetat, kurşun sitrat) boyanarak kontrast artırılır ve kuruyan

gridler TEM ile incelenmeye hazır hale getirilir.

Pek çok biyolojik örneğin bu metod kullanılarak tespit edilmesi ve işlenebilmesi, bu prosenin özel bir ekipman gerektirmemesi ve laboratuvarında kolaylıkla uygulanabilmesi, bloklar içine gömülen örneklerin yıllarca bu şekilde saklı tutulabilmesi bu yöntemin avantajları olarak sayılabilir. Diğer yandan bu yöntemin bazı yapısal artefaktların oluşabilmesi ya da ozmotik değişimler sebebiyle hücre hacim oranlarında çeşitli modifikasyonlar görülebilmesi gibi dezavantajları da olabilmektedir.

Kimyasal fiksasyon yöntemiyle hazırlanan bir biyolojik örnekte membran ve organel yapıları oldukça iyi tanımlanmış ve kontrastlı biçimde elde edilebilmektedir. Homojen bir fiksasyon işlemi yapıldığından örneğin geniş bir bölümünün incelenebilmesi mümkün olmaktadır. Bu proses, incelenen yapıya göre çeşitli modifikasyonların da yapılması ile ultrayapısal incelemelere, nanoaltın ya da kuantum dot teknikleri ile moleküler lokalizasyonların belirlenebilmesine, lektinler ya da kolloidal altın kullanılarak şeker residuellerinin tespit ve lokalizasyonlarının incelenmesine olanak tanımaktadır.

### Kriyo Elektron Mikroskopisi

Geleneksel TEM incelemelerinde örneklerin maruz kaldığı çeşitli hasarlar ve olası zorluklara bir alternatif olarak 1974 yılında Robert M. Glaser ve arkadaşları sıvı nitrojen sıcaklıklarında dondurulan örneklerde, elektron hasarının dramatik biçimde azaldığını göstermişlerdir [11]. 1984'de Dubochet ve arkadaşları ise ilk kez bir virüs partikülünü sıvı nitrojen dondurma tekniği ile camsı (vitröz) buz içine hapsedmişlerdir [12]. Bu sıcaklık derecesindeki vitröz buzun doymuş buhar basıncı, TEM içindeki vakum basıncından çok daha düşük olduğundan elektron kaynaklı hasarlar da çok daha az olmaktadır.

Kriyo elektron mikroskoplar örneklerin sıvı nitrojen sıcaklıklarında incelenebildiği cihazlardır. Biyoloji alanında kriyo-TEM uygulamaları çok geniş bir spektrumda kapsamakta ve giderek daha da popülerleşmektedir. Tam doku kesitlerinden, tek bir bakteri, virüs ya da protein molekülüne kadar çok çeşitli örnekler bu yöntemle incelenebilmektedir. Kriyo elektron tomografi, tek partikül analizi ya da elektron kristalografisi gibi alt disiplin alanlarında da biyolojik yapıların detaylı biçimde incelenebilmesi mümkün olmaktadır. Örneğin biyolojik bir numunenin farklı açılardan elde edilen büyütülmüş görüntüleri bir bilgisayar yardımıyla üç boyutlu hale getirilebilmekte ve örnek hakkında çok daha detaylı bilgilere sahip olunmaktadır. Bu metodlar tek başına kullanılabildiği gibi hibrid metodlar olarak da kullanılabilirlerdir.

### Kriyo Koşullarda Örnek Hazırlanması

Kriyo elektron mikroskopisi temel olarak iki araştırma alanını kapsamaktadır: 1. Örneğin ultrayapısal analizler ya da etiketleme çalışmaları için kriyo-korunmaya alınması, 2. Örneğin düşük sıcaklıklarda incelenebilmesi için bir kriyotabla kullanılarak cihaza alınması [13]. Pek çok örnek tipinde başlangıç fiksasyonu için hızlı soğutma metodu kullanılmaktadır. Proses sonrası ise örnekler uygun sıcaklıkta TEM'de incelenir. Günümüzde kullanılan pekçok kriyo hazırlama yöntemi vardır ancak hangi kriyo prosedürün seçileceği hususunda örneğin boyutları belirleyici bir rol oynamaktadır.



Eğer organ ya da doku parçaları gibi santimetre ya da milimetre boyutlarındaki büyük parçalar incelenecekse, örnek kriyoprotektan kullanılmadan korunamayacak ve buz kristali hasarı oluşacaktır. Bu sebeple örnek ya da doku yüzeyi direk olarak bir soğutucu içine alınır ve 10 µm kalınlığında ince bir tabakada koruma haline alınırlar. Süspansiyon içindeki hücreler gibi daha küçük boyutlu hücreler ise, iletken metal yapraklar arasında örneğin sıkıştırılmasıyla kriyoprotektan kullanılmadan korunabilmektedir. Burada örnekler yaklaşık -190 °C'de sıvı propan içine daldırılır. Buz kristali hasarı olmadan iyi biçimde korumanın kalınlık sınırı yaklaşık 10 µm'dır. Virüs partikülleri gibi küçük miktarlardaki örnekler böyle ince bir sulu film içinde etkili biçimde incelenebilmektedir [13].

Biyolojik örnekteki hücresel mimariyi koruyan en iyi metod günümüzde kriyofiksasyon olarak da bilinen yöntemdir. Bu işlemde örnek, hareket halindeyken çok hızlı biçimde ve kristal oluşturmaksızın dondurularak korumaya alınmış olur. Böylece örnek doğal halinde stabilize edilmiş olur. Yapılan hızlı dondurma işlemi sayesinde kimyasal fiksasyonda meydana gelen kimyasal reaksiyonlar baskılanmış olur. Ancak bu teknik özel ekipman kullanımını gerektirmektedir. Örneğin taşınması sırasında sıvı bir ajan içine daldırma, yüksek basınç kullanımı ya da önceden soğutulmuş metal bir bloğun üzerine alınma gibi farklı sistemler gerçekleştirilir. Burada biyolojik örneğin tipi büyük önem taşımaktadır.

Günümüzde maksimum derinlikte (200 µm) kriyofiksasyona izin veren tek sistem yüksek basınçlı dondurma tekniğidir (High pressure freezings-HPF). Bu sistem 10.000 °C/s'den fazla bir oranda ve 2100 barlık bir basınçta örneğin dondurularak hücresel aktivitesinin durdurulmasını kapsamaktadır. Bu dondurma ve basınç oranında, su molekülleri hareket yeteneklerini kaybederler ve vitroz buz denilen bir hale dönerler [14]. Bu teknikle dondurulan örnekler daha sonra kriyo kesit alma, freeze fracture (dondurma kırma) ya da freeze substitution (dondurup yerine koyma) işlemleri uygulanabilir.

Ancak çoğu durumda örnekler kriyofiksasyon öncesi sükröz ya da gliserol gibi bir kriyoprotektan ile muamele edilmektedir [13]. Bu kriyoprotektanlar %10-30 konsantrasyonda kullanıldıklarında buz kristali oluşumu etkili bir biçimde geciktirilir ve yavaş donma olayı ile çok iyi bir yapısal korunma sağlanmış olur. Daha sonra ise bu örnekler yavaş ya da ılımlı soğutma oranları üreten çeşitli metodlarla dondurulmaktadır.

Kriyokoşullarda yapılan örnek hazırlama şekilleri incelenecek örnek ya da kullanılacak ekipmanlara göre büyük farklılıklar gösterebilmektedir. Örneğin kimyasal fiksasyon sonrası sıcaklığın giderek düşürüldüğü ve sonrasında kriyo koşullarda gömmenin yapıldığı yöntemde moleküler lokalizasyonlar belirlenebilmektedir. Teknikte hassas bir aldehit fiksasyonu sonrası dehidrasyon yapılır ve sıcaklık +4°C'den -35°C'ye düşürülür. Böylece örnekteki komponentlerin kaybı azalır ve protein denatürasyonu minimize olur. Örnek -35 °C'de düşük viskoziteli ve suyla karışmayan bir akrilik resine gömülür [15]. Resinlerin çoğu hidrofiliktir ve polimerize olduklarında elektron akım stabiliteyi oldukça iyidir ve ultraviyole ışığı yardımıyla polimerize edilerek dokudaki antijenite korunmuş olur. Yöntem lokalize proteinleri belirlemek için kolay ve hızlıdır. Akrilik resin kullanıldığı için örnekte %5'lik bir su bulunmasına olanak tanır, kesitinin alınması zordur ancak hazırlanan blok yıllarca korunabilir. Ayrıca teknik ticari bir ekipman ya da el yapımı bir sistem kullanılmasını gerektirir.

Lokalize protein küçükse bu metodla sinyal elde etmek de zor olmaktadır. Osmiyum tetroksit kullanılmadığından örneğin elektron yoğunluğu fazla değildir ve hafif bir kontrastı vardır.

Tokuyasu metodu olarak bilinen yöntemde ise örneğin kriyokesiti alınır ve immünlokalizasyon teknikleri için kullanılır [16]. Bu metodda örneğin antijenitesini korumak için düşük konsantrasyonlu aldehitler kullanılır. Kimyasal olarak tespit edilen örnek jelatinle kaplanır ve sükrözle doyurulur. Sonrasında örnek özel bir tutucu üzerine yerleştirilir ve hemen sıvı nitrojenle dondurulur. Kriyoultramikrotom yardımıyla -80 °C ve -140 °C arası sıcaklıklarda örneğin kriyo kesitleri alınır (80-100 nm). Örnekler kontrastlanır ve metil selüloza gömülerek kurutulur. Bu teknikle örnekler dehidre edilmez ya da gömme yapılmaz; proteinler sulu bir surumda kalmış olur. İmmünlokalizasyon işlemi oldukça etkilidir ve küçük miktarlarda bulunan antijenler için çok faydalıdır. Çok hızlı olan bu yöntemde bir gün içinde sonuç alınabilir. Hücre içi membran sistemlerini çok net olarak ortaya koyar. Ancak düşük konsantrasyonda aldehit kullanılarak yapılan fiksasyon sonrası sükröz ile yapılan kriyokoruma, hücresel hacimde azalmaya ve çözünebilir proteinlerin kaybına yol açabilir. Kontrast ise genellikle düşüktür. Kriyokesitleme işlemi güçlüdür ve örnek sıvı nitrojen ile dondurulmak zorundadır. Bu yöntemde kontrast düşük olmasına rağmen, membranlar ve hücresel kompartmanlar çok net biçimde gözükülebilmektedir. Özellikle moleküler lokalizasyon teknikleri için faydalı bir yöntemdir.

Kimyasal fiksasyon işleminin, fiksasyon sonrası yapılan işlemlere göre daha az değişim ve artefakt ürettiği bilinmektedir. Buradan yola çıkılarak geliştirilen diğer bir yöntemde örneğin kimyasal fiksasyonu sonrası bir kriyoprotektan kullanılır (genellikle sükröz) ve sonrasında kriyofiksasyon işlemi yapılır. Daha sonra örnek freeze substitution denilen ve -90 °C'de organik bir çözücü yardımıyla örnekteki suyun elimine edilmesini sağlayan bir işleme alınır. Burada genellikle sükrözle karışmadığından dolayı metanol kullanılmaktadır. Bu yöntem daha büyük örneklerin çalışılmasında idealdir ve homojen bir fiksasyon sağlamaktadır. Yönteme kimyasal fiksasyonla başlamak örnekte yapısal hasarlara yol açabilmektedir. Ticari bir ekipman ya da el yapımı bir sistem gerektirir. Ultrayapının oldukça iyi korunduğu bir yöntemdir. Hibrit metod olarak da bilinir [13].

Hibrit metod immünlokalizasyon çalışmaları içinde kullanılabilir. Örnekteki antijeniteyi korumak için düşük bir aldehit fiksasyonu yapılır ve sonrasında sükrözle kriyokoruma sağlanır. Metanol kullanılarak -90 °C'de freeze substitution (FS) yapılır. FS ortamına çeşitli fiksatifler eklenebilir. Sonrasında örneğin akrilik resine gömülebilmesi için sıcaklık artırılır [17]. Resine gömülü örnek UV ışığı ile polimerize edilir. Hücresel yapıları oldukça iyi koruyan bir yöntemdir ancak kesit alınması zordur. Kontrast oldukça düşüktür ve ticari bir ekipman ya da el yapımı bir sistem gerektirir. İmmünlokalizasyon çalışmaları için idealdir.

Yüksek basınçlı dondurma işlemiyle kriyofiksasyona alınan bir örnek buradan farklı şekillerde olabilen proseslere alınmaktadır. Bu proseslerden biri, farklı organik solventer yardımıyla freeze substitution işleminin gerçekleştirilmesidir [18]. Aseton, alkol ya da metanol gibi bir organik çözücü örnekteki suyun yerini alır ve bu da örneğin gömülmesine olanak tanır. FS ortamına belirli oranlarda kimyasal fiksatifler eklenebilir. Fiksatifin tipi örneğin çeşidime ya da çalışmanın amacına göre belirlenir. Isıtma süreci sırasında belirli sıcaklıklarda kimyasal fiksatifler de görevini yapar ve

örnekle etkileşime geçerler. FS yöntemi -90 °C’de çalıştığı için sıcaklık dereceli olarak artırılarak oda sıcaklığına geçirilir. Daha sonra örnek epoksi resine gömülerek kesit alma ve inceleme işlemleri yapılır. Bu yöntem hücresel mimarinin korunmasında en iyi yoldur. Proses süresi kimyasal metodlardan daha fazla değildir.ancak her örnek için kristal oluşumundan kaçınılarak çalışılmalıdır.

Kriyofiksasyon ile başlayan sürecin devamında in situ hibridizasyon ve immünlökizasyon teknikleri gerçekleştirilebilir [19,20]. Proses yukarıda anlatılan proseslere benzer ancak organik çözücü olarak genellikle aseton kullanılır ve kullanılan kimyasal fiksatif tipi ve oranlarına çok dikkat edilmelidir. FS sonrasında örnek farklı sıcaklıklarda ve farklı akrilik resin tipleri kullanılarak gömülür ve son olarak UV ışığı ile polimerize edilir. Bu yöntem hem hücresel yapıyı hem de örneğin antijenitesini çok iyi koruyan bir yöntemdir. Bloklar yıllarca saklanabilir. Farklı tipte akrilik resinlerin kullanımına olanak sağlamaktadır. Ancak örneğin blok haline getirilmesi ve tüm örneğin belirli bir derecede oryantasyonu zor olmaktadır. Yöntem sayesinde moleküler lokalizasyon çalışmaları güzel sonuçlar sunmaktadır.

Yüksek basınçlı dondurma ve FS ile kriyofiksasyon edilen bir örnek rehidre edilerek kriyokesitleme için Tokuyasu metoduna da uyarlanabilmektedir [21]. Bu yöntemde çok etkili bir immünlökizasyon yöntemi ile kriyofiksasyonun sağladığı ultrayapısal koruma kombine edilmiş olmaktadır. Ancak kriyofiksasyonla başlayan örnek boyutları küçüktür ve rehidrasyon sırasında artefaktlar oluşabilmektedir. Tokuyasu metoduna benzer şekilde örnekten elde edilen görüntüde kontrast düşüktür ancak membranlar ve hücresel kompartmanlar çok iyi biçimde görülebilir. Kimyasal yolla tespit edilmesi zor olabilen örneklerin moleküler lokalizasyonlarını saptamada spesifik bir tekniktir.

Tüm bu yöntemlerin yanısıra, kriyofiksasyon edilen bir örnekle başlayan süreç diğer başka tekniklerle de devam ettirilebilir:

**Dondurma-kırma metodu:** Bu yöntemde örneğin dondurularak kırılması ve çift taraflı bir kırık elde edilmesi, farklı açılarda platinum-karbon kullanılarak bu taraflardan bir kopyanın elde edilmesi ve mikroskop altında incelenmesi sağlanır [22].

**Dondurma-kurutma yöntemi:** Bu teknikte kriyofiksasyon edilen örnekten daha sonra suyun çıkarılması sağlanır. Bu işlem vakum altında ve düşük sıcaklıklarda sublimleşme için yapılır. Örnek kurutulduktan sonra resine gömülür ve kesilir [23].

**Cemovis:** Yüksek basınçta örneğin dondurulması, kesilmesi ve direk olarak kriyoinceleme yapılmasıdır. Bu yöntemde örnekten suyun uzaklaştırılmasına gerek olmadan inceleme yapılabilir ve biyolojik örneğin en doğal hali gözlenmiş olur [24].

Geçirilmiş elektron mikroskopi hücre ve dokuların nasıl çalıştığını anlamamızda esas olan araçlardır. Böylece bu yapıları yüksek çözünürlükle inceleyebilir, yapıda bulunan komponentleri ve fonksiyonlarını daha iyi anlayabiliriz. Ayrıca çeşitli biomarker ya da antijenik yapıların lokalizasyonlarını da belirleyebiliriz. Ancak mikroskopi öncesi örneğin uygun şekilde hazırlanması hem yapısal komponentlerin korunması ve hem de örneğin doğal haline en yakın biçimde kalması açısından son derece önemlidir. Çok farklı teknikler olmasına ve sürekli de yeni teknolojiler

geliştirilmesine rağmen bu tekniklerin farklılıkları ve elde etmek istediğimiz bilgiye göre seçimi çok dikkatli biçimde yapılmalıdır.

## KAYNAKLAR

- [1] Thompson, R.F., Walker, M., Siebert, C.A., Muench, S.P., Ranson, NA. (2016) An introduction to sample preparation and imaging by cryo-electron microscopy for structural biology. *Methods* 100, 3-15.
- [2] Park, C.H., Kim, H.W., Uhm, C.S. (2016) How to Get Well-Preserved Samples for Transmission Electron Microscopy. *Applied Microscopy* 46,188-192.
- [3] Frankl, A., Mari, M., Reggiori, F. (2015) Electron microscopy for ultrastructural analysis and protein localization in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbil Cell* 2, 412-428.
- [4] Wang, H. (2015) Cryo-electron microscopy for structural biology: current status and future perspectives. *Science China Life Sciences* 58, 750-756.
- [5] Taylor, K.A., Glaeser, R.M. (2008) Retrospective on the early development of cryoelectron microscopy of macromolecules and a prospective on the opportunities for the future. *Journal of Structural Biology* 163, 214-223.
- [6] Uhm, C.S., Park, E.K., Park, C.H. (1998) Tissue preparation with t-Butyl alcohol freeze-drying method for scanning electron microscopy: application for rat liver. *Korean Journal of Electron Microscopy* 28, 299-306.
- [7] Hayat, M.A. Principles and Techniques of Electron Microscopy: Biological Applications. 1989 CRC Press, Boca Raton, FL.
- [8] Wisse, E., Braet, F., Duimel, H., Vreuls, C., Koek, G., Steven, W.M., Damink, O., Broek, M.A.J., Geest, B.D., Dejong, C.H.C., Tateno, C., Frederik, P. (2010) Fixation methods for electron microscopy of human and other liver. *The World Journal of Gastroenterology* 16, 2851-2866.
- [9] Mascorro, J.A., Bozzola, J.J. (2007) Processing Biological Tissues for Ultrastructural Study. In: Kuo J. (eds) *Electron Microscopy Methods in Molecular Biology™ Humana Press* 369, 19-34.
- [10] Bozzola, J.J., Russell, L.D. (1992) *Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists*. second edition. John and Bartlett Publishers, Sudbury, Massachusetts, USA.
- [11] Taylor, K.A., Glaeser, R.M. (1974) Electron diffraction of frozen, hydrated protein crystals. *Science* 186, 1036-37.
- [12] Adrian, M., Dubochet, J., Lepault, J., McDowell, A.W. (1984) Cryo-electron microscopy of viruses. *Nature* 308, 32-36.
- [13] Costello, M.J. (2006) Cryo-electron microscopy of biological samples..*Ultrastructural Pathology* 30,361-71.
- [14] Studer, D., Graber, W., Al-Amoudi, A., Egli, P.A. (2001) A new approach for cryofixation by high-pressure freezing. *Journal of Microscopy* 203, 285-294
- [15] Carlemalm, E., Garavito, M., Villiger, W. (1982) Resin development for electron microscopy and an analysis of embedding at low temperature. *Journal of Microscopy* 126, 123-143.
- [16] Tokuyasu, K.T. (1973) A technique for ultracryotomy of cell suspensions and tissues. *Journal of Cell Biology* 57, 551-565.
- [17] Mobius, W. (2009) Cryopreparation of biological specimens for immunoelectron microscopy. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*,191,231-247
- [18] Terracio, L., Schwabe, K.G. (1981) Freezing and

drying of biological tissue for electron microscopy. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 29, 1021–8.

[19] Giddings, T.H. (2003) Freeze-substitution protocols for improved visualization of membranes in high-pressure frozen samples. *Journal of Microscopy* 212, 53-61

[20] McDonald, K.L. (2009) A review of high-pressure freezing preparation techniques for correlative light and electron microscopy of the same cells and tissues. *Journal of microscopy* 235, 273–281.

[21] Ripper, D., Schwarz, H., Stierhof, Y.D. (2008) Cryo-section immunolabelling of difficult to preserve specimens: advantages of cryofixation, freeze-substitution and rehydration. *Biology of the Cell* 100, 109-123.

[22] Cavalier, A., Spohner, D., Humbel, B.M. (2009) *Handbook of Cryo-Preparation Methods for Electron Microscopy*. (Eds.), CRC Press, Boca Raton, FL.

[23] Edelmann, L. (2002) Freeze-dried and resin-embedded biological material is well suited for ultrastructure research. *Journal of Microscopy* 207, 5–26.

[24] Al-Amoudi, A.I., Chang, J.J., Leforestier, A., McDowall, A., Salamin, L.M., Norlén, L.P., Richter, K., Blanc, N.S., Studer, D., Dubochet, J. (2004) Cryo-electron microscopy of vitreous sections. *EMBO Journal* 23, 3583-3588.



## Nematoda Dayanıklılık Sağlayan Genlerin Etkinliği ve Sürekliliğinde Ürün Yönetim Stratejileri

Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR\*<sup>1</sup> Gülsüm UYSAL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 32260, Isparta, Türkiye

\*Sorumlu Yazar:

E-posta:fatmagoze@sdu.edu.tr

Geliş Tarihi : 25 Mayıs 2018

Kabul Tarihi: 23 Ekim 2018

### Özet

Konukçu dayanıklılığının kullanımında ana zorluk, özellikle tek dayanıklılık geninin olması ve nematodların bu genlerin etkisini kırarak üremeyi sağlamalarıdır. Özellikle devamlı monokültür tarımın yapıldığı yerlerde virüsent nematod popülasyonları rapor edilmiştir. Uzun süre dayanıklılığın korunması da kültivasyon, çevre koşulları ile patojenin yeni mutasyonlar ve rekombinant generatlarının oluşmasına bağlıdır. Son araştırmalar ürün yönetimindeki stratejilerin dayanıklılık kaynaklarında dayanıklılığın süresini etkilediğini göstermektedir. Mücadelede doğru stratejiler ile virüsent popülasyon oluşumları engellenebileceği gibi böyle popülasyonların bulunduğu alanlarda nematod zararı en aza da indirilebilmektedir. Tek gen dayanıklılığı alternatifleri diğer genlerin kullanımı, ya da çapraz dayanıklılık sağlayan ilave genler kullanılarak dayanıklılığın sürekliliği sağlanmaktadır. Bu çalışmada nematod dayanıklılığı, dayanıklılık ıslahında dikkat edilmesi gerekenler, nematodlarda virülenslik, dayanıklı çeşit kullanımında ürün yönetimi ve virülenslik kontrolü ele alınacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Dayanıklılık, mücadele yöntemleri, nematod, virülenslik

## Product Management Strategies of Nematode Resistant Genes Efficiency and Durability

### Abstract

The main difficulty with the use of hostile resistance is that it is the single resistance gene in particular and nematodes break through the effects of these genes. Virulent nematode populations have been reported, particularly at sites where monoculture farming has been continuously carried out. Preservation of long-term durability also depends on cultivation, environmental conditions and the formation of new mutations and recombinant generations of the pathogen. Recent research shows that the strategies in product management affect durability in sources of resistance. Strategies against virulent populations can be prevented, and nematode damage can be reduced in areas where such populations are present. The continuity of durability is achieved by using additional genes that are alternative to single gene resistance, or by using additional genes that provide cross-resistance. This study will focus on nematode resistance, durability improvement, virulence in nematodes, product management and virulence in the use of resistant varieties.

**Keywords:** Resistance, control methods, nematode, virulence

### GİRİŞ

Yetiştirilen sebzelerin verim ve kalitesini olumsuz yönde etkileyen en önemli toprak kökenli zararlılardan bir tanesi bitki paraziti nematodlardır ve bitkilerin köklerinde stiletlerini doku içerisine batırarak buradan bitki özsuyunu emerler. Nematod türüne ve yoğunluğuna bağlı olarak bitkilerde gelişme geriliği, solgunluk ve verimde azalmaya neden olurlar. Endoparazit, yarı-endoparazit ve ektoparazit olarak beslenirler [68]. En zararlı grup endoparazit beslenen nematodlardır. Nematodların neden olduğu küresel ürün kaybı 80 milyar dolar olarak bildirilmektedir [41]. Farklı araştırmacılar ise bitki paraziti nematodlardan dolayı global olarak her yıl 125 milyar dolar ürün kaybı tahmin etmektedir [9, 26]. Bitki paraziti nematodlardan kök-ur ve kist nematodları ekonomik anlamda ciddi kayıplardan sorumludur. Bloak et al., Kök-ur nematodları'nın yıllık 80 milyar Euro'dan fazla kayıba neden olduklarını ve kimyasal nematisitlerin yasaklanması ile nematod problemlerinin dolayısıyla da zararın arttığını belirtmektedirler [10]. İngiltere'de 2010 yılında *Globodera rostochiensis* ve *G. pallida*'nın neden olduğu parasal kayıp yıllık tahmini 70 milyon dolar olarak bildirilmiştir [30].

Nematod ile bulaşık olan bölgelerde mücadele oldukça zordur ve bu zararlının yönetiminde en iyi opsiyon dayanıklı bitki kullanmaktır. Dayanıklı çeşit kullanımı diğer mücade-

le metotları ile uyumlu ve üretime çevresel başlangıç sağlar [73]. Dayanıklı çeşit seçiminin bitki paraziti nematod ile mücadelede kullanımı, kimyasal mücadele masraflarına kıyasla son derece ekonomiktir [49]. Özellikle kök-ur nematodu yönetiminde dayanıklılık güçlü bir araçtır. Kök-ur nematodlarının yaygın dağılımı ve ürünlerde yıkıcı zararlar meydana getirmeleri mücadelede dayanıklı bitki kullanımını meşrulaştırır. Kist nematodlarına karşı dayanıklılık buğday, patates, soya fasülyesi ve şekerpancarı gibi bitkilerde yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen, kist nematodlarının çok sayıda ırkı olması dayanıklılıkta major problemler ortaya çıkarmaktadır.

Nematodlara karşı dayanıklılık ıslahı çalışmaları uzun zaman almakta ve yüksek maliyetler gerektirmektedir. Örneğin; yerfıstığında *M. arenaria* dayanıklılığı için ilk çaprazlamalara 1970 yılında başlanmış, dayanıklı germplasm koleksiyonlarının tanımlanması ise 1987 'de olmuştur [56]. İlk nematoda dayanıklı yerfıstığı çeşidi de 2001 yılında piyasaya girmiştir [70]. Boerma and Hussey, yeni dayanıklı bir kültürün geliştirilmesi için 10 yıldan fazla bir sürenin gerektiğini ve screen programında her yıl 20000 genotipte ilişkili olduğu parasitik organizma ile reaksiyonuna bakıldığını bildirmektedirler [13]. Amerika Birleşik Devletleri'nde dayanıklı ürün kültürlerinin gelişimi için fayda-maliyet oranı harcanan her 1 \$ için 300 \$ olarak tahmin edilmiştir [12]. ABD'de soya fasülyesinde

*Heterodera glycines*'e karşı dayanıklılık sağlayan Forrest kültürü geliştirmek için yaklaşık 1 milyon dolar maliyet harcanırken, Güneydoğu Eyaletlerinde 6 yıllık dönemde bu kültürün kullanılmasıyla soyada 401 milyon dolar verim kaybı engellenmiştir [14]. *Meloidogyne incognita* ile bulaşık domates serasında dayanıklı çeşit kullanarak metil bromid kullanılarak sağlanan faydanın daha üstünde bir kazanç 100 US \$ / ha (E 8000/ ha) elde edilmiştir [72]. *Heterodera avenae* Avrupa'da buğdayda yıllık 3 milyon sterlin, Avustralya'da ise 72 milyon Avustralya doları ürün kaybına neden olmaktadır [82, 15]. Avustralya'da kayıpların az olmasının nedeni dayanıklı ve tolerant çeşit kullanımıdır [57].

Dayanıklı çeşit piyasaya sürülmeden önce nematolojistlerin yaptıkları screen programları da dayanıklılık yönetimi açısından büyük önem taşımaktadır. İslah hatları genellikle doğal bulaşık alanlarında değerlendirilmelerine rağmen, alanda bulunan nematodla benzeşmezlik, mevsimsel kısıtlamalar ve polispesifik nematod kominiterleri bu yaklaşımın dezavantajlarıdır. Seralarda testleme işlemlerinde steril topraklar kullanılmakta, sonradan nematod inokulasyonları yapılmaktadır. Ancak doğal bulaşık topraklardaki nematod inokulum kaynağı değişiktir ve toprak diğer nematodlar da dahil olmak üzere farklı organizmalarla ilişki içerisindedir. İslah hatlarının değerlendirilmesinde nematolojistlerin yine belirli bir inokulasyon değeri kullanmadıkları da görülmektedir. Germplazmaların screen edilmesinde nematodun türü ve inokulasyonun durumu (larva, yumurta, yumurta paketi) önemlidir. Hareketsiz endoparazit nematodlarda kolaylıkla elde edilebilir olması açısından yumurta tercih edilir. İnokulasyon için nematod izolatının seçimi herhangi bir screen çalışmasının en önemli bir parçasıdır. Saldırgan bir nematod izolatının kullanımı yüksek düzeyde dayanıklılığa sahip genotiplerin tespiti için önemlidir. Buna ek olarak, farklı coğrafi bölgelerden izolatların karışımı ile ıslah hatlarının taranması geniş alanlarda geniş dayanıklılık tanımlanmasına izin vermektedir [46]. Nematod izolatının kültürlenmesinin yapılması ve devamlılığında dikkatli olunması hastalık oluşturma ve saldırganlık bakımından önemlidir. Nematod inokulumlarında nematod saldırganlığı ve saflığının düzenli olarak izlenmesi gerekir. Çevresel koşullar bir serada değişiklik gösterebilir ve bir tarama testinde sonuçları önemli ölçüde etkileyebilir. İlk sera screeninden sonra, seçilen ıslah hatları nematodla bulaşık çeşitli alanlarda taranmalıdır.

#### **Kültür Bitkilerinde Nematod Dayanıklılığı**

Nematod dayanıklılığı nematod üremesine olan etkisi ile tanımlanır. Dayanıklı bitki hassas bitki genotipinden daha az nematod üremesine izin verir ya da hiç nematod üremez [28]. Yabani ekotipler nematoda dayanıklı domates, patates ve tütün geliştirmede başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Birçok bitkide nematodlara dayanıklılık sağlayan genler tespit edilmiştir. Hareketsiz endoparazit nematod gruplarına (kist ve kök-ur nematodları) karşı olan dayanıklılık ıslah programlarının önceliğindedir ve farklı kültür bitkilerinde dayanıklılık ıslah programları uygulanmaktadır [85, 37]. Nematodlara dayanıklılıkla ilgili ilk başarı Bailey (1941) tarafından yabani tür *Solanum peruvianum* L.'da saptanan tek dominant *Mi* geninin *Solanum esculentum* Mill'a melezleme yoluyla aktararak [5, 71], *Mi* genine sahip domateslerde, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria*'ya karşı dayanıklılık sağlanmıştır [84].

Genellikle genlerin çoğunda dayanıklılık ifadesi

nematod infeksiyon bölgelerinde lokal hipersensitif reaksiyon (HR) olarak karakterize edilmektedir. Hipersensitif reaksiyon hızlı bir hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır. Bu şekilde nematodlar ölü hücrelere hapsolmakta enfeksiyon bölgesinden bitkinin diğer bölgelerine yayılmaları engellenmiş olmaktadır [21]. *Meloidogyne* türlerine karşı dayanıklılık tepkisi hipersensitif reaksiyon olarak bilinmekte ve bu durum kök büyümesini olumsuz anlamda etkilememektedir [86]. Kahve bitkisinde dayanıklılık sağlayan *Mex-1* geni *M. exigua*'ya karşı güçlü hipersensitif reaksiyon oluşturmada ve köklerde gallenmeyi önemli ölçüde azaltmaktadır [4]. Dayanıklı biberde *Me7* geni hızlı hipersensitif reaksiyonla *M. arenaria* larvalarının kökte hareketini engellemektedir. Domateste *Mi-1* geninin dayanıklılık cevabı penetrasyonda ya da larvalar kökte hareket ederken görülmezken, larvalar beslenme hücreleri oluşturmaya başlarken meydana gelmektedir [43]. Börülcede dayanıklılık sağlayan *Rk* geni'nin *M. incognita* 'ya savunma cevabı reaktif oksijen türevi (ROS) molekülleri oluşturarak meydana geldiği tespit edilmiş ve bu moleküllerin nematodların ergin olmadan ölmelerine neden olduğu, birkaç larvadan ergin dişi meydana gelse bile yumurta paketi oluşturmadağı görülmüştür [30]. Hipersensitif reaksiyonun oluştuğu zaman dilimi nematod patojenitesi açısından önemlidir. Kök-ur nematodlarına dayanıklılık sağlayan *Mi-1*, *Me3*, *Me7* ve *Me1* genlerinin enfekteli köklerde vasküler silindirde geç hipersensitif reaksiyon oluşturdıkları bilinmektedir. Bu tip hipersensitif reaksiyon virüsent nematod genotiplerinin meydana gelmesini önemli derecede azaltmaktadır [60, 32]. Blevé-Zacheo et al., *Me3* geni taşıyan HDA149 ve *Me1* geni taşıyan HDA330 dayanıklı biber hatlarının Kök-ur nematodlarının üremesini baskılamalarına karşın, iki hat arasında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir [8]. Duyarlı biber çeşidi ile *Me3* ve *Me1* genlerini taşıyan 2 dayanıklı hat arasındaki farklılıklar inokulasyondan 2 gün sonra belirgin şekilde görülmeye başlanmış ve bu farklılıkların zamanla arttığı tespit edilmiştir. *Me3* genini taşıyan HDA149 hattında köklerde L2 penetrasyonu çok daha az meydana gelmiş ve bitkinin daha erken savunmaya geçtiği tespit edilmiştir. HDA149 hattında L2 penetrasyonu ve beslenmenin başlaması ile birlikte HR oluştuğu görülmüştür. *Me1* genini taşıyan HDA330 hattında ise birkaç beslenme hüresinden sonra hücre ölümünün oluşturulduğu gözlenmiştir. Her iki dayanıklı hattın köklerinde gal ve yumurta kümesi gözlenmemiştir.

Bazı mısır kültürleri köklerde hızlı rejenerasyon yaparak *Meloidogyne* spp.'ye karşı tolerant reaksiyon göstermektedirler [65]. *Meloidogyne incognita* 'ya dayanıklı kaba yoncada (*Medicago sativa*) HR olmaksızın larvaların gelişimini bloke etmektedir. Hassas yonca köklerinde 7. gün sonunda vaskular silindirinde larvaların olduğu görülürken dayanıklı köklerde larva bulunamamıştır [64].

#### **Nematodlara Karşı Dayanıklılıkta Karşılaşılan Önemli Sorunlar**

Dayanıklılığı etkileyen en önemli faktörler yüksek sıcaklık, virüsent popülasyon oluşumları ve dayanıklılığın homozigot-heterozigot'luk durumlarıdır.

Yüksek sıcaklık, bitkide strese neden olup hücre nekrozlarından sorumlu olan moleküler biyokimyasalların üretimini azaltırken, nematodun gelişimini olumlu yönde etkilemektedir [17]. Dünyanın bazı bölgelerinde domateste kök-ur nematoduna dayanıklı çeşit kullanımında yüksek toprak sıcaklığının ( $\geq 30^{\circ}\text{C}$ ) önemli bir sınırlayıcı faktör olduğu bilinmektedir [44; 1]. Ammiraju et al., yabani tür

*Solanum arcanum* accession LA2157'den yeni bir ısı-stabil nematod dayanım geni *Mi-9* tanımlamış ve haritalamıştır [2]. Marques de carvalho et al. domateslerde *Mi-1* gen kaynaklı nematod dayanımının 35°C de etkinliğinin azaldığını, kısa süreli ısı gerilmeleri ile kırıldığını ancak zamanla kurtulduğunu yeniden dayanım sağlamaya devam ettiğini tespit etmiştir [52]. Pamukta *M. incognita* dayanıklılığının 35°C de baskılandığı bildirilmiştir [16]. *Meloidogyne incognita* dayanımına sahip 2 fasulye hattında dayanıklılığın 30°C de kaybolduğu belirtilmektedir [58]. Fasulyede kök-ur nematoduna karşı dayanıklılık sağlayan *Me2* geni 26°C de dominant iken, 28°C de dominantlığı azalmaktadır [59]. Thies et al., Charleston Belle ve Carolina Wonder biber hatlarında yüksek sıcaklıklarda dayanıklılığın kısmi olarak azaldığını bulmuşlardır [75].

Virülene kök-ur nematodu popülasyonları laboratuvarında seleksiyon yoluyla veya bir bölgede sürekli dayanıklı çeşitlerin kullanımı sonucu doğal seleksiyon baskısı ile oluşabilmektedir [22, 60]. Virülene nematod popülasyonları bitkinin sahip olduğu özel dayanıklılık genlerini kırarak beslenme ve üremeyi sürdürebilmektedir [65]. Virülene kazanımı nematod açısından bakılacak olursa yok olma tehdidinden ya da modifikasyondan dolayı olabilmektedir.

Bitki açısından değerlendirilecek olursa üretilen antioksidan ya da hormon değişimi savunma tepkisini etkilemiş ve nematodun infeksiyon yapmasına izin vermiş olabilir [86]. Domates bitkisinde dayanıklılığı sağlayan *Mi-1* genini kiran *Meloidogyne* spp. virülene popülasyonları birçok ülkede bildirilmiş ve yaygın coğrafik yayılım olduğu görülmüştür [22, 31, 35, 54, 60, 78]. Nematodların yayılımının pasif olması virülene yayılımını kısıtlamaktadır. Bu da birim alandaki virülene nematod popülasyon ölçüsünü, yani frekansı etkilemektedir. Virülene nematod frekansları *Meloidogyne* spp. için henüz ana problem değilken, *Heterodera* ve *Globodera* spp. için önemli bir sorun teşkil etmektedir [27]. Özellikle Metil bromid (CH<sub>3</sub>Br) gibi güçlü kimyasalların yasaklanmasından sonra 2000'li yıllardan itibaren artan dayanıklı çeşit kullanımı ile birlikte rapor edilen virülene popülasyon sayıları artmıştır. Çünkü piyasaya sunulan dayanıklı çeşitler F1 durumundadır. Genellikle dayanıklılık sağlayan genler yabancı genotiplerde olduğundan verim ve kalite özellikleri yüksek olan çeşitlerle melezlenirler ve doğal olarak bir açılım söz konusu olmaktadır. Bu yüzden bir yerde sürekli dayanıklı çeşit yetiştirilmesi tavsiye edilmemektedir. Bitkide nematod dayanıklılığı sağlayan genlerde bildirilen virülene popülasyonlar Çizelge 1. 'de verilmektedir.

**Çizelge 1.** Bitkide nematod dayanıklılığı sağlayan genlerde bildirilen virülene nematod popülasyonları

Bitki türü	R gene	Nematod türü	Kaynak	
<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Rk</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	[61, 62, 63, 66]	
		<i>M. javanica</i>	[31, 35, 54, 60, 78]	
<i>Solanum esculentum</i>	<i>Mi</i>	<i>M. incognita</i>	[18, 31, 35, 80]	
		<i>M. mayaguensis</i>	[11]	
<i>Solanum fendleri</i>	<i>Rmc2</i>	<i>M. chitwoodi</i>	[48]	
		<i>Me3</i>	<i>M. arenaria</i>	[21]
		<i>M. incognita</i>	[20, 21]	
<i>Capsicum annuum</i>	<i>N</i>	<i>M. incognita</i>	[76]	
		<i>M. mayaguensis</i>	[11]	
		<i>Me1</i>	<i>M. incognita</i>	[39]
<i>Solanum tuberosum</i>	<i>H1</i>	<i>Globodera rostochiensis</i>	[6]	
<i>Beta spp.</i>	<i>Hs1<sup>pro-1</sup></i>	<i>Heterodera schachtii</i>	[50]	
<i>Glycine max</i>	( <i>oligogenic</i> )	<i>H. glycines</i>	[34]	
<i>Avena sterilis</i>	<i>Genes A,B,C</i>	<i>H. avenae</i>	[51]	
<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Rmc1</i>	<i>M. chitwoodi</i>	[53]	
<i>Grapevines</i>		<i>Meloidogyne</i> spp.	[3]	
Nemaguard		<i>Meloidogyne</i> spp.	[86]	
<i>Phaseolus vulgaris</i> (Nemasnap)		<i>M. hapla</i>	[24, 25]	
<i>Medicago sativa</i>		<i>M. hapla</i>	[40]	

Nematodların üreme şekillerindeki farklılık onların virülenslik potansiyelini etkilemektedir. *R* geninin kırılması nematodun üreme gücü yani virülenslik gücüne (Ch) bağlıdır [32]. Dayanıklılık süresinin popülasyon çeşitliliği ve seksüel üremeden dolayı kısa olabildiği görülmüştür [24, 25]. *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* ve *M. javanica* mitotik partegonesis ile üremekte ve rastgele meydana gelen mutasyonlar dışında teorikte genetik olarak aynı yavrular oluşmaktadır [23]. Şimdiye kadar bu türlerin konukçu genişliği adaptasyonu ve virülenslik mekanizmaları net bir şekilde tanımlanamamıştır [86]. Castagnone-Sereno et al., *Mi*-virulent ve avirulent nematod çiftlerinin protein profillerini 2-D jel yardımıyla karşılaştırmış ve çok benzer olduklarını bulmuştur [19]. Tek kanıt bu türlerin izolatları arasındaki kromozom sayısının farklı olmasıdır. Petrillo and Roberts, *M. incognita* ve bu türe karşı dayanıklılık sağlayan *Rk* geni taşıyan bürülcede yaptıkları virulent seleksiyon çalışmalarında genetik adaptasyonun bu aseksüel türlerde olduğunu göstermiştir [61, 62]. Amphimictic kist nematodlarının virülensliğinde de farklı üreme oranı değerleri bildirilmiştir [77,51]. Daha önceki çalışmalarda domateste virulent *M. incognita* ve *M. javanica*'nın üreme frekansının virulent ve avirulent soylarda farklı olmadığı ve stabil virülenslik gösterildiği bildirilmiştir [18; 78]. *Solanum* spp. de fakültatif partegonetik *M. chitwoodi* ve *M. fallax* virülensliğinde önemli farklılıklar bulunmuştur (van der Beek et al., 1998). *M. hapla*'ya dayanıklı kaba yonca *M. hapla* California izolatına karşı hassas olduğu bildirilmektedir [40].

*Meloidogyne javanica*'ya ait popülasyonların heterozigot çeşitlerde daha yüksek oranda çoğaldığı rapor edilmiştir [79]. Havuçtaki son çalışmalar kök-ur nematoduna dayanıklılığın heterozigot şartlarda dominantlığını kaybetme eğiliminde olduğunu [69], buna rağmen heterozigot dayanıklılık, havuçta kök-ur nematodunun gal oluşumunu engellemede oldukça etkilidir [67]. Domates genotiplerinde *Mi* geni heterozigot olduğunda, nematod çoğalmasında önemli varyasyonlar görülmüştür. Modern domates çeşitleri F1 hibridleri olduğundan büyük bir kısmında *Mi* geni heterozigot durumdadır ve arazi koşullarında virulent *M. incognita* popülasyonları çıkma olasılığı yüksektir [47].

### Dayanıklılığın Yönetimi Ve Arazide Virülensliğin Kontrolü

Ürün yönetimindeki stratejilerin dayanıklılık kaynaklarında dayanıklılığın süresini etkilediği görülmektedir. Dayanıklı ürün rotasyon stratejilerinin belirlenmesinde yapılacak ilk iş uygun *R* geninin seçilmesi, genetik backgroundunun tanımlanması ve optimize edilmesidir. *R* genlerinin dayanım süresinin artırılması patojen miktarının azaltılmasıyla ilişkilidir. Çünkü patojenlerin virülenslik frekansı mutasyon oranları ve popülasyon büyüklüğü arasındaki dengeye bağlıdır [29]. Petrillo et al., Williamson and Roberts ve Djian-Caporalino et al. virülensliğin yönetiminde strateji olarak; monokültürden kaçınmak, ürün rotasyon modelinin oluşturulması, alternatif gen rotasyonu, farklı genlerin kullanılması ile karışık ekim-dikim, Pyramiding (gen piramidi) yöntemlerini önermişlerdir [33, 63, 86].

'Monokültür' geniş bir alanda tek bir bitki türünün sürekli kullanılması olarak tanımlanmaktadır. Monokültürde geniş alanlarda dayanıklılık genlerinin kullanımı çeşitlerin direncini azaltmakta ve bitki patojenlerinin sürekli yenilenecek güçlü patojen genotipleriyle dayanıklılığın üstesinden gelebilmesine neden olmaktadır [36]. Bitki

paraziti nematodlar da en fazla monokültür tarım yapılan alanlarda ana zararlı pozisyonundaki organizmalardır. Dayanıklılık kaynaklarının sıklıkla ve geniş alanlarda kullanımını virülensliğe neden olmaktadır ve aynı dayanıklılık kaynağı kullanıldığı sürece popülasyon virülensliği düşürülemez [86]. Sorribas et al., dayanıklı çeşitlerin aynı bölgede 2 yıl üst üste ekilmesi sonucu % 9 ırlanma olduğu ve bu ırlanmanın 3. yılda % 22'ye çıktığını bildirmektedir [71]. Molinari ve Caradonna, *Mi* genine sahip domates çeşidinin 3 yıl üst üste dikilmesi sonucu virulent nematod popülasyonu oluştuğunu bildirmiştir [55]. Spesifik bir virülenslik varsa kullanılan *R* geninin zıtı alternatif yeni bir gen ya da farklı zıt *R* genlerinin karışımını içeren hatlar (line) kullanılmalıdır. Bu şekilde seleksiyon baskısı ve geniş alanlarda tek *R* geninden kaynaklanan dayanıklılık patlamasından da kaçınılmış olacak ve aynı allelde yeni virulent popülasyon oluşumunun engellenmesi mümkün olabilecektir [87]. Yapılan bir çalışmada *Mel-Mech 2* genlerini içeren PM217 biber hattında virulent buldukları 4 *M. incognita* popülasyonunun çalışmaya alınan diğer dayanıklı biber hatlarında (Carolina Wonder, CM334) virülens reaksiyon göstermediğini tespit etmişlerdir [39]. PM217 virülensliğinin olduğu yerlerde Carolina Wonder ve CM334 dayanıklı biber hatlarının kullanılabilceği öngörülmektedir. Değişim yapılacak farklı bir *R* geni yoksa da ürün değişimi yapılabilir. Devran ve Söğüt tarafından *Mi* virulent tespit edilen 12 izolatın kullanıldığı bir çalışmada dayanıklı Carolina Wonder, CM334 ve PM217 biber hatlarında 11 izolat avirulent bulunmuştur [31]. Sadece *Mi*-virulent F6 izolatı PM217 dayanıklı biber hattında da virulent reaksiyon göstermiştir [39]. Virülenslik kontrolünün dayanıklı domates-biber rotasyonu ile sağlanabileceği düşünülmektedir. Castagnone-Sereno et al., laboratuvar *Mi*-virulent *M. incognita* izolatının daha sonra kültüre aldıkları biber bitkilerinde üreme kabiliyetlerini yitirdiğini bildirmektedir. Yine *Mi*-virulent arazi popülasyonunun biberde üreyemediği rapor edilmiştir [81].

İngiltere 'de *G. rostochiensis* ırk Ro1'e dayanıklı *H1* geni taşıyan patatesler % 45 oranında yetiştirilmektedir. Ancak, *H1* geninin yaygın kullanımı bu gen ile kontrol edilemeyen *G. pallida*'yı yaygınlaştırmıştır. Bunun gibi olayları engellemek için alternatif gen kullanımı değerlendirilmelidir. *G. pallida*'ya dayanıklılık, *Solanum vernei*'de bulunan *Pa2* ve *Pa3* dayanıklılık genleri ile sağlanmaktadır [74]. Virülenslik yönetimi için bu genler değişim şeklinde kullanılabilir. Biberde farklı gen gruplarının (*Me(1-9)* ve *N*) olması yine alternatif gen rotasyonu sağlayabilecektir. Djian-Caporalino et al., kök-ur nematoduyla doğal bulaşık arazide 3 yıl üst üste dikim yapmış, *Mel* ve *Me3* genlerini değişimli (1. Yıl: *Me3*, 2. Yıl: *Mel*, 3. Yıl: *Me3*) kullanmışlardır [33]. Nematod yoğunluğunda yıllar arasındaki fark oldukça önemli bulunmuştur. İlk yıl *Me3* geninin kırıldığı, 2. yıl *Mel* de nematodun gelişemediğini, 3. yıl yine *Me3*'de virulent reaksiyonun görüldüğünü tespit etmişlerdir.

Gen hassas çeşitle de rotasyona sokularak virulent bireylerin sayısının artışı düşürülebilmektedir. Bu nedenle aynı bitkinin duyarlı olan çeşidi ya da aynı türe ait bir başka duyarlı çeşit rotasyonda kullanılabilir. Bürülcede *Rk*-virulent *M. incognita* izolatları ile hassas domateste 5 yıl yürütülen çalışmada izolatların üreme güçlerinin ve virülenslik yüzdelerinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmektedir [63].

Hassas ya da dayanıklı bitkiler kullanırken ortam koşullarına ve hastalık-zararlı durumuna göre karışık ekim-dikim yapılabilir. Özellikle hava kaynaklı patojenlerde başarılı bir şekilde bu yöntem uygulanmaktadır.

Karışık ekim-dikimde amaç:

1. Daha rekabetçi ve daha dayanıklı genotiplerin seçimiyle genel hastalık şiddetini azaltmak,
2. Dayanıklı bitkilerin bariyer görevi görmesi ile bitkiyle özelleşmiş patojenlerin yayılmasını engellemek,
3. Aynı dayanıklılığa sahip olan konukçu bitkiler arasındaki mesafenin artırılması ile virülene popülasyon oluşumunu engellemek,
4. Konukçu bitkiler arasındaki rekabet etkileşimi ile bitki duyarlılığının etkilene (olumlu ya da olumsuz),
5. Bir konukçu genotipinde virülene olmayan patojenler virülene ırklarına karşı dayanıklılık reaksiyonlarını teşvik edebilirler (uyarılmış dayanıklılık oluşturmak),
6. Patojenin ırk hattı arasındaki etkileşimler hastalık şiddetini azaltabilir (uygun konukçu dokudaki rekabet).

Karışık nematod tür ve popülasyonlarının olduğu alanlarda farklı bitkilerin karışık ekim-dikimi, hassas ve dayanıklı çeşidin aynı anda kullanımı ya da farklı genlere sahip aynı bitkilerin karışık ekim ve dikimi virülenslik kontrolünde kullanılabilir. Kist nematodlarının çok fazla ırkı vardır. Bir bölgede mevcut fizyolojik ırkların tümüne karşı dayanıklı çeşit yoksa o zaman çok hatlı varyeteler (multiline) ya da çeşit karışımları oluşturulur. Bunların oluşturulmasında farklı dayanıklılık genleri taşıyan hatlar karıştırılır. Her hattın belirli fizyolojik ırklara karşı mukavemet geni bulunmaktadır. Çeşit karışımları yüksek verimli ve iyi adaptasyon gösteren çeşitlerin seçilmesiyle ve geriye melezleme ile farklı dayanıklılık kaynaklarından gelen genlerin bu çeşitlere aktarılmasıyla geliştirilebilmektedir. Bu amaçla öncelikle bölgede yaygın olan fizyolojik ırkların bilinmesi gerekmektedir.

Gen piramidi, herhangi bir hastalığa dayanıklılığın daha geniş bir genetik tabanını oluşturmak amacıyla, birkaç tane dayanıklılık geninin tek bir çeşitte bir araya getirilmesidir. Tek gen dayanıklılığının alternatifi olarak, tek genotipte farklı allellerin kombinasyonu olan gen piramidi yöntemiyle mutasyon sayısında artış beklenmekte ve bu durumda patojenin üreme gücünü yani virülensliğini etkilemektedir [38]. Multiple gen kombinasyonu ile gen piramidi prinçte bakteriyel yanıklık ve fungal yanıklık ile buğdayda külleme de başarılı bir şekilde uygulanmıştır [45, 42]. Gen piramidinin dayanıklılığın artırılması ve sürekliliğinin uzatılmasında gelecek vaad eden bir strateji olarak bildirilmektedir [83].

Gen piramidi, linelerin karışımı ve alternatif gen kullanımı ıslah çalışmalarında yaygın olarak kullanılmakta ancak arazideki performansları çok bilinmemektedir. Bu stratejiler teorik olarak makalelerde tartışılmalarına rağmen deneysel olarak karşılaştırılmaları bir iki çalışmada sınırlı kalmıştır. Buğdayda zarar yapan *Heterodera avenae* kist nematoduna dayanıklılık sağlayan *CreX* ve *CreY* tek gen olarak ayrı bitkide bulunmaktadır. Dayanıklılığın artırılması amacıyla bu iki gen *CreX* ve *CreY* seleksiyon yöntemiyle piramid yapılarak tek bitkide toplanmıştır [7]. Djian-Caporalino et al., üç yıl yürüttükleri çalışmada gen piramidi yapılmış *Me3xMe1* biber bitkilerinde *Me3*-virülene ve avirülene izolatların reaksiyonuna bakmış ve laboratuvar ve arazi koşullarında bu bitkilerde yumurta paketinin oluşmadığını bildirmişlerdir [33]. Ayrıca arazi de üç yıl üst üste *Me3xMe1* dikimi yapılmasına rağmen virülenslik oluşmamıştır. Topraktaki infeksiyon oranının %90 azalması nedeniyle dayanıklılığın uzun süre stabil şekilde sağlandığı belirtilmiştir.

## SONUÇ

Islahçıların ve nematolojistlerin nematodlara karşı etkili bir mücadele stratejisi belirlemek için birlikte çalışması çok önemlidir. Nematodların tür ve ırklarının doğru tanımlanması ve virülene nematod popülasyonlarının belirlenmesi gerekmektedir. Nematolojistlerin dayanıklılık screen programı belirlemesi şarttır. Dayanıklılık genlerini barındıran hatlarla çalışılması ve en etkin genlerin belirlenmesi gerekmektedir. Bu sayede virülene popülasyon oluşumunu engelleyebilecek veya virülene popülasyonun oluşturduğu zararı azaltabilecek yeni dayanıklı hatlar oluşturulabilir. Pyramiding yöntemi nematod mücadelesinde oldukça etkin gözükmekte ve gelecek vaad eden yöntemlerden biridir. Alternatif gen rotasyonu karışık ekim-dikim ile karşılaştırıldığında daha efektif olduğu görülmektedir. Karışık ekim-dikim yönteminde bazı sorunlar olduğu görülürken entegre mücadele içerisinde yer bulacağı düşünülmektedir. Virülensliğin düşürülmesi için alternatif gen rotasyonu ile karışık ekim dikim hassas çeşitlerle reaksiyona sokulabilir ve ürün rotasyon sistemleri oluşturulabilir. Dayanıklılık geni tespit edilmiş ürünlerde tolerant çeşitlerle rotasyon sistemleri belirlenebilir. Tohum piyasası da tek gen üzerine yoğunlaşmamalı, piyasa da aynı anda farklı gen taşıyan bitkilerden de olmalıdır.

## KAYNAKLAR

- [1] Ammati, M., Thomason, I.J., and McKinney H.E.. 1986. Retention of resistance to *Meloidogyne incognita* in Lycopersicon genotypes at high soil temperature. Journal of Nematology, 18:491-495.
- [2] Ammiraju, J.S., Veremis, J.C., Huang, X., Roberts, P.A. and Kaloshian, I. 2003. The heat-stable root-knot nematode resistance gene *Mi-9* from *Lycopersicon peruvianum* is localized on the short arm of chromosome 6. Theor. Appl. Genet, 106:478-484.
- [3] Anwar, S.A., and McKenry, M.V. 2002. Developmental response of a resistance-breaking population of *Meloidogyne arenaria* on *Vitis* spp. Journal of Nematology, 4: 28-33.
- [4] Anthony, F., Topart, P., Martinez, A., Silva, M., and Nicole, M. 2005. Hypersensitive-like reactions conferred by the *Mex-1* resistance gene against *Meloidogyne exigua* in coffee. Plant Pathology 54: 476-482.
- [5] Bailey, D.M., 1941. The seedling test method for root-knot nematode resistance. Proceedings of the American Society of Horticultural Science, 38: 573-575.
- [6] Bakker, J., Folkertsma, R.T., Rouppe van der Voort, J.N.A.Y., de Boer, J., and Gommers, F.J. 1993. Changing concepts and molecular approaches in the management of virulence genes in potato cyst nematodes. Annu. Rev. Phytopathology, 31: 169-190.
- [7] Barloy, D., Lemoine, J., Abelard, P., Tanguy, A.M., Rivoal, R. and Jahier, J. 2007. Marker-assisted pyramiding of two cereal cyst nematode resistance genes from *Aegilops variabilis* in wheat. Molecular Breeding, 20(1): 31-40.
- [8] Bleve-Zacheo, T., Bongiovanni, M., Melillo, M.T. and Castagnone-Sereno, P. 1998. The pepper resistance genes *Me1* and *Me3* induce differential penetration rates and temporal sequences of root cell ultrastructural changes upon nematode infection. Plant Science, 133: 79-90.
- [9] Bird, D.McK. and Kaloshian, I. 2003. Are roots special? Nematodes have their say. Physiological and Molecular Plant Pathology, 62: 115-123.
- [10] Bloak, V.C., Jones, J.T., Phillips, M.S., and Trudgill,



- D.L. 2008. Parasitism genes and host range disparities in biotrophic nematodes: the conundrum of polyphagy versus specialisation. *BioEssays*, 30: 249–259.
- [11] Brito, J.A. Stanley, J.D., Kaur, R., Cetintas, R., Di Vito, M., Thies, J.A. and Dickson, D.W. 2007. Effects of the *Mi-1*, *N* and *Tabasco* Genes on Infection and Reproduction of *Meloidogyne mayaguensis* on Tomato and Pepper Genotypes *J Nematology*, 39(4): 327–332.
- [12] Bottrell, D.R. 1979. Integrated pest management. Washington, D.C.: United States Government Printing Office.
- [13] Boerma, H.R., and Hussey, R.S., 1992. Breeding Plants for Resistance to Nematodes. *Journal of Nematology*, 24 (2): 242-252.
- [14] Bradley, E.B., and Duffy, M. 1982. The value of plant resistance to soybean cyst nematode: A case study of Forrest soybeans. Report No. AGES820929. Natural Resources Economic Division, United States Department of Agriculture.
- [15] Brown, R.A. 1981. Nematode diseases. In: Economic importance and biology of cereal root diseases in Australia. Report to Plant Pathology Subcommittee of Standing Committee on Agriculture, Australia.
- [16] Carter, W. W. 1982. Influence of soil temperature on *Meloidogyne incognita* resistant and susceptible cotton, *Gossypium hirsutum*. *Nematology*, 14: 343-346.
- [17] Canto-Sáenz, M. 1985. The nature of resistance to *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) chitwood, 1949. In: An advanced treatise on *Meloidogyne*. In: Sasser JN, Carter CC, editors. *Biology and Control*. North Carolina State University Graphics; Raleigh, NC, USA: 1985. pp. 225–231.
- [18] Castagnone-Sereno, P., Bongiovanni, M. and Dalmasso, A. 1993. Stable virulence against the tomato resistance *Mi* gene in the parthenogenetic root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Genetics*, 83: 803–805.
- [19] Castagnone-Sereno P., Esparrago, G., Abad, P., Leroy, F., and Bongiovanni, M. 1995. Satellite DNA as a target for PCR-specific detection of the plant-parasitic nematode *Meloidogyne hapla* *Current Genetics*, 28( 6): 566–570.
- [20] Castagnone-Sereno, P., Bongiovanni M., Palloix A., and Dalmasso, A. 1996. Selection for *Meloidogyne incognita* virulence against resistance genes from tomato and pepper and specificity of the virulence/resistance determinants. *Eur. J. Plant. Pathology*, 102: 585-590.
- [21] Castagnone-Sereno, P., Bongiovanni, M., and Djian-Caporalino, C. 2001. New data on the specificity of the root-knot nematode resistance genes *Me1* and *Me3* in pepper. *Plant Breeding*, 120:429-433.
- [22] Castagnone-Sereno, P. 2002. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes? *Euphytica*, 124:193–199.
- [23] Castagnone-Sereno, 2006. Genetic variability and adaptive evolution in parthenogenetic root-knot nematodes. *Heredity*, 96(4):282-289.
- [24] Chen, P., and Roberts, P.A. 2003a. Virulence in *Meloidogyne hapla* differentiated by resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Nematology*, 5: 39–47.
- [25] Chen, P., and Roberts, P.A. 2003b. Genetic analysis of (a)virulence in *Meloidogyne hapla* to resistance in bean (*Phaseolus vulgaris*). *Nematology*, 5: 687–697.
- [26] Chitwood, D.J. 2003. Nematicides. In *Encyclopedia of Agrochemicals*, Volume 3. Edited by Plimmer JR. New York: John Wiley & Sons, 1104–1115.
- [27] Cook, R., and Noel, G.R., 2002. Cyst nematodes: *Globodera* and *Heterodera* species. Starr, J.L., Cook, R. and Bridge, J. (eds) *Plant Resistance to Parasitic Nematodes*. CAB International, Wallingford, UK, 71–105.
- [28] Cook, R., and Starr, J.L., 2006. Resistant cultivars. In: Perry, R.N. and Moens, M. (eds) *Plant Nematology*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 370–391.
- [29] Consortium, REX, 2012. Heterogeneity of selection and the evolution of resistance. *Trends Ecol Evolution*, 28: 110–118.
- [30] Das, S., DeMason, D.A., Ehlers, J.D., Close, T.J., and Roberts, P.A. 2008. Histological characterization of root-knot nematode resistance in cowpea and its relation to reactive oxygen species modulation. *Journal of Experimental Botany*, 59: 1305–1313.
- [31] Devran, Z., and Söğüt, M.A. 2010. Occurrence of virulent root knot nematode populations on tomatoes bearing the *Mi* gene in protected vegetable growing areas of Turkey. *Phytoparasitica*, 38: 245-251.
- [32] Djian-Caporalino, C., Molinari, S., Palloix, A., Ciancio, A., Fazari, A., Marteu, N., Ris, N., and Castagnone-Sereno, P. 2011. The reproductive potential of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* is affected by selection for virulence against major resistance genes from tomato and pepper. *Eur J Plant Pathology*, 131:431–440.
- [33] Djian-Caporalino, C., Palloix, A., Fazari, A., Marteu, N., Barbary, A., Abad, P., Sage-Palloix, A.M., Mateille, T., Risso, S., Lanza, R., Taussig, C., and Castagnone-Sereno, P. 2014. Pyramiding, alternating or mixing cooperative performances of deployment strategies of nematode resistance genes to promote plant resistance efficiency and durability. *Biomedcentral Plant Biology*, 14-53.
- [34] Dong, K., and Opperman, C.H. 1997. Genetic analysis of parasitism in the soybean cyst nematode *Heterodera glycines*. *Genetics*, 146:1311-1318.
- [35] Eddaoudi, M., Ammati, M. and Rammah, A. 1997. Identification of resistance-breaking populations of *Meloidogyne* on tomatoes in Morocco and their effect on new sources of resistance. *Fundamental and Applied Nematology*, 20: 285-289.
- [36] Finckh, M.R., Gacek, E.S., Goyeau, H., Lannou, C., Merz, V., Munk, L., Nadziak, J., Newton, A.C., Valloville-Pope, C., and Wolfe, M.S. 2000. Cereal variety and species mixtures in practice, with emphasis on disease resistance. *Agronomie*, 20: 813-837.
- [37] Fuller, V.L., Lilley, C.J. and Urwin, P.E. 2008. Nematode resistance. *New Phytology*, 180: 27–44.
- [38] Gallun, R.L. and Khush, G.S. 1980. Genetic factors effecting expression and stability of resistance. In: *Breeding Plants Resistant to Insect*, Wiley New York, pp. 63-85.
- [39] Göze, F.G., 2014. Determination of reaction of Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) populations in some pepper gene resources resistant to nematode. M.Sc. Thesis, Süleyman Demirel University, Graduate School of Natural and Applied Sciences. 112p. Isparta
- [40] Griffin, G.D., and McKenry, M.V. 1989. Susceptibility of Nevada Synthetic XX germplasm to a California race of *Meloidogyne hapla*. *Journal of Nematology*, 21: 292-293.
- [41] Handoo, Z.A. 1998. Plant-parasitic nematodes. <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm>
- [42] Hittalmani, S., Parco, A., Mew, T.V., Zeigler, R.S., and Huang, N. 2000. Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice *Theoretical and Applied Genetics*, 100(7):

1121–1128.

[43] Ho, J.Y., Weide, R., Ma, H.M., Wordragen, M.F., Lambert, K.N., Koorneef, M., Zabel, P. and Williamson, V.M. 1992. The root-knot nematode resistance gene (*Mi*) in tomato: Construction of a molecular linkage map and identification of dominant cDNA markers in resistant genotypes. *The Plant Journal*, 2: 971–982.

[44] Holtzman, O. 1965. Effects of soil temperature on resistance of tomato to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Phytopathology*, 55: 990-992.

[45] Huang, N., Angeles, E.R., Domingo, J., Magpantay, G., Singh, S., Zhang, G., Kumaravivel, N., Bennett, J. and Khush, G.S. 1997. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker assisted selection using RFLP and PCR. *Theoretical Applied Genetic*, 95: 313-320.

[46] Hussey, R.S. and Boerma, H.R. 1981. A Greenhouse Screening Procedure For Root-Knot Nematode Resistance In Soybeans. *Crop Science*, 21: 794-796.

[47] Jacquet, M., Bongiovanni, M., Martinez, M., Verschave, P., Wajnberg, E. and Castagnone-Sereno, P. 2005. Variation in resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in tomato genotypes bearing the *Mi* gene. *Plant Pathology*, 54(2): 93–99.

[48] Janssen, G.J.W., Van Norel, A., Janssen, R., and Hoogendoorn, J. 1997. Dominant and additive resistance to the root-knot nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax* in Central American *Solanum* species. *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 692–700.

[49] Jung, C., and Wyss, W. 1999. New approaches to control plant parasitic nematodes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51: 439–446.

[50] Lange, W., Muller, J. and de Bock, Th.S.M. 1993. Virulence in the beet cyst nematode (*Heterodera schachtii*) versus some alien genes for resistance in beet. *Fundam. Appl. Nematology*, 16: 447-454.

[51] Lasserre, F., Gigault, F., Gauthier, J.P., Henry, J.P., Sandmeier, M., and Rivoal, R. 1996. Genetic variation in natural populations of the cereal cyst nematode (*Heterodera avenae* Woll.) submitted to resistant and susceptible cultivars of cereals. *Theoretical and Applied Genetics*, 93: 1–8.

[52] Marques De Carvalho, L., Benda, N. D., Vaughan, M.M., Cabrera, A.R., Hung, K., Cox, T., Abdo, Z., Allen, L.H. and Teal, P.E.A. 2015. *Mi-1*-Mediated Nematode Resistance in Tomatoes is Broken by Short-Term Heat Stress but Recovers Over Time. *Journal of Nematology*, 47(2):133–140.

[53] Mojtahedi, H., Brown, C.R., Riga, E., and Zhang, L.H. 2007. A new pathotype of *Meloidogyne chitwoodi* Race 1 from Washington State. *Plant Disease*, 91: 1051.

[54] Molinari, S., Miacola, C. 1997. Interactions between resistant tomato cultivars and *Meloidogyne* spp. in vitro. *Nematologia Mediterranea*, 25: 63-71.

[55] Molinari, S. and Caradonna, S. 2003. Reproduction of natural and selected resistance-breaking *Meloidogyne* populations on near-isogenic tomato lines *Nematologia Mediterranea*, 31: 181-185.

[56] Nelson, S.C., Simpson, C.E., and Starr, J.L. 1989. Resistance to *Meloidogyne arenaria* in *Arachis* spp. germplasm. *Journal of Nematology*, 21: 654–660.

[57] Nicol, J.M., Turner, S.J., Coyne, D.L., den Nijs, L., Hockland, S. and Tahna Maa, Z. 2011. Current nematode threats to world agriculture. In: Jones, J., Gheysen, G. and Fenoll, C. (eds) *Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions*. Springer, Dordrecht, the Netherlands, pp. 21–43.

[58] Omwega, C.O., Thomason, I.J. and Roberts, P.A. 1990. Effect of temperature on expression of resistance of *Meloidogyne* spp. In common bean (*Phaseolus vulgaris*). *J Nematology*, 22: 466.

[59] Omwega, C.O. and Roberts, P.A. 1992. Inheritance of resistance of *Meloidogyne* spp. in common bean and the genetic basis of its sensitivity to temperature. *Theoretical and Applied Genetics*, 83: 720-726.

[60] Ornat, C., Verdejo-Lucas, S. and Sorribas, F.J. 2001. A population of *Meloidogyne javanica* in Spain virulent to the *Mi* resistance gene in tomato. *Plant Disease*, 85: 271-276.

[61] Petrillo, M.D., and Roberts, P.A. 2005a. Isofemale line analysis of *Meloidogyne incognita* virulence to cowpearesistance gene *Rk*. *Journal of Nematology*, 37: 448–456.

[62] Petrillo, M.D., and Roberts, P.A. 2005b. Fitness of virulent *Meloidogyne incognita* isolates on susceptible and resistant cowpea. *Journal of Nematology*, 37: 457–466.

[63] Petrillo, M.D., Matthews, W.C., and Roberts, P.A. 2006. Dynamics of *Meloidogyne incognita* virulence to resistance genes *Rk* and *Rk2* in cowpea. *Journal of Nematology*, 38: 90–96.

[64] Potenza, C. L., Thomas, S. H. Higgins, E. A. and SenguptaGopalan, C. 1996. Early root response to *Meloidogyne incognita* in resistant and susceptible alfalfa cultivars. *Journal of Nematology*, 28: 475–484.

[65] Roberts, P.A. 1992. Current status of the availability development and use of host plant resistance to nematodes. *Journal of Nematology*, 24: 213-227.

[66] Roberts, P. A., C. A. Frate, W. C. Matthews, and P. P. Osterli. 1995. Interactions of virulent *Meloidogyne incognita* and *Fusarium wilt* on resistant cowpea genotypes. *Phytopathology*, 85: 1288.

[67] Roberts, P.A. 2002. Concepts and consequences of resistance. In: Starr, J.L., Cook, R. and Bridge, J.(eds) *Plant Resistance to Parasitic Nematodes*. CABI, Wallingford, UK, pp.23–41.

[68] Sasser, J.N, and Freckman, D.W. 1987. A world perspective on nematology: the role of the society. In: Veech JA, Dickson DW (eds) *Vistas on nematology*. Society of Nematologists Inc., Hyattsville,7–14.

[69] Simon, P.W., Matthews, W.C., and Roberts, P.A. 2000. Evidence for simply inherited dominant resistance to *Meloidogyne javanica* in carrot. *Theor Appl Genetics*, 100:735–742.

[70] Simpson, C.E., and Starr, J.L. 2001. Registration of ‘COAN’ peanut. *Crop Science*, 41: 918.

[71] Smith, P.G. 1944. Embryo culture of a tomato species hybrid. *Proceedings of the American Society of Horticultural Science*, 44: 413–416.

[72] Sorribas, F.J., Ornat, C., Verdejo-Lucas, S., Galeano, M., and Valero, J. 2005. Effectiveness and profitability of the *Mi* resistant tomatoes to control root-knot nematodes. *European Journal of Plant Pathology*, 111: 29–38.

[73] Starr, J.L., Bridge, J., and Cook, R. 2002. Resistance to plant-parasitic nematodes: History, current use and future potential. In: *Plant Resistance to Parasitic Nematodes* (Starr JL, Cook R, Bridge J, eds), pp. 1-22. Oxford: CAB International.

[74] Starr, J.L., and Roberts, P.A. 2004. Resistance to plant-parasitic nematodes. In: Chen, Z.X., Chen, S.Y. and Dickson, D.W. (eds) *Nematology, Advances and Perspectives*. Vol. 2. *Nematode Management and Utilization*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 879–907.

[75] Thies, J.A., Mueller, J.D., and Fery, R.L. 1998. Use

of a resistant pepper as a rotational crop to manage southern root-knot nematode. HortScience, 33: 716–718.

[76] Thies, J. A. 2011. Virulence of *Meloidogyne incognita* to expression of *N* gene in pepper. Journal of Nematology, 43 (2): 90-94.

[77] Turner, S.J. 1990. Annals of applied Biology, 1990 The identification and fitness of virulent potato cyst nematode populations (*Globodera pallida*) selected on resistant *Solanum vernei* hybrids for up to eleven generations, 385-397.

[78] Tzortzakakis, E.A., and Gowen, S.R. 1996. Occurrence of a resistance-breaking pathotype of *Meloidogyne javanica* on tomatoes in Crete, Greece. Fundamental and Applied Nematology, 19: 283-288.

[79] Tzortzakakis, E.A., Trudgill, D. L. and Phillips, M.S. 1998. Evidence for a Dosage Effect of the *Mi* gene on Partially Virulent Isolates of *Meloidogyne javanica*. Journal of Nematology, 30(1): 76–80.

[80] Tzortzakakis, E.A., Adam, M.A.M., Blok, V.C., Paraskevopoulos, C., and Bourtzis, K. 2005. Occurrence of resistance-breaking populations of root-knot nematodes on tomato in Greece. European Journal of Plant Pathology, 113: 101-105.

[81] Tzortzakakis, E.A., and Blok, V.C. 2007 Differentiation in two populations of *Meloidogyne incognita* from Greece in relation to reproduction on resistant tomato

and pepper. Journal of Plant Diseases and Protection, 114 (6): 276- 277.

[82] Wallace, H.R. 1965. The ecology and control of the cereal root nematode. Journal of the Australian Institute of Agricultural Science, 31: 178–186.

[83] Werner, K., Friedt, W., and Ordon, F. 2005. Strategies for pyramiding resistance genes against the barley yellow mosaic virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2). Molecular Breeding, 16: 45-55.

[84] Williamson, V.M. 1999. Plant nematode resistance genes. Current Opinion in Plant Biology, 2: 327-331.

[85] Williamson, V.M., and Kumar. A. 2006. Nematode resistance in plants: the battle underground. Trends Genet., 22: 396–403.

[86] Williamson, V.M., and Roberts, P.A. 2009. Mechanisms and Genetics of Resistance. Root-knot Nematodes (Eds) Perry, R.N., Moens M., Starr, J.L., CAB International, 301-319.

[87] Zhu, Y., Chen, H., Fan, J., Wang, Y., Li, Y., Chen, J., Fan, J.X., Yang, S., Hu, L., Leung, H., Mew, T.W., Teng, P.S, Wang, Z., and Mundt, C.C. 2000. Genetic diversity and disease control in rice. Nature, 406:718–722.



## Türkiye Organik Bitkisel Üretim Verileri ve Değerlendirilmesi

Mesude Ünal\* Bahar Aydın Can<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi Arslanbey Meslek Yüksek Okulu, Organik Tarım Programı, Kocaeli

<sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi Arslanbey Meslek Yüksek Okulu, Pazarlama Programı

\*Sorumlu Yazar:

E-posta:mesudeun@kocaeli.edu.tr

Geliş Tarihi : 02 Mayıs 2018

Kabul Tarihi: 24 Ekim 2018

### Özet

Organik tarım, doğal kaynakların aşırı tüketimi, girdilerin yoğun kullanımı sonucu oluşan tehditleri ortadan kaldırmak için uygulamaya başlanan bir tarımsal üretim şeklidir. Çalışmada; Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü'nün verilerinden yararlanılarak organik tarımın Türkiye genelindeki, ürün sayısı, üretim alanı ve miktarı, organik üretimde yapılan desteklemeler, sertifikasyon kuruluşları, ihracat, ithalat ürünleri ve organik pazarların durumu incelenmiştir. Organik üretimde 2002 yılında 150 olan ürün sayısı, 2016 yılında 225'e çıkmıştır. 2002 yılında 12,428 üretici organik tarım yaparken 2016 yılında bu rakam 45,991 olmuştur. Türkiye 2002 yılında 89,827 ha alanda, 310,125 ton üretim miktarına sahipken 2016 yılında 379,042 ha alanda 1,627,106 ton üretim miktarına ulaşmıştır. 2017 yılında organik olarak üretilen meyve sebze dekara 100 TL, ekonomik değeri olan tarla bitkileri dekara 30 TL olarak desteklenmiştir. 2016 yılı verilerine göre, fındık ve ürünleri, incir ve ürünleri, kuru üzüm, kayısı ve ürünleri gibi geleneksel ürünlerimiz en çok ihracatı yapılan ürünlerdir. 2016 yılında soya fasulyesi, buğday, ayçiçeği ve ürünleri, mısır en çok ithalatı yapılan ürünlerdir. Türkiye'de ilk olarak 2006 yılında İstanbul ili Şişli ilçesinde kurulan ve son olarak 2016 yılında Kocaeli ili İzmit ilçesinde kurulan toplam 18 organik pazar faaliyet göstermektedir.

Çalışmanın amacı; Türkiye'de organik bitkisel üretimin başlangıcından bugüne kadar mevcut durumunu ortaya koymak ve gelişimi için öneriler getirmektir.

**Anahtar Kelimeler:** Organik Tarım, Bitkisel Üretim, Üretici, Destekleme.

## Organic Plant Production Data and Evaluation in Turkey

### Abstract

Organic farming is a form of agricultural production put into practice in order to eliminate the threats posed by the overconsumption of natural resources and the extensive use of inputs. This study analyzes the current situation of organic farming in Turkey, number of products by years, production areas, amount, organic production supports, certification bodies, imported and exported organic plant products and organic farmers' markets' situation by years based on the data of the General Directorate of Plant Production. The number of products increased from 150 in 2002 to 225 in 2016. Likewise, the number of organic farmers increased from 12,428 in 2002 to 45,991 in 2016. In 2002, the amount of production and the surface area of production were 310,125 tons and 89,827 ha, respectively. In 2016, however, the amount of production and the surface area of production increased to 1,627,106 tons and 379,042 ha, respectively. In 2017, the amount of financial support was 100 Turkish Liras per decare for organic fruits and vegetables and 30 Turkish Liras per decare for field crops. According to the data of 2016, the top export products were traditional products like hazelnut and products, fig and products, raisin, apricot and products, and the top import products were soybean, wheat, sunflower and sunflower products, and corn. There are 18 organic farmers' markets in Turkey, including the first organic farmers' market of Turkey established in Şişli district of Istanbul province in 2006 and the last organic farmers' market of Turkey established in İzmit district of Kocaeli province in 2016.

The purpose of this study is to present the situation of organic plant production in Turkey to date and make suggestions for its development.

**Keywords:** Organic farming, plant production, producer, support

## GİRİŞ

Organik tarım; Organik Tarım Kanunu ve Organik Tarımın Esasları ve Uygulamasına İlişkin Yönetmelikte belirtildiği gibi, bitkisel üretimde kimyasal ilaç ve gübre kullanımını yasaklayan doğal kaynaklı olan, kimyasal işlem görmemiş maddelerin kullanımına izin veren ve sürekli denetlenen tarımsal üretim biçimidir. Toprağın ve bitkinin ihtiyaç duyduğu kadar organik gübre kullanılması, ilaçlamada önceliğin pasif bitki koruma yöntemlerine verilmesi (ekim nöbeti, sağlıklı, hastalık ve zararlılara dayanıklı tohum, fide, fidan kullanmak, ekim ve dikimde, sıra arası sıra üzeri mesafelerin arttırılması) gibi organik tarım metotları ile üretim yapılması ve doğal kaynaklarının korunması için çevreye zarar vermeyen tarımsal teknolojilerin kullanılması, sürdürülebilirliğin güvencesidir. Organik tarımın en önemli amaçlarından biri toprak canlılığının korunması ve verimliliğinin sürdürülebilir olmasıdır. Organik tarım tekniklerinin özendirilmesi sonucunda; tarımsal faaliyetlerden kaynaklanan kirlilik önlenecek ve doğal ekosistemler, kıyıları, koyular, akarsu havzaları, göl ve göletler, sulak alanlar korunabilecektir [2,9,13]. Organik tarımın ilk aşaması olan geçiş süreci

üreticiler için zor atlatılmaktadır. Bu dönemde kimyasal ilaç ve gübre kullanımı yasak olduğundan ve üretim sistemi değiştiği için verimde düşüşler olmaktadır. Yeni sisteme geçiş yapmak bir çiftçilik sisteminden vazgeçmek üreticiler için kolay değildir [1,9].

Organik üretimi artırmanın yollarından biri; üreticilerin zorlandığı geçiş süreci dönemini üreticilere iyi kavratmak geçiş süreci boyunca ürün veriminde, toprakta ve doğal ortamda olabilecek değişimleri belirtmektir. Aynı zamanda bu dönemde üreticinin bilgi ve ekonomik açıdan daha çok desteklenmesi sağlanmalıdır.

Türkiye'de organik tarım üreticilerle Avrupalı ithalatçılar arasında yapılan sözleşmelerle 1984-1985 döneminde başlamıştır. Organik tarımsal üretimde ilk olarak geleneksel ürün olan kuru üzüm ve incir ihracatı yapılmış, 1990 yılına kadar organik tarımı yapılan ürün sayısı sekiz olmuştur [9,12].

Türkiye'de organik tarım yasal açıdan üç farklı dönemde incelenebilir. 1984-1993 döneminde bir ulusal hukuki düzenleme bulunmamaktadır. Bu dönemde organik üretim ithalatçı ülkelerin yönetmeliklerine göre yürütülmüştür. 1994-2002 döneminde yönetmelik düzeyinde

yasal düzenlemeler yapılmış faaliyetler komiteler aracılığıyla yürütülmüştür. Bu dönemde organik üretim faaliyetleri Ege Bölgesinde gelişmeye devam etmiştir. 2003--Bu dönemde organik üretim yasal dayanağa kavuşmuştur. 3 Aralık 2004 'de Organik Tarım Kanunu çıkmış, 10 Haziran 2005'te ise Organik Tarımın Esasları ve Uygulanmasına İlişkin Yönetmelik yürürlüğe girmiştir. [9].

Bu çalışmanın amacı; Türkiye'de organik bitkisel üretimin yıllara göre mevcut durumunu ortaya koymak ve gelişimi için öneriler getirmektir.

## MATERYAL METOT

Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü'nün Türkiye'de ürün sayısı, üretim alanları, üretim miktarı, organik üretimde yapılan desteklemeler, sertifikasyon kuruluşları, organik bitkisel üretim ihracat, ithalat ürünleri ve organik

pazarların durumu verileri yıllara göre incelenmiştir. Veriler diğer kaynaklarla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonuçlarına göre çözüm önerileri getirilmeye çalışılmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

Organik ve Geçiş Süreci Ürünü Bitkisel Üretim Verileri Türkiye'de 2016 yılı verilerine göre organik tarım yapılan alan, toplam tarım alanı içinde %2'lik kısmı oluşturmaktadır [4]. Bu oranın 2020 yılında %8 olması hedeflenmektedir [9]. Tablo 1'de organik tarıma geçiş süreci üretim verileri bulunmaktadır.

**Tablo 1.** Organik tarım geçiş süreci üretim verileri [4]

Yıllar	Çiftçi sayısı	Yetiştiricilik yapılan alan (ha)	Doğal toplama Alanı (ha)	Toplam üretim alanı (ha)	İndeks (2003=100)	Üretim miktarı (ton)	İndeks (2003=100)
2003	1.754	10.331	100	10.431	100	32.105	100
2004	3.437	47.380		47.380	454	98.890	308
2005	4.974	28.737		28.737	275	132.852	413
2006	5.602	30.657		30.657	293	148.574	462
2007	5.723	38.780	144	38.924	373	136.925	426
2008	5.542	24.967	164	25.131	240	114.844	357
2009	24.354	251.899	20	251.919	2.415	665.550	2.073
2010	30.918	318.248		318.248	3.050	1.012.375	3.153
2011	26.818	289.173		289.173	2.772	1.019.732	3.176
2012	30.229	303.502	510	304.012	2.914	873.755	2.721
2013	34.616	210.168	9	210.177	2.014	697.763	2.173
2014	37.734	181.409		181.409	1.739	576.668	1.796
2015	33.235	166.205		166.205	1.593	665.089	2.071
2016	21.887	144.735	0	144.735	1.387	846.493	2.636

Geçiş süreci ile ilgili kurallar organik tarım kanunu ve organik tarımın esasları ve uygulanmasına ilişkin yönetmelik [3]. de belirtilmiştir. Organik bitkisel ürünler için tek yıllık bitkilerde ekim tarihinden itibaren en az iki yıl, çok yıllık bitkilerde ise ilk organik ürün hasadından önce üç yıllık geçiş sürecinin uygulanması gerekir. Kontrol ve sertifikasyon kuruluşu arazi incelemesi sonucu geçiş sürecini uzatabilir ya da kısaltabilir. Geçiş süreci tek yıllık bitkilerde 12 ay, çok yıllık bitkilerde 24 aydan daha az uygulanmaz. Tablo 2'yi incelediğimizde 2003 yılında 1.754 çiftçi 10.331 ha. alanda yetiştiricilik yaparken, 2016 yılında rakam artarak 21.887 çiftçi olmuş ve üretim yapılan alan 144.735 ha'a çıkmıştır. Doğal toplama alanını da dikkate alarak, toplam üretim alanını incelediğimizde 2003 yılında 10.431 ha alanda 32.105 ton, 2016 yılında 144.735 ha. toplam üretim alanından 846.493 ton geçiş süreci ürünü elde edilmiştir. [14], yaptıkları çalışmada Kocaeli İlinde geçiş sürecini incelemişler sonuçta, organik üretim yapmak için girişimde

bulunan üreticilerin tamamının organik üretime devam edemediklerini, bir kısmının geçiş sürecinde organik üretimi bıraktığını bildirmişlerdir. Üreticiler; pazarlama, mali desteğin olmaması, verimde düşüşlerin olması, maliyetlerin kontrol ve sertifikasyon ücretleri ile arttığı ve yeni tarımsal sisteme ayak uyduramama sorunları yaşamaktadırlar. Geçiş süreci, yapılan bilimsel çalışmalarla da desteklendiği üzere toprak yapısının iyileştiği, organik madde miktarının ve bitki besin elementlerinin doğru toprak yönetimi ile arttığı, üreticinin yeni sisteme alıştığı bir dönemdir. Bu dönemde üreticilere; bilgi desteği verilmesi, mali destek sağlanması, pazar sorunlarının çözümü için organik pazar kurulması ve tüketicileri geçiş süreci ürünü hakkında bilgilendirerek iç talebin artmasının sağlanması gerekmektedir.

**Tablo 2.** Organik tarım bitkisel üretim verileri [4].

Yıllar	Ürün sayısı	Çiftçi sayısı	Yetiştiricilik yapılan alan (ha)	Doğal toplama alanı (ha)	Toplam üretim alanı (ha)	İndeks (2002=100)	Üretim miktarı (ton)	İndeks (2002=100)
2002	150	12.428	57.365	32.462	89.827	100	310.125	100
2003	179	13.044	63.037	40.153	103.190	114	291.876	94
2004	174	9.314	61.218	100.975	162.193	180	278.726	89
2005	205	9.427	64.396	110.677	175.073	194	289.082	93
2006	203	8.654	69.617	92.514	162.131	180	309.522	99
2007	201	10.553	85.483	49.877	135.360	150	431.203	139
2008	247	9.384	84.420	57.332	141.752	157	415.380	133
2009	212	11.211	73.932	175.790	249.722	278	318.165	102
2010	216	11.179	65.534	126.251	191.785	213	331.361	106
2011	225	15.642	153.408	172.037	325.445	362	639.811	206
2012	204	24.406	220.125	178.772	398.897	444	876.372	282
2013	213	26.181	251.228	307.610	558.838	622	922.624	297
2014	208	33.738	310.568	350.239	660.807	735	1.065.567	343
2015	197	36.732	319.864	29.199	349.063	388	1.164.202	375
2016	225	45.991	344.936	34.105	379.042	421	1.627.106	524

Tablo 2’de 2002-2016 yıllarında Türkiye’deki organik tarım bitkisel üretim verileri verilmiştir. Tabloyu incelediğimizde, 2002 yılında 150 olan ürün sayısı, 2016 yılında 225’e çıkmıştır. Ancak ürün sayısı yıllara göre düzenli bir şekilde artmamıştır. 2008 yılında 247 olan ürün sayısı 2009 yılında 212’ye düşmüştür. 2002 yılında, 12.428 çiftçi organik üretim yaparken 2016 yılında bu sayı 45.991’e çıkmıştır. Yine yıllara göre çiftçi sayılarında da düzenli bir artış yoktur. Bazı yıllar artarken, bazı yıllar azalmıştır. 2007 yılında 10.553 olan çiftçi sayısı 2008 yılında 9.384’e düşmüştür. Yıllara göre ürün ve üretici sayılarında olan dalgalanmalar çeşitli faktörlere bağlanabilir. Üreticiler, küçük alanlarda organik üretim yaptığı için kontrol ve sertifikasyon ücretleri maliyetli gelebilir. Üreticiler, organik tarım metotları, organik tarımın amaç ve felsefesi konusunda yeterince bilgi sahibi değildirler. Üreticiye desteklemelerle sağlanan maddi imkanlar yetersiz olabilir [6].

Türkiye’de 2002 yılında 57.365 ha. alanda yetiştiricilik yapılırken 2016 yılında 344.936 ha. alanda organik bitkisel

üretim yapılmıştır. Yetiştiricilik yapılan alan 2008 yılında 84.420 ha. iken 2009 yılında 73.932 ha.’a düşmüştür. Ancak 2010 yılından 2016 yılına kadar üretim alanı artmıştır. 2002 yılında 32.462 ha. doğal toplama alanı varken 2016 yılında 34.105 ha. ‘a çıkmıştır. Ancak doğal toplama alanları yıllara göre büyük farklılıklar göstermektedir. 2009 yılında 175.790 ha. alanda doğadan toplama olurken, 2010 yılında bu rakam 126.251 ha’a düşmüş, 2014 yılında 350.239 ha’a çıkmıştır. 2015 yılında 26.199 ha’a gerilemiştir. Doğadan toplanmanın bilinçsiz yapılması dengesizliğin çıkmasına neden olabilir. Doğadan toplama yapılırken aynı zamanda toplayıcılar koruma konusunda bilgilendirilmelidir. [8], yaptıkları çalışmada salep orkidelerinin Doğu Akdeniz bölgesinde her yıl en az 1000-15000 adet yok olduğunu bildirmişlerdir. 2002 yılında 89.827 ha. toplam üretim alanında 310.125 ton ürün elde edilirken 2016 yılında bu rakam 379.042 ha. toplam üretim alanında 1.627.106 ton üretim miktarına ulaşmıştır. 2002 yılından 2016 yılına kadar üretim miktarı yaklaşık 5 kat artmıştır. Ancak bu artış düzenli bir şekilde gerçekleşmemiştir.

### İhracat ve İthalatı Yapılan Organik Ürün Verileri

**Tablo 3.** 2016 yılında en çok ihracatı yapılan organik ürünler [4].

Ürün	Miktar(Ton)	Tutar(1000\$)	% Ton	%\$
Fındık ve fındık ürünleri	2.466	24.976	14,7	32,1
İncir ve incir ürünleri	3.676	18.666	21,9	24,0
Kuru üzüm	3.393	12.456	20,2	16,0
Kayısı ve kayısı ürünleri	1.845	10.996	11,0	14,1
Meyve ve meyve ürünleri	1.758	6.223	10,5	8,0
Baharatlar	91	766	0,5	1,0
Soya fasulyesi	1.600	680	9,5	0,9
Sebze ve sebze ürünleri	246	587	1,5	0,8
Antep fıstığı	22	493	0,1	0,6
Pamuk ve pamuk ürünleri	46	357	0,3	0,5
Mercimek ve mercimek ürünleri	134	311	0,8	0,4
Susam	52	230	0,3	0,3
Buğday ve buğday ürünleri	610	187	3,6	0,2
Nohut	61	144	0,4	0,2
<b>Toplam</b>	<b>16.001</b>	<b>77.072</b>	<b>95,3</b>	<b>99,1</b>
<b>Genel Toplam (diğerleri dahil)</b>	<b>16.819</b>	<b>77.831</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Tablo 3'te 2016 yılında en çok ihracatı yapılan organik ürünler verilmiştir. Tablo 3'ü incelediğimizde; fındık ve fındık ürünleri, incir ve incir ürünleri, kuru üzüm, kayısı ve kayısı ürünleri, meyve ve meyve ürünleri, baharatlar, soya fasulyesi, sebze ve sebze ürünleri, antep fıstığı, pamuk ve pamuk ürünleri, mercimek ve mercimek ürünleri, susam, buğday ve buğday ürünleri ve nohut olmak üzere toplam 16.001 ton ürün ihraç edilmiş ve toplam 77.070.994,12 \$ gelir elde edilmiştir. [7], bildirdiğine göre 1990'lı yıllarda

kuru üzüm, fındık, pamuk önemli ihraç ürünlerimizdir. Günümüzde taze ve işlenmiş sebze ve meyvelere ek olarak donmuş meyve ve sebzeler, meyve suları konsantrelerinin organik olarak ihraç edildiğini bildirmiştir.

İhracat yaptığımız ülke sayısı 2016 yılında 44 civarında olup, ABD ve Avrupa Topluluğu ülkeleri en önemli ihracat yaptığımız ülkeler konumundadır. Avrupa Topluluğu ülkeleri ve ABD dışında İngiltere, Japonya, Kanada, Avustralya ve KKTC diğer ihracat yaptığımız ülkeler arasında yer almaktadır. [4].

**Tablo 4.** 2016 yılında ithalatı yapılan organik ürünler [4].

Ürün	Miktar (Ton)	İthal edilen ülke
Mısır	365,249	Rusya
Soya fasulyesi (tohumluk olmayan)	174,218	Rusya, Etiyopya, Ukrayna
Buğday	63,701	Rusya, İsrail, Yenizellanda
Ayçiçeği ve ürünleri	40,818	Rusya, Hollanda, Romanya, Almanya
Keten tohumu	4,880	Rusya
Mercimek	4,650	Rusya
Arpa	2,886	Rusya
Gübre (humistar, biogumus)	600	Litvanya
Nohut	478	Rusya
Kuru meyve ( erik, elma hurma)	346	Kırgızistan, İran, Pakistan, Tunus, İngiltere
Çeltik (pirinç)	110	Kırgızistan
Susam (tohum ve yağı)	75	Uganda , Etiyopya
Meyve püresi (kayısı, muz, mango)	45	İspanya
Antep fıstığı	44	Kırgızistan
Fasulye (kuru)	44	Kırgızistan
Meyan kökü	25	Gürcistan
Meyve çeşitleri (vişne, portakal)	42	Almanya,Hollanda
Üzüm (kurutulmuş)	100	ABD, İngiltere
Şehriye	14	İtalya
Hindistan cevizi yağı	7,3	Filipinler
Fındık ezmesi	7	Almanya
Pirinç unu ve nişastası	3,5	Rusya
Tıbbi ıtri bitkiler (karabiber, karahan otu, kekik ,dere otu)	3,2	Almanya, Polonya
Hardal	2,6	Fransa
Bitkisel çay( papatya,nane,adaçayı)	3,3	Almanya
Çörek otu yağı	1	Hindistan
Meyve suyu ( ananas ve çarkıfeleke)	0,4	Hollanda
Yosun tableti	0,40	Çin
Makarna	0,03	İtalya
Kırmızı pancar	0,02	Azor adaları

Tablo 4'te 2016 yılında ithalatı yapılan organik ürünler verilmiştir.

Soya fasulyesi, buğday, ayçiçeği ve ürünleri, mısır, keten tohumu, mercimek, arpa, nohut, kuru meyve, arpa, çeltik, susam, meyve püresi , antep fıstığı, kapari, fasulye, meyan kökü, meyve çeşitleri, üzüm, şehriye, Hindistan cevizi yağı, fındık ezmesi, pirinç unu ve nişastası, tıbbi itri bitkiler, hardal, bitkisel çaylar, çörekotu yağı, meyve suları, yosun tableti, makarna ve kırmızı pancar olmak üzere 2016

yılında 26 ülkeden organik ürün ithal edilmiştir. Rusya'dan 365.249 ton mısır, Rusya Etiyopya , Ukrayna'dan 174.218 ton soya fasulyesi Rusya, İsrail ve Yenizellanda' dan 63.701 ton buğday miktar olarak en fazla ithalatı yapılan ürünlerdir. Ayrıca gıda ithalatı dışında Litvanya'dan 600 ton gübre ithal edilmiştir. Organik üretimde yönetmeliklere uygun girdi temini en önemli parametredir. Türkiye'de organik gübre olarak en çok kullanılan ahır gübresi dışında, ticari organik gübrelerde kullanılabilir.

**Tablo 5.** Yıllar itibariyle organik tarım ihracatı [4].

Yıl	Miktar (ton)	İndeks (1998=100)	Tutar (1000\$)	İndeks (1998=100)
1998	8.617	100	19.371	100
1999	12.050	139	24.564	126
2000	13.129	152	22.756	117
2001	17.556	203	27.242	140
2002	19.183	222	30.877	159
2003	21.083	244	36.933	190
2004	16.093	186	33.076	170
2005	9.319	108	26.230	135
2006	10.374	120	28.237	145
2007	9.347	108	29.359	151
2008	8.629	100	27.260	140
2009	7.566	87	27.505	141
2010	3.593	41	15.880	81
2011	3.371	39	15.529	80
2012	6.258	72	24.704	127
2013	10.495	121	46.020	237
2014	15.553	180	78.780	406
2015	13.549	157	69.230	357
2016	16.819	195	77.831	401

### 3.3. Organik ürün destekleme verileri

Organik üretimde, üreticiler; yeni tarım tekniklerine uyum sağlamanın yanı sıra, kontrol ve sertifikasyon ücreti ödemektedir. Organik tarım yapılan alanların artması devlet desteklerine bağlı olarak gelişebilir. Organik tarım yapan üreticilere, faiz indirimli tarımsal krediler, doğrudan gelir desteği, çevre amaçlı tarımsal arazilerin korunması

programını tercih eden üreticilerin desteklenmesi (ÇATAK) gibi devlet destekleri söz konusudur [10]. Bu desteklerin yanı sıra, organik tarım yapan çiftçilere mazot, gübre ve toprak analizi destekleme ödemesi yapılması 2010/118 sayılı ve 27505 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanarak yürürlüğe girmiştir [11].

**Tablo 6.** 2016 yılı organik bitkisel üretim desteklemeleri [4].

Sıra No	Organik tarım desteği	(TL/da)
1	1.Kategori (meyve-sebze)	100
2	2.Kategori (tıbbi ve itri bitkiler)	70
3	3.Kategori (ekonomik değeri olan tarla bitkileri)	30
4	4.Kategori (ekonomik değeri olmayan tarla bitkileri, orman emsali ürünler ve nadas)	10



**Tablo 7.** 2017 yılı organik bitkisel üretim desteklemeleri [4].

Sıra No	Organik tarım desteği	(TL/da)
1	1.Kategori (meyve-sebze)	100
2	2.Kategori (tıbbi ve itri bitkiler)	70
3	3.Kategori (ekonomik değeri olan tarla bitkileri)	30
4	4.Kategori (Ekonomik değeri olmayan tarla bitkileri, orman emsali ürünler venadas)	10

Tablo 6’te 2016 yılı, Tablo 7’da 2017 yılı organik bitkisel üretim desteklemeleri verilmiştir. Meyve ve sebze 2016 ve 2017 yılında 100 TL/da, tıbbi ve itri bitkiler 70 TL/da, ekonomik değeri olan tarla bitkileri 30 TL/da, ekonomik değeri olmayan tarla bitkileri 10 TL/da desteklenmiştir. Tablo 8’ de alan bazlı destekleri incelediğimizde, 2006 yılında 1.042 müteşebbis, 43.758 da alanda 131.275 TL tutarında desteklenmiştir. 2013 yılından itibaren desteklenen ürün kategorilere ayrılmıştır. 2013 yılında, 26.763 müteşebbis

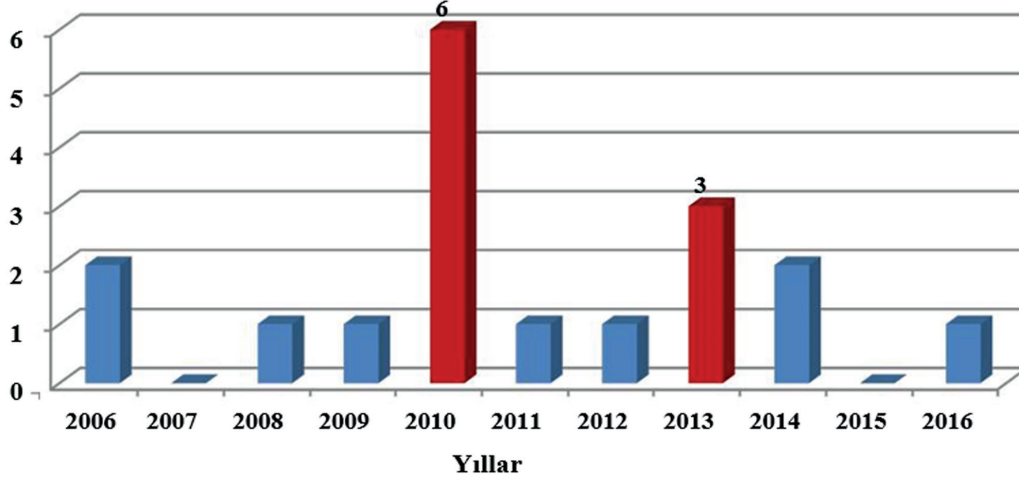
2.515.068 da alanda meyve sebze 35 TL/da, tarla bitkileri 10 TL/da birim fiyatı olmak üzere toplam 37.495.564 TL desteklenmiştir.2016 yılında 27.562 müteşebbis, 2.522.631 da alanda meyve sebze 70 TL/da tarla bitkileri 10 TL/da olmak üzere 57.877.494 TL desteklenmiştir. 2013, 2014, 2015 ve 2016 yılında tarla bitkileri destekleri 10 TL/da olarak kalmakla birlikte 2013 yılında 35 TL/da olan meyve sebze desteği 2014-2015 ve 2016 yıllarında 70 TL/da olmuştur.

**Tablo 8.** Organik tarım destekleri (alan bazlı destekler) [4].

Yıllar	Müteşebbis sayısı	Alan (da)	Destekleme birim fiyatları (TL/da)	Tutar (TL)
2006	1.042	43.758	3	131.275
2007	1.536	117.188	3	351.564
2008	1.615	130.747	5	653.732
2009	5.467	368.581	18	6.634.464
2010	4.976	351.825	20	7.036.497
2011	23.575	2.423.983	25	60.599.577
2012	28.045	2.711.899	25	67.797.484
2013	26.763	2.515.068	Meyve-sebze /35	37.495.564
2014	32.037	2.966.847	Meyve sebze /70	68.354.404
2015	38.778	3.247.585	Meyve sebze /70	87.859.273
2016	27.562	2.522.631	Meyve sebze /70	57.877.494
2017	47.457	3.549.291	4 Kategori	129.114.031

### 3.4. Türkiye'deki organik pazar ve kontrol ve sertifikasyon kuruluşları

#### Yıllar İtibariyle Açılan Organik Pazar Sayıları



Şekil 1. Yıllar itibariyle açılan organik pazar sayıları [4].

Türkiye'de ilk organik pazar 2006 yılında İstanbul Şişli İlçesi'nde açılmıştır. BÜGEM verilerine göre, 2006 yılında İstanbul Şişli ve Bursa Nilüfer olmak üzere 2, 2008 yılında Ankara Çankaya'da, 2009 yılında İstanbul Kartal'da, 2010 yılında İstanbul Beylikdüzü, Kadıköy, Zeytinburnu, Bakırköy, İzmir Bostanlı ve Eskişehir Tepebaşı olmak üzere 6, 2011 yılında Ankara Çayyolu, 2012 yılında Konya Meram, 2013 yılında Balıkesir Burhaniye, Kayseri Talas, İzmir Balçova, 2014 yılında İstanbul Küçükçekmece, Kayseri Kocasinan ve 2016 yılında Kocaeli İzmit olmak üzere toplam 18 adet organik pazar açılmıştır.

Organik pazarların açılması yerel üretici sayısını arttıracaktır. Hatta birbirine yakın pazarların açılması üreticilerin birkaç pazar dolaşarak, ürünlerini satması gelir artışına neden olacaktır. Ünal ve Aydın Can'ın Şişli ve İzmit organik pazarda yaptıkları yayınlanmamış çalışmalarında Şişli'deki üreticilerin bir çoğunun ürününü İzmit pazarına da götürdüğünü böylece satış miktarını arttırdıklarını bildirmişlerdir. Kocaeli İzmit ilçesindeki organik pazar; yerel yönetim, buğday derneği ve Kocaeli ekolojikyaşam derneğinin destekleriyle açılmıştır. [ 5], bildirdiğine göre açılan %100 ekolojik pazarlar, organik ürün çeşitliliğini ve hacmini arttırmış, bunun sonucunda süpermarketlerin ve diğer satış noktalarının organik reyonlarında ürün miktarı ve çeşidi artmıştır.

Organik tarımda müteşebbisin bir yetkili kuruluş ile sözleşme imzalayarak organik üretime başlaması zorunludur. Türkiye'de organik üretim yurtdışından gelen taleple başlaması nedeniyle başlangıçta Türkiye'de kontrol ve sertifikasyon kuruluşu bulunmuyordu. Kontroller yurtdışındaki Kontrol ve Sertifikasyon kuruluşlarında yapıyordu. Her geçen yıl Türkiye'de Kontrol ve Sertifikasyon kuruluşu sayısı artmıştır, [9], bildirdiğine göre, bu sayı 13 iken Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının son verilerine göre Türkiye'de 45 adet kontrol ve sertifikasyon

kuruluşu bulunmaktadır. [15], ECOCERT, ETKO, EKOTAR, ICEA, ORSER, ANADOLU EKOLOJİK ÜRÜNLER KONTROL VE SERTİFİKASYON LTD.ŞTİ. CERES, BİOTEAM bunlardan bazılarıdır.

Organik tarımın esasları ve uygulanmasına ilişkin yönetmeliğin 1. kısım madde 4, O bendine göre, kontrol ve sertifikasyon kuruluşu, organik ürünün veya girdinin, üretiminden tüketiciye ulaşıncaya kadar olan tüm aşamalarını kontrol etmek ve sertifikalandırmak üzere Bakanlık tarafından yetki verilmiş gerçek ve tüzel kişiler olarak tanımlanmıştır.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye'de yıllara göre organik bitkisel üretim verilerini incelediğimiz de artış olmasına rağmen istenilen düzeyde değildir ve % 8'lik organik üretim alanı hedefine ulaşabilmemiz için sorunları tespit edip çözüm önerileri getirmemiz gerekir. Türkiye toprakları organik tarıma uygundur. Türkiye'de kimyasal gübre kullanımı Cumhuriyet'ten sonraki dönemde başlamıştır. Kimyasal gübrelerde yüksek maliyetler özellikle küçük üreticiler açısından gübre kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle; belli alanlarda topraklarımızda çok yoğun girdi kullanılmaması, iklimin uygunluğu ve ürün çeşitliliği açısından avantajlıdır. Aynı zamanda tarımsal nüfusun fazlalığı organik tarımsal üretim ve ihracatında önemli bir potansiyel yaratmaktadır. Organik tarıma yapılan destekler artırılır ve özellikle geçiş süreci döneminde üreticilere; bilgi desteği, mali destek, pazar sorunlarının çözümü için organik pazar sayısının artırılması ve tüketicileri geçiş süreci ürünü hakkında bilgilendirmek gibi işlemler uygulanırsa organik üretime başlamak kolaylaşacaktır.

Organik ürün ithalatı yaptığımız ülkeler hem gelir, hem de eğitim seviyesi yüksek ABD, Avrupa Birliği gibi gelişmiş

ülkelerdir. Organik ürün talebi, sağlıklı beslenme ve çevre bilincine sahip olunması yanında iyi bir ekonomik gelirde gerektirir. Türkiye’de talep eksikliği nedenlerinden biri gelir düzeyi ve konvansiyonel tarıma göre fiyatların %’de 100’e varan oranlarda pahalı olmasıdır. Organik pazarlarda ve organik ürün satan yerlerde fiyat politikası belirlenerek aşırı fiyat artışından kaçınılmak iç talebi arttıracaktır.

Organik tarımda girdi temin edilmesi önemli sorunların başında gelmektedir. Organik gübre temini için hayvancılığımızın gelişmesine yönelik tedbirler alınmalıdır. Hayvancılıkta ekstansif hayvancılıktan gelen (gezinerek beslenme) hayvan gübreleri kullanabileceğimiz için mera alanlarının korunması ayrıca önemlidir.

Organik tarım üreticileri toprak analizi konusunda da desteklenmektedir. Ancak Türkiye’deki toprak analiz laboratuvarlarında sonuçlar daha çok konvansiyonel tarıma göre yapılmakta ve üreticiye kimyasal gübre önerileri yapılmaktadır. Son yıllarda Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’na bağlı İl Müdürlükleri toprak analiz laboratuvarlarında kimyasal gübre önerileri yanında organik gübre önerilerinin de yapılması sevindiricidir.

Organik tarıma başlayacak üreticilerin yeterli bilgi donanımına sahip olmaması sorunu sürekli vurgulanmaktadır. Üreticiler organik tarım konusunda bilgilendirilmelidir. Türkiye’de organik tarım eğitimi Meslek Yüksekokulu düzeyinde yapılmaktadır. Meslek Yüksekokulu mezunu öğrencilerin girişimciğe özendirilmesi organik üretim yapacaklara ilave destekler verilmesi hem gençlerin iş sorununu çözecek, hem de Türkiye’de organik üretim yapılan tarım alanlarını arttıracaktır.

Organik tarımın üreticiler tarafından devam ettirilmesi için minimum girdi temini ve dışarıya bağlı olmamak hedeflerdir. Bu nedenle kapalı sistem olması bitkisel üretim yanında hayvansal üretim yapılması önerilir.

Organik bitkisel üretim yapan üreticilere, sertifikasyon ücretleri ek bir maliyet getirmektedir. Özellikle verimin daha düşük olabileceği ve ürünün pazarlanma sorunu nedeniyle geçiş süresinde bulunan üretici desteklenmelidir. Organik tarımı bireysel değil de birkaç üreticinin bir araya gelerek yapması hatta kooperatifleşmesi sertifikasyon ücretlerinin üreticiye maliyetini azaltacaktır.

Sonuç olarak; organik tarımın yaygınlaşması için, üreticilerin yanında tüketiciler de bilinçlendirilmeli, organik tarımda amacın sadece üretim yapıp, ticari gelir elde etmek değil, doğal kaynakları korumak için de bir güvence olduğu vurgulanmalıdır. Organik üretimde ucuz ve kolay ulaşırlı girdi temini sağlanmalı ve organik tarımsal girişimci adaylarına ve üreticilere verilen destekler artırılmalıdır.

## KAYNAKLAR

- [1] Akgün, T. 2011. Organik tarım. Güney Ege Kalkınma Ajansı. [Online] Available: <http://geka.org.tr/yukleme/dosya/organiktarim.pdf> (28.9.2017)
- [2] Anaç D, Çiçekli M. 2012. Organik tarımda toprak verimliliği ve bitki besleme.(s.45-79). Organik Tarım. Güncellenmiş 2. Baskı. Ankara.
- [3] Anonim, 2010. Organik Tarım Kanunu ve Organik Organik Tarımın Esasları ve Uygulanmasına İlişkin Yönetmelik, Ankara, s.112.
- [4] Anonim, 2017. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü. (BÜGEM). Ankara.
- [5] Ataseven Y, Güneş E. 2008. Türkiye’de İşlenmiş Organik Tarım Ürünleri Üretimi ve Ticaretindeki Gelişmeler, U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 2008, Cilt 22, Sayı 2, 25-33.
- [6] Bayram B, Yolcu H, Aksakal V. 2007. Türkiye’de Organik Tarım ve Sorunları, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 38 (2), 203-206
- [7] Demiryürek, K. 2011. Organik Tarım Kavramı ve Organik Tarımın Dünya ve Türkiye’deki Durumu, GOÜ, Ziraat Fakültesi Dergisi, 28(1), 27-36
- [8] Erzurumlu G.S, Söğütü Z. 2010. Doğadan Bitki Toplayıcıların Salep Orkidelerine Yaklaşımları Üzerine Bir Araştırma,(s.81-85). Türkiye IV.Organik Tarım Sempozyumu 28 Haziran-1 Temmuz Erzurum
- [9] İlbaş, A.İ. 2009. Organik tarım. İlkeler ve Ulusal Mevzuat. Eflatun yayınevi, Ankara, s. 267.
- [10] İpek S, Destekleri,Çil G.Y. 2010.Uluslararası Ticari Boyutuyla Organik Tarım ve Devlet Girişimcilik v e Kalkınma Dergisi (5:1) s.135-162.
- [11] Kızılaslan H, Olgun A. 2012. Türkiye’de Organik Tarım ve Organik Tarıma Verilen Desteklemeler, GOÜ, Ziraat Fakültesi Dergisi, 2012, 29 (1), 1-12
- [12] Rehber, E. 2011. Organik tarım ekonomisi. Ekin basım yayın dağıtım, Bursa, s.295.
- [13] Turhan, Ş. 2005.Tarımda sürdürülebilirlik ve organik tarım. Tarım Ekonomisi Dergisi.11(1):13-24.
- [14] Ünal M, Aydın Can B, Kutlu T. 2016. Organik Tarımda Geçiş Süreci ve Kocaeli İli Örneği. Bilinçli ve Sağlıklı Yaşam Dergisi. Sayı:12, s 49-57.
- [15] [www.tarim.gov.tr](http://www.tarim.gov.tr) erişim tarihi,( 24.10.2017)



## Olgunlaşan Meyvede Dokuyu Düzenleyen Moleküler Mekanizmalar

Selman ULUIŞIK\*

\*Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur Gıda Tarım Ve Hayvancılık Meslek Yüksek Okulu Örtülü Mevkii İstiklal Yerleşkesi, Merkez / Burdur

\*Sorumlu Yazar:

E-posta: suluisik@mehmetakif.edu.tr

Geliş Tarihi : 30 Mayıs 2018

Kabul Tarihi: 28 Ekim 2018

### Özet

Olgunlaşan meyvenin dokusundaki değişimler hasat zamanını, meyvelerin raf ömrünü, patojenlere karşı dayanıklılığını, taşınabilirliğini ve son aşamada ise müşteri tercihini etkilemektedir. Çevresel şartlar ve genetik faktörler dokudaki bu değişimleri simultane bir şekilde etkileyerek meyvelerin raf ömrünü azaltmakta ve ekonomik olarak zarar vermektedir. Son yıllarda gelişen biyoteknoloji ve genetik sayesinde yumuşamaya neden olan etkenler daha iyi anlaşılmalı ve bu etkenleri ortadan kaldırmak ya da etkilerini yavaşlatmak için çalışmalar devam etmektedir. Bu derlemede, hücre duvarı modifikasyonlarında görev alan enzimler ve yumuşamada önemli bir etkiye sahip olan etilen hormonunun meyve dokusu üzerindeki etkileri tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Meyve yumuşaması, raf ömrü, hücre duvarı, enzim, pektin

## Molecular Mechanisms Regulating Texture in Ripening Fruits

### Abstract

Texture changes in ripening fruits influence consumer preference, fruit storability, transportability, shelf-life, and response to pathogen attack. Genetic regulatory factors as well as environmental conditions simultaneously affect texture changes in ripening fruit. In recent years, the factors that cause softening have been better understood and efforts are being made to remove these factors or slow down their effect through improved biotechnology and genetics. In this review, enzymes involved in cell wall modifications or regulation, and the effects of ethylene hormone which has a big effect on fruit texture are discussed.

**Keywords:** Fruit softening, shelf life, cell wall, enzyme, pectin

## GİRİŞ

Meyve ve meyveden elde edilen çeşitli ürünler sağlıklı bir hayatın en önemli parçalarından birisi olurken, ticari anlamda ise Dünya’da ve ülkemizde büyük yatırımlar yapıldığı üretim ve tüketim sektörünü oluşturmaktadır. Başlıca bu iki sebepten dolayı, besin yönünden kaliteli ve uzun ömürlü meyve üretmeye karşı olan yönelim gittikçe artmaktadır. Ancak meyvelerde kalite parametrelerini sınırlayan faktörler vardır ve bu faktörlerin başında ise olgunlaşma döneminde görülen yumuşama gelmektedir. Olgunlaşma, meyvenin aromasında, renginde ve sertliğinde çok hızlı değişimlere neden olan genlerin, aromaların ve çeşitli kimyasal mekanizmaların koordineli bir şekilde çalışmasının sonucudur. Bu olgunlaşma sürecinin sonunda, aroması artmış, yumuşak bir dokuya sahip olan bir yapı oluşur [1]. Meyvedeki bu dokusal değişiklikler türler arasında farklılıklar gösterse de, genel olarak olgunlaşma ve yumuşama, hücre duvarındaki yapı taşlarının parçalanmasından ve turgordaki değişimlerden kaynaklanmaktadır. Tüm bu değişimlerin tek sebebi ise, insan ve hayvanların tüketimi için meyveyi daha çekici hale getirmektir [2].

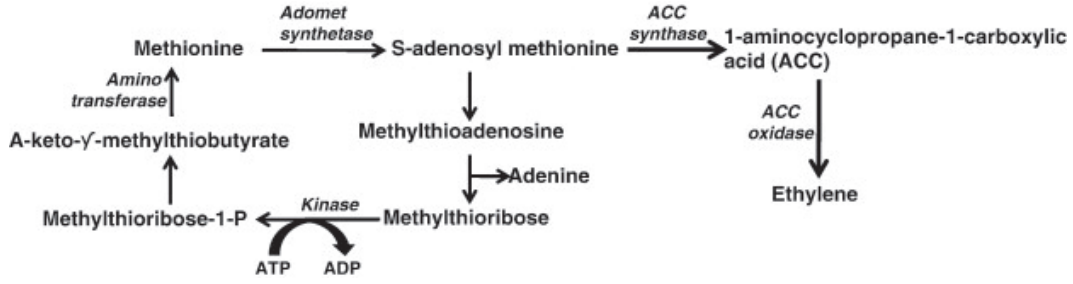
Tarımsal olarak meyvelerin raf ömrü, işleme kalitesi, besin değeri ve tadı kaliteyi belirleyen parametrelerdir. Bu kalite parametreleri, meyvenin aşırı olgunlaşması sonucu ortaya çıkan patojen duyarlılığından ve dokuda oluşan istenmeyen renklerden dolayı kaybolmaktadır [2]. Bundan dolayı meyvenin olgunlaşma seviyesi sadece raf ömrünü belirlemek ile kalmaz, meyvenin hangi sıklıkla toplanacağını ve ne kadar mesafeye taşınabileceğini de belirler. Olgunlaşmadaki bu seviyeyi kontrol edip olgunlaşma hızını yavaşlatmak için son 20 yılda çok sayıda çalışma yapılmıştır.

Özellikle, genlerin modifikasyonunu kolaylaştıran teknoloji ilerledikçe, meyvelerin raf ömrünü uzatmak, besin değerini ve verimini arttırmak için yüzlerce çalışma yapılmıştır. Bu derleme çalışmasında, hücre duvarı modifikasyonunu direkt ve/veya dolaylı olarak etkileyen etilen hormonundan bahsedilecek ve bitki biyoteknolojisinde model bitki olarak kullanılan domates başta olmak üzere, çeşitli meyvelerde hücre duvarına yönelik yapılan çalışmalar anlatılacaktır. Derlemede domatesin temel olarak incelenmesinin başlıca sebepleri ise, çok hızlı gelişen bir olgunlaşma dönemine sahip olması, kültür edilebilmesi, değişik iklim şartlarında yetişebilmesi, 900 Mb’lık kompakt bir genomla sahip olması ve 2012 yılında genom diziliminin tamamlanmış olmasıdır [3].

### Olgunlaşmanın Hormonal Düzenlemesi

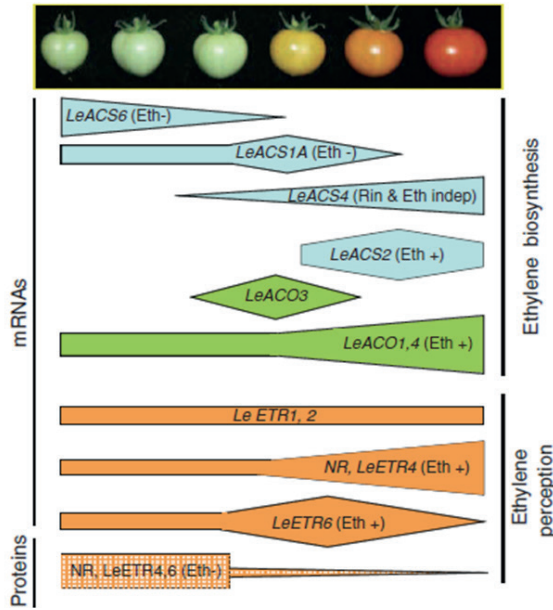
Etilen hormonunun renksiz, gazlı bir bitki hormonu olduğu, doğal yollarla üretildiği, bitki köklerinin oluşması, çiçeklerin çıkması, tohumun filizlenmesi, meyvenin olgunlaşması, yumuşaması ve bitkinin ölümü gibi çeşitli gelişim süreçlerinde aktif rol oynadığı elli yıldır bilinmektedir. Bu tarihten itibaren birçok çalışma yapılmış, etilenin fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde olgunlaşmaya olan etkisi kanıtlanmıştır. Bu kanıtlar ise, etilenin biyosentezi (şekil 1), reseptörler vasıtasıyla hedef hücreler tarafından algılanması, pozitif ve negatif düzenleyicileri (CTR, EIN2, EIN3 vb.) içeren sinyal iletim basamakları, son olarak ise, hedef genin ifadesinin, etilen yanıt faktörleri (ERF’ ler) gibi transkripsiyon faktörleri ile düzenlenmesidir [2].

Meyveler solunum aktivitelerine göre iki guruba



**Şekil 1.** Etilen biyosentezinin ilk aşamasında s-adenozil-L-metiyonin (SAM), ACC sentez (ACS) enzimi ile aminosiklopropan-1-karboksilik asit (ACC)'ye dönüştürülür. ACC daha sonra ACC oksidaz (ACO) enzimi ile etilen hormonuna dönüştürülür [2].

ayrılırlar. Olgunlaşma sırasında solunum ve etilen miktarında hızlı bir artış gösteren meyveler klimakterik (domates, muz), bu artışı göstermeyenler ise klimakterik olmayan (üzüm, çilek) meyveler olarak tanımlanmaktadır [1]. Klimakterik meyvelerin gelişim ve olgunlaşma süreçlerinin birçok basamağında etilen hormonu rol alırken, klimakterik olmayan meyvelerde ne kadar görev aldığı tam olarak bilinmemektedir. Meyvenin olgunlaşmasında etilenin rolüne dair bilgilerin çoğu domates üzerindeki çalışmalara dayanmaktadır. Domatesin genomunda en az 14 ACS geni, 7 tane ACO geni ve 7 tane ERF (etilen reseptör geni) keşfedilmiştir [4]. Bu genlerin olgunlaşma dönemlerine ait ifade durumları şekil 2' de gösterilmiştir.



**Şekil 2.** Domatesin gelişimi ve olgunlaşmasında sistem 1 ve sistem 2 etilen algılanması ve sentezleriyle ilişkili ACS ve ACO genlerinin ifade edilme dönemleri. Sistem 1 de etilenin otomatik durdurulması *LeACS1A*, 6 ve *LeACO1,3,4* genleri ile sentezlenir. Geçiş döneminde, *LeACS4* genin ifadesinde otokatalitik etilen başlangıcı ile birlikte büyük bir artış gözlenir. *LeACO1,4* ve *LeACS2,4* genleri ise sistem 2 de yüksek otokatalitik etilen üretiminden sorumludur [5].

Etilenin meyve yumuşamasında ne kadar rol aldığı uzun yıllar merak konusu olmuştur. Bunun en önemli sebebi ise, etilen hormonun pratikte ve tarımsal faaliyetlerdeki etkisidir. Etilenin meyvede salgılanması ile hücre duvarını modifiye eden enzim ve proteinlerin çalışması arasında bir bağlantının olup olmadığını anlamak için birçok genetik çalışma yapılmıştır. Domateste '1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid' genini kodlayan *ACS*, antisens metodu ile ifadesi azaltıldığında meyve olgunlaşmasının yavaşladığı ve doku sertliğini daha uzun süre muhafaza ettiği görülmüştür [6]. Yine etilen sentezinde görev alan antisens *ACO* genini taşıyan transgenik kavunların dokusu daha sert kalmış ve raf ömrü uzamıştır [7]. Elmada yapılan bir çalışmada ise, ifadesi durdurulan *MdACO1* geni etilen üretimini yavaşlatmıştır. Bu transgenik meyvelere dışarıdan etilen verildiğinde ise nişastanın şekere dönüşmesi gibi bütün olgunlaşma göstergeleri normal seviyelerine dönmüştür [8].

Etilen Sinyal İletimi (Etylene Signal Transduction), etilen reseptörleri ile düzenlenir. Etilen hormonunun meyvede salgılanmadığı dönemde (örneğin domates yeşil halde iken) bu reseptörler aktif durumdadır, dolayısı ile etilenin salgılanması bu reseptörler vasıtası ile durdurulur. Ancak etilen salgılanmaya başladığında bu reseptörler pasif duruma geçer ve etilen salgılanır. Domateste 7 tane etilen reseptör geni bulunmaktadır (*LeETR1*, *LeETR2*, *NR LeETR3*, *LeETR4*, *LeETR5*, *LeETR6* ve *LeETR7*). *LeETR4* ve *LeETR6* reseptörlerini kodlayan genlerin durdurulması, domateslerin 5-7 gün civarında daha erken olgunlaşması ile sonuçlanmıştır [9]. *LeETR1* ve *LeETR2* gen ifadelerinin durdurulması sonucunda ise, domateslerin raf ömrü ve sertlikleri azalmıştır [10]. Bu çalışma sinyal iletiminde görev alan *LeETR1* ve *LeETR2*'nin ortamdaki kaldırılması etilen hormonunun aktif hale gelerek yumuşamaya ortam hazırladığını göstermiştir.

Etilen Cevap Faktörleri (Etylene Response Factors, ERF) etilen hormonuna verilen tepkiyi düzenleyen transkripsiyon faktörleridir. Domateste *LeERF1* geninin durdurulması domatesin raf ömrünü uzatmıştır [11]. Bir diğer çalışmada ise aday gen olarak seçilen *ERF*, domatesin 2. kromozomunun 2. hattına haritalanmıştır (*ERF2-2*). Yapılan doku sertliği çalışmasında ise bu genin yumuşamaya neden olduğu ifade edilmiştir [12].

Etilenin meyve olgunlaşmasındaki önemini teknik olarak gösteren bir çalışma Pan ve arkadaşları [13] tarafından yapılmıştır. Yapılan çalışmada, 3 erik çeşidine sırası ile 500  $\mu\text{L L}^{-1}$  etilen veya 2.0  $\mu\text{L L}^{-1}$  1-Metilsiklopropan (1-MCP) uygulanmıştır. Buna göre dışarıdan etilen gazı uygulanan meyvelerin kabuk rengi değişirken, 1-MCP uygulamasında değişmemiştir. Aynı şekilde uygulanan etilen gazı meyvelerin raf ömrünü kısaltırken, inhibitör hormon olan 1-MCP uygulamasında ise raf ömürleri uzamıştır. Özellikle etilen biyosentezi aşamalarında görev alan genlerin ifade



**Pektinmetilesteraz (PME veya PE, EC3.1.1.11)** Meyvenin olgunlaşması sürecinde, hücre duvarında modifikasyona uğrayan ilk makromolekül genellikle pektindir. PME, hücre duvarındaki metil ester guruplarını kaldırıp, karboksil gurupları oluşturarak hücre duvarına metanol bırakır. Bu enzim hücre duvarına iki şekilde etki eder. PME izoformu galakturonik asitten metil guruplarını ya blockwise (tek zincir mekanizması) modeli ile ya da düz model şeklinde kaldırıp, esterleşmiş pektini oluşturur. PME, düz modelde  $Ca^{2+}$  ile etkileşime girerek egg box (yumurta kutusu) adı verilen jelimsi yapıyı oluşturur ve sonuçta hücre duvarını poligalakturonaz (PG)- pektat liyaz (PL) etkisinden koruyarak serbest karboksil guruplarını oluşturur. Ancak, PME, galaktronik asitin metil guruplardan rastgele silinmesi durumunda ise, PG-PL gibi enzimlerin parçalayıcı etkisine ortam oluşturarak hücre duvarının yumuşamasına neden olmaktadır [27].

Domatesin genom haritasına göre hücre duvarı ile ilişkili 5 tane PME'nin gen ifadeleri gelişme ve olgunlaşma döneminde aktif hale geçmektedir [28]. Bu genlerin ifade seviyeleri olgunlaşmanın ilk dönemine kadar 2-3 kat artmaktadır [29]. Bu genlerden *Pmeu1*'in bitkisel dokuda ve meyvede ifadesi görülürken, *Pmeu2* izoformlarının ifadeleri sadece meyvenin olgunlaşması döneminde görülmüştür. *Pmeu1* gen ifadesinin durdurulması sonucunda meyveler daha çabuk yumuşamıştır ve bu durum göstermiştir ki bu gen hücre duvarının stabilitesi için kalsiyum bağlantı bölgelerinde görevlidir [30]. PE2 antisens cDNA parçası domatese transfer edildiğinde ise meyvenin yumuşamasında bir fark görülmemiştir [31]. Domatesin, yüksek çözünürlüklü QTL (Quantitative Trait Locus) haritalamasında ise Chapman ve arkadaşları [12] birbirine çok yakın gen dizilimine sahip olan 3 tane *ERF* genini 2. Kromozomun 5. hattına (*ERF2-5*) haritalamışlardır. Yapılan meyve dokusu sertliği çalışmalarında ise bu genin domatesin sertliğini arttırıcı bir rol oynadığı gösterilmiştir.

Her ne kadar PME gen ifadesinin durdurulması meyvenin sertliği üzerinde bir rol oynamamış olsa da, bu genin susturulmasından elde edilen transgenik meyvelerin doku bütünlüğü daha geç bozulmuştur, dolayısı ile raf ömürleri artmıştır [32].

**Poligalakturonaz (PG) (EC3.2.1.15)** PG, başta domates olmak üzere birçok meyvenin olgunlaşma evresinde birincil hücre duvarı ve orta lamelde bulunan homogalakturonanın depolimerizasyonunda ana rolü oynar. Domates yeşil halde iken PG aktivitesi neredeyse yoktur, ancak meyve kızarmaya başlayınca enzim aktivitesinin en üst seviyeye çıktığı belirtilmiştir [33]. *Rin* (ripening inhibitör-olgunlaşmayı durduran) ve *cnr* (colourless nonripening-renksiz olgunlaşmayan) mutant domatesler olgunlaşmayan türler olarak bilinirler ve bu meyvelerde PG enzim aktivitesi görülmemiştir [34]. Bu durum PG'nin olgunlaşmadaki rolünü fazlasıyla göstermektedir. Ancak, PG gen ifadesinin durdurulması ile elde edilen meyveler ile kontrolleri arasında sertlik bakımından neredeyse hiçbir fark gözlemlenmemiştir ve bu meyvelerde normal yumuşama devam etmiştir. PG gen ifadesinin durdurulması ile domatestede sadece pektin depolimerizasyonu etkili bir şekilde azaltılmıştır [35]. Buna benzer bir sonucu Ghiani ve arkadaşları şeftalide elde etmişlerdir. Bu çalışmada, PG'nin etkisi yumuşak ve yumuşak olmayan iki şeftali türünde incelenmiştir. Sonuca göre, PG geninin şeftalide de doku bütünlüğünü korumada görev aldığı ancak meyve sertliğini sağlamadığı görülmüştür [36]. Çilekte ise bu çalışmalardan farklı bir sonuç elde edilmiş, antisens PG ile üretilen transgenik meyvelerin yumuşaması

yavaşlatılmış, raf ömürleri uzatılmıştır [37]. Buradan çıkan sonuç, PG geni domates ve şeftalinin yumuşamasında tek başına görev alan bir gen değil iken, çileğin yumuşamasında etkin rol oynamaktadır. Bundan dolayı, aynı genler farklı meyvelerde farklı roller oynadığı için her meyvede ayrı ayrı çalışılmalıdır.

**Galaktanaz (EC 3.2.1.89)** Araştırmalara göre, olgunlaşan meyvelerde serbest galaktozun artması ile birlikte ekzo-galaktanaz enziminin aktivitesinde 4-5 katlık bir artış gözlemlenmiştir. Bu enzimler muhtemelen ramnogalakturonan(1) 'ın (RG1) galaktozilce zengin yan zincirlerini parçalarlar. Domatesin gelişme ve olgunlaşma dönemine ait en az 7 tane  $\beta$ -galaktosidaz (TBG) geninin varlığı belirlenmiştir. Carey ve arkadaşları [38] *TBG1* genini %90 seviyesinde durdurularına rağmen hücre duvarının kompozisyonunda ve domatesin dokusunda herhangi bir değişim görmemişlerdir. Aynı şekilde *TBG3* genide antisens yöntemi ile susturulmuş, fakat dokuda herhangi bir değişiklik görülmemiştir [38]. Ancak, *TBG4* gen ifadesinin domatestede susturulması, meyve dokusunun sertliğini %40 kadar arttırmış ve böylece bu genin hücre duvarı modifikasyonunda önemli bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır [39]. Domatestede bir diğer TBG geni olan *TBG6*'nın ifadesi de %98 seviyelerine kadar durdurulmuş ve meyvenin sertliği %35 kadar arttırılmıştır. Ancak bu modifikasyon meyve kabuğundaki çatlama arttırmıştır [40]. Aynı şekilde, *Faβgal4* çilek olgunlaşırken aktivitesi artan bir enzimdir ve bu enzimi kodlayan genin susturulması çileğin sertliğini % 30 kadar arttırmıştır [41]. Her ne kadar genetik bir çalışma yapılmamış olsa da,  $\beta$ -gal enziminin elma [42] ve armutta da [43] hücre duvarını modifiye ederek yumuşamaya neden olduğu kanıtlanmıştır. Pektik galaktan yan zincirlerinin  $\beta$ -gal enzimi ile parçalanarak meyvede yumuşamaya sebep olması her ne kadar bu enzimin önemini ortaya koysa da, enzimin gerçek fonksiyonu farklı meyvelerde ekspresyon seviyesinin arttırılması veya azaltılması ile elde edilen transgenik meyvelerde anlaşılacaktır.

**Pektat Liyaz (PL) (EC 4.2.2.2)** PL enzimi,  $\beta$ -eliminasyon reaksiyonu ile galaktozil rezidüleri arasındaki  $\beta$ (1-4) bağlantılarını rastgele kırarak, 4-5 doymamış oligogalakturonatlar oluşturur [44]. PL gen dizilimleri çiçek erkek organı (anter), çiçek dişi organı (pistil) ve polen gibi bitkilerin çeşitli dokularında görülmektedir. Zayan ve arkadaşları zinnia hücre kültürlerinde ve Japon Çamı olarak bilinen büyük ağaçların polenlerinde de PL gen dizilimleri keşfedilmiştir [45]. Esas olarak PL geninin aktivitesi çilek, muz ve üzüm gibi olgunlaşan meyvelerde araştırılmıştır. Jimenez-Bermudez ve arkadaşları [46] çilekte PL geninin ifadesini durdurmuşlar ve transgenik meyvelerin daha sert olmasını sağlamışlardır. Bu transgenik meyvelerin raf ömürlerinin normal meyvelere göre daha uzun olduğu da gözlemlenmiştir. Muzda, PL geninin ifadesi genetik olarak modifiye edilmese de, PL benzeri gen dizilimleri keşfedilmiş ve bu enzimin aktivitesinin olgunlaşma sürecinde arttığı gözlemlenmiştir [47]. Domates Genom Konsorsiyumu'nun [28] sonuçlarına göre domatesin meyve kısmında 5 tane PL geni tespit edilmiş olmasına rağmen bu genler hep göz ardı edilmiştir. PL enziminin domatestede çok fazla araştırılmamasının sebebi, enzim aktivitesinin ölçülmesindeki aşırı zorluklardır. Ancak, Uluşık ve arkadaşlarının [48] çalışması ile domatestede ilk kez PL geninin ifadesi durdurulmuş, enzim aktivitesi ölçülmüş ve diğer kalite özelliklerini etkilemeden domatesin doku sertliği arttırılıp, raf ömrü uzatılmıştır (şekil 5). Bu çalışma ile birlikte hücre duvarının parçalanma mekanizması da

ortaya çıkarılmıştır. Buna göre, PG geninin durdurulması pektin depolimerizasyonunu azaltmış, fakat pektin solubilizasyonunu ve yumuşamayı durduramamıştır. Bu durumdan yola çıkarak denilebilir ki, PG enzimi polüüronid maddesinin büyük bir kısmının parçalanması için gerekli, ancak meyve yumuşaması için gerekli değildir. Transgenik PL domateslerde ise poliüronid parçalanması tamamen durmuştur. Bu göstermiştir ki PG enzimi hücre duvarına etki etmek için PL enzimine ihtiyaç duymaktadır. Bu çalışma bir bakıma da enzimlerin sinerjik olarak çalıştıklarına da bir örnek olmuştur.



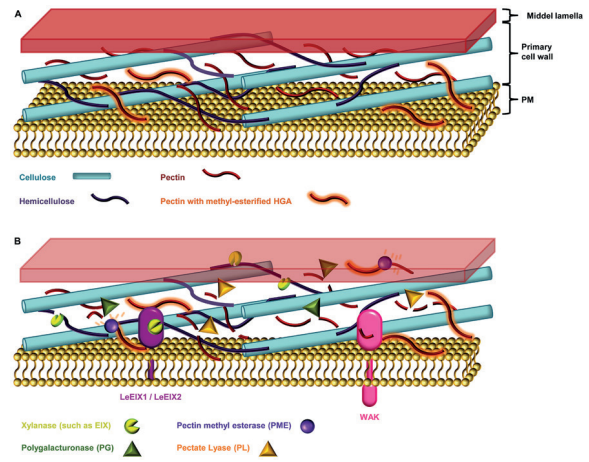
**Şekil-5.** Antisens pektat liyaz (transgenik) ve kontrol (yabani tip) domateslerinin 14 gün ve 40 gün sonunda oda sıcaklığındaki muhafazada görünümleri [48].

Daha önce bahsedildiği üzere, selüloz/hemiselülöz, pektin polimerleri ile birlikte doku bütünlüğüne ve hücre duvarı dayanıklılığına katkıda bulunan elementlerdir. Selülozlar, bir multienzim sistemi olup (endo-ekzo glukozid, glukosidaz) meyvenin yumuşaması sürecinde selüloz matriksini parçalamadaki görevi geniş bir çalışma konusu olmuştur. Ancak bugüne kadar selülozların gerçek substratı tam olarak belirlenememiştir. Domateste 2 tane selüloz enzimi vardır (*Cell* ve *Cel2*). Bu enzimler ayrı ayrı ve aynı anda transgenik meyvelerde durdurulmuş ancak yumuşamada bir etkisinin olduğu görülmemiştir [49,50]. *Cell* geninin *rin* mutant domatesinde ifadelerinin artırılması ise bir miktar yumuşamayı arttırmış, ancak olgunlaşmaya neden olmamıştır. Domateste benzer bir sonuçta çilekte alınmış, *Cell* geninin durdurulması dokunun sertliğinde herhangi bir etkiye yol açmamıştır [51,52].

Hemiselülözler, heterojen bir yapıya sahip olduklarından dolayı çeşitli enzimlere gereksinim duyarlar. Endo-transglukozilaz (XET) hemiselülözlerin ana enzimidir [4]. Bu enzimi kodlayan gen, üzümün yumuşama sürecinde ekspresyon seviyesi en fazla olan gendir [53]. Domateste ise, hemiselülözle bağlantılı olan glikanlar yumuşama döneminde XET tarafından parçalanırlar. Domateste bu enzimi kodlayan 2 gen *LeEXGT1* [54] ve *LeXETB1* [55] susturulmuş, ancak meyve sertliği üzerinde herhangi bir etkileri görülmemiştir.

Expansinler ise hücre duvarının modifikasyonunda çok önemli roller üstlenen enzimatik olmayan proteinlerdir. Bu proteinlerin, hücre duvarında gevşemeye yol açarak EGaz'ların (*LeCel1* and *LeCel2*), ya da *XYLOGLUCAN ENDO-TRANSGLUCOSYLASE/HYDROLASE* (XTHs) gibi hidrolazların etkilerine katkı yaptıkları açıklanmıştır.

Domates Genom Konsorsiyumu'na göre domateste 7 tane expansin izorformu bulunmaktadır ve bunlardan sadece *LeExp1* meyvenin olgunlaşması ile bağlantılıdır. Bu genin susturulması ile meyvedeki yumuşamanın az miktarda engellendiği görülmüştür [56]. Aynı genin, ifade seviyesinin artırılması (overexpression) hemiselülözün depolimerizasyonunu arttırmış ve meyvenin daha hızlı yumuşamasına neden olmuştur [50]. Özetle, hücre duvarını modifiye eden enzimler, polisakkaritlerin doğrudan bozunmasında ve polisakkarit yan zincirlerinin modifikasyonunda etki alanlarını paylaşmaktadırlar. Bugüne kadar yapılan genetik çalışmaların vardığı en önemli sonuç ise bir enzimin, hücre duvarı polimerlerine etkisini etkin bir şekilde göstermesi için başka bir enzime ihtiyaç duymasındadır. Enzimlerin birbirleriyle olan bu ilişkisi aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (şekil 6).



**Şekil 6.** Birincil hücre duvarı selüloz mikrofibrilleri, hemiselülöz polisakkarit ve pektin ağından oluşmuştur. PME, pektik homogalakturnanın (HGA) omurgasını esterleştirir.  $\beta$ -Gal ve PL'in etkisi ile hücre duvarındaki uzun pektin zinciri çözünür. Ancak burada  $\beta$ -Gal enziminin öncelikli etki ettiği ve PL enzime ortam hazırladığı düşünülmektedir. Son aşamada ise çözünür pektin molekülleri PG tarafından bozunur [57].

Pektik polisakkaritlerinin etkin bir şekilde parçalanması, pektin zincirindeki farklı bağları kırmaktan sorumlu olan enzimlerin birlikte çalışmasını gerektirir. Polisakkarit omurgasındaki bileşenleri silen PME veya AE'nin (asetilesteraz) etkisini arttırmak için PG, PL ve RGazlar gerekmektedir. Meyvenin yumuşamasında az bir etkiye sahip olan  $\beta$ -gal enziminin susturulması, PL ve PG etkisi için pektinlerin salınımla önemli olabilir. Ancak, Uluşık ve arkadaşları [48] PL'nin hücre duvarına sıkı bağlanmış olan, karbonat çözünür pektinlerinin salınmasında da yer aldığını göstermişlerdir. Rose ve Bennett [58] selüloz / hemiselülöz ve pektin parçalayıcı enzimler arasında potansiyel bir işbirliğinin var olduğunu belirtmişlerdir. Örneğin, PG geninin fazla ifadesi sonucunda minimal bir yumuşama görülen *rin* mutant domatesinde, olması beklenen pektin depolimerizasyonu yerine hemiselülöz depolimerizasyonu görülmüştür. Bunun aksine, selüloz/ hemiselülöz depolimerizasyonundan sorumlu olan expansin gen ifadesinin artırılması, pektinin parçalanmasını arttırmıştır [50]. PG ve  $\beta$ -gal ile ilgili önceki çalışmalar ve PL ile ilgili mevcut çalışma göstermiştir ki, meyve yumuşaması birçok



genin sinerjik ve kolektif etkisinin bir sonucudur. Bundan sonraki çalışmalar, hücre duvarının modifiyesinde görev alan genlerin beraber nasıl bir etki alanına sahip olduğunu anlamaya yönelik olmalıdır. Bu şekilde her bir genin hangi bileşen üzerinde etkili olduğu daha net anlaşılabilir ve bitki ıslahında, meyvelerin raf ömürlerinin uzatılmasında daha etkin çalışmalar üretilebilir.

## SONUÇ

Hücre duvarının esterifikasyonu, depolimerizasyonu, solubizasyonu ve nötr şekerlerin parçalanması gibi modifikasyonlar meyvenin olgunlaşmasının ve yumuşamasının bir sonucudur. Bu değişimler, hücre duvarındaki polimerlerin bozunmasına, orta lameldeki bütünlüğün kaybolmasına ve dolayısı ile hücre duvarları arasındaki bağlantıların kopmasına neden olarak meyve dokusunun yapısını etkilerler. Son yıllarda bitkilerin gen haritalarının çıkarılması ve gen düzenleme yöntemlerinin gelişmesi ile birlikte meyve yumuşamasını kontrol etmek amacı ile yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Önümüzdeki yıllarda, aynı anda birden fazla geni aynı bitkide modifiye ederek diğer kalite özelliklerini etkilemeden yumuşamasını yavaşlatarak raf ömürlerini uzatmak ve kaliteyi arttırmak mümkün olacaktır. Tüm bu çalışmalar bitki ıslah çalışmalarının hızlanmasına ve kolaylaşmasına, ekonomisi tarıma dayalı olan ülkelere ve insanlığa büyük faydalar sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

[1] Klee HJ, Giovannoni JJ. 2011. Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. *Annual Review Genetics* 45: 41-59

[2] Bapat VA, Trivedi PK, Ghosh A, Sane VA, Ganapathi TR, Nath P. 2010. Ripening of fleshy fruit: molecular insight and the role of ethylene. *Biotechnology Advances* 28: 94-107

[3] Gapper NE, McQuinn RP, Giovannoni JJ. 2013. Molecular and genetic regulation of fruit ripening. *Plant Molecular Biology* 82(6): 575-591

[4] Seymour GB, Østergaard L, Chapma, NH, Knapp S, Martin C. 2013. Fruit Development and Ripening. *Annual Review of Plant Biology* 219-241

[5] Bouzayen M, Latche A, Nath P, Pech JC. 2010. Mechanism of Fruit Ripening. In: *Plant Developmental Biology - Biotechnological Perspectives*, France, Springer

[6] Oeller PW, Wong LM, Taylor LP, Pike DA, Theologis A. 1991. Reversible inhibition of tomato fruit senescence by antisense RNA. *Science* 254: 437-439

[7] KNishiyama K, Gui M, Rose JK, Kubo Y, Bennett KA, Wangjin L, Kato K, Ushijima K, Nakano R, Inaba A, Bouzayen M, Latche, A, Pech JC, Bennett AB. 2007. Ethylene regulation of fruit softening and cell wall disassembly in Charentais melon. *Journal of Experimental Botany*. 58: 1281-1290

[8] Johnston JW, Gunaseelan K, Pidakala P, Wang M, Schaffer RJ. 2009. Co-ordination of early and late ripening events in apples is regulated through differential sensitivities to ethylene. *Journal of Experimental Botany*. 60: 2689-2699

[9] Kevany BM, Taylor MG, Klee HJ. 2008. Fruit-specific suppression of the ethylene receptor LeETR4 results in early-ripening tomato fruit. *Plant Biotechnology*. 6: 295-300

[10] Bao BL, Ke LQ, Jiang JM, Ying TJ. 2007. Fruit quality of transgenic tomatoes with suppressed expression of LeETR1 and LeETR2 genes. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 16: 122-126

[11] Li Y, Zhu B, Xu W, Zhu H, Chen A, Xie Y, Shao Y, Luo Y. 2007. LeERF1 positively modulated ethylene triple response on etiolated seedling, plant development and fruit ripening and softening in tomato. *Plant Cell Reports*. 26: 1999-2008

[12] Chapman NH, Bonnet J, Grivet L, Lyn J, Graham N, Smith R, Sun G, Walley PG, Poole M, Causee M, King G, Baxter C, Seymour GB. 2012. High-Resolution Mapping of a Fruit Firmness-Related Quantitative Trait Locus in Tomato Reveals Epistatic Interactions Associated with a Complex Combinatorial Locus. *Plant Physiology*. 159: 1644-1657

[13] Pan H, Wang R, Wang J, Cao J, Weibo J. 2016. Manipulation of ripening progress of different plum cultivars during shelf life by post-storage treatments with ethylene and 1-methylcyclopropene. *Scientia Horticulturae*. 198: 176-182

[14] Li X, Xu C, Korba, SS, Chen K. 2010. Regulatory mechanisms of textural changes in ripening fruits. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 29: 222-243

[15] Brummel DA. 2006. Cell wall disassembly in ripening fruit. *Functional Plant Biology*. 33: 103-119

[16] Cosgrove DJ, Jarvis MJ. 2012. Comparative structure and biomechanics of plant primary and secondary cell walls. *Frontiers in Plant science*. 3: 1-6

[17] Cosgrove DJ. 2005. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 6: 850-861

[18] Crookes PR, Grierson D. 1983. Ultrastructure of Tomato Fruit Ripening and the Role of Polygalacturonase Isoenzymes in Cell Wall Degradation. *Plant Physiology* 72(4): 1088-1093

[19] Wakabayashi K. 2000. Changes in Cell Wall Polysaccharides During Fruit Ripening. *Journal of Plant Research*. 113: 231-237

[20] Nishiyama Y, Langan P, Chanzy H. 2002. Crystal Structure and Hydrogen-Bonding System in Cellulose I $\beta$  from Synchrotron X-ray and Neutron Fiber Diffraction. *Journal of the American Chemical Society*. 124(31): 9074-9082

[21] Scheller HV, Ulvskov P. 2010. Hemicelluloses. *Annual Review of Plant biology*. 61: 263-289

[22] Toivonen PMA, Brummel DA. 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*. 48: 1-14

[23] Vicente AR, Ortugno C, Powel AL, Greve LC, Labavitch J. 2007a. Temporal sequence of cell wall disassembly events in developing fruits. 1. Analysis of raspberry (*Rubus idaeus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 4119-4124

[24] Vicente AR, Powel, A, Greve LC, Labavitch JM. 2007c. Cell Wall disassembly events in boysenberry (*Rubus idaeus* L.  $\times$  *Rubus ursinus* Cham. & Schldl.) fruit development. *Functional Plant Biology*. 34: 614-623

[25] Huber DJ. 1984. Strawberry fruit softening: the potential roles of polyuronides and hemicelluloses. *Journal of Food Science*. 49 : 1310-1315

[26] Wade NL, Kavanagh EE, Hockley DG, Brady CJ. 1992. Relationship between softening and the polyuronides in ripening banana fruit. *Journal of the science of Food Agriculture* 60: 61-68

[27] Wen B, Ström A, Tasker A, Tucker GA. 2012. Effect of silencing the two major tomato fruit pectin methylesterase isoforms on cell wall pectin metabolism. *Plant Biology*. 15(6): 1025-1032

[28] The Tomato Genome Consortium. 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature*. 485: 635-641

- [29] Tieman DM, Harriman RW, Ramamohan G, Handa AK. 1992. An Antisense Pectin Methylsterase Gene Alters Pectin Chemistry and Soluble Solids in Tomato Fruit. *The Plant Cell*. 4: 667-679
- [30] Phan TD, Bo W, West G, Lycett GW, Tucker GA. 2007. Silencing of the Major Salt-Dependent Isoform of Pectinesterase in Tomato Alters Fruit Softening. *Plant Physiology*. 144(4): 1960-1967
- [31] Hall LN, Tucker GA, Smith CJS, Watson C, Seymour GB, Bundick Y, Boniwell JM, Fletcher JD, Ray JA, Schuch W, Bird CR, Grierson D. 1993. Antisense inhibition of pectin esterase gene expression in transgenic tomatoes. *The Plant Journal*. 1: 121-129
- [32] Tieman DM, Handa AK, 1994. Reduction in pectin methylsterase activity modifies tissue integrity and cation levels in ripening tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit. *Plant Physiology*. 106: 429-436
- [33] Hobson GE, Grierson D. 1993. *Tomato, Biochemistry of Fruit Ripening*, London, Chapman & Hall, 405-442p
- [34] Eriksson EM, Bovy A, Manning K, Harris L, Andrews J, Silva JD, Tucker GA, Seymour GB. 2004. Effect of the Colorless non-ripening Mutation on Cell Wall Biochemistry and Gene Expression during Tomato Fruit Development and Ripening. *Plant Physiology*. 136: 4184-4197
- [35] Smith JCS, Watson CF, Ray J, Bird CR, Morris PC, Schuch W, Grierson D. 1988. Antisense RNA inhibition of polygalacturonase gene expression in transgenic tomatoes. *Nature*. 334:724-726
- [36] Ghiani A, Onelli E, Ain, R, Cocucci M, Citterio S. 2011. A comparative study of melting and non-melting flesh peach cultivars reveals that during fruit ripening endopolygalacturonase (endo-PG) is mainly involved in pericarp textural changes, not in firmness reduction. *Journal of Experimental Biology*. 11: 4043-4054
- [37] García-Gago JA, Pose S, Muñoz-Blanco J, Quesada MA, Mercado JA. 2009. The polygalacturonase FaPG1 gene plays a key role in strawberry fruit softening. *Plant Signaling Behavior*. 4(8): 766-768
- [38] Carey AT, Smith DL, Harrison E, Bird CR, Gross KC, Seymour GB, Tucker GA. 2001. Down-regulation of a ripening-related beta-galactosidase gene (TBG1) in transgenic tomato fruits. *Journal of Experimental Botany*. 52(357): 663-668
- [39] Smith DL, Abbott JA, Gross KC. 2002. Down-regulation of tomato beta-galactosidase 4 results in decreased fruit softening. *Plant Physiology*. 129(4): 1755-1762
- [40] Moctezuma E, Smith DL, Gross KC. 2003. Antisense suppression of a  $\beta$ -galactosidase gene (TBG6) in tomato increases fruit cracking. *Journal of Experimental Botany*. 54: 2025-2033
- [41] Paniagua C, Blanco-Portales R, Barceló-Muñoz M, García-Gago JA, Waldron KW, Quesada MA, Muñoz-Blanco J, Mercado JA. 2016. Antisense down-regulation of the strawberry  $\beta$ -galactosidase gene Fa $\beta$ Gal4 increases cell wall galactose levels and reduces fruit softening. *Journal of Experimental Botany*. 67 (3): 619-631
- [42] Gwanpua SG, Buggenhout SV, Verlinden BE, Christiaens S, Shpigelman A, Vicent V, Kermani ZJ, Nicolai BM, Hendricx M, Geeraerd A. 2014. Pectin modifications and the role of pectin-degrading enzymes during postharvest softening of Jonagold apples. *Food Chemistry*. 158: 283-291
- [43] Song L, Wang Z, Wang Z, Meng G, Zhai R, Cai M, Ma F, Xu L. 2016. Screening of cell wall-related genes that are expressed differentially during ripening of pears with different softening characteristics. *Postharvest Biology and Technology*. 115: 1-8
- [44] Marín-Rodríguez CM, Orchard J, Seymour GB. 2002. Pectate lyases, cell wall degradation and fruit softening. *Journal of Experimental Botany*. 53 (377): 2115-2119
- [45] Domingo C, Roberts K, Stacey NJ, Connerton I, Teran Ruiz F, McCann MC. 1998. A pectate lyase from *Zinnia elegans* is auxin inducible. *The Plant Journal*. 13(1): 17-28
- [46] Jiménez-Bermúdez S, Redondo-Nevado J, Muñoz-Blanco J, Caballero JL, López-Aranda JM, Valpuest, V, Pliego-Alfaro F, Quesada MA, Mercado JA. 2002. Manipulation of Strawberry Fruit Softening by Antisense Expression of a Pectate Lyase Gene. *Plant Physiology*. 128: 751-759
- [47] Payasi A, Sanwal GG. 2003. Pectate lyase activity during ripening of banana fruit. *Phytochemistry*. 63(3): 243-248
- [48] Uluşık S, Chapman NH, Smith R, Poole M, Adams G, Gills RB, Besong T, Sheldon J, Stiegelmeier S, Perez L, Samsulrizal N, Wan, D, Fisk ID, Yang N, Baxter J, Rickett D, Fray R, Blanco-Ulate B, Powell AL, Harding SE, Craigon J, Rose JKC, Fich EA, Sun L, Domozych DS, Fraser PD, Tucker GA, Grierson D, Seymour GB. 2016. Genetic improvement of tomato by targeted control of fruit softening. *Nature Biotechnology*. 34: 950-952
- [49] Lashbrook CC, Gonzalez BC, Bennett AB. 1994. Two divergent endo-beta-1,4-glucanase genes exhibit overlapping expression in ripening fruit and abscising flowers. *Plant Cell*. 10: 1485-1493
- [50] Brummell DA, Harpster MH, Civello PM, Palys JM, Bennett AB, Dunsmuir P. 1999. Modification of expansin protein abundance in tomato fruit alters softening and cell wall polymer metabolism during ripening. *The Plant Cell*. 11(11): 2203-2216
- [51] Woolley LC, James DJ, Manning K. 2001. Purification and properties of an endo-beta-1,4-glucanase from strawberry and down-regulation of the corresponding gene, cell. *Planta*. 1: 11-21
- [52] Palomer X, Llop-Tous I, Vendrel, M, Krens FA, Schaart JG, Boone MJ, van der Valk H, Salentijn EMJ. 2006. Antisense down-regulation of strawberry endo- $\beta$ -(1,4)-glucanase genes does not prevent fruit softening during ripening. *Plant Science*. 171: 640-646
- [53] Ishimaru M, Kobayashi S. 2002. Expression of a xyloglucan endo-transglycosylase gene is closely related to grape berry softening. *Plant Science*. 162: 621-628
- [54] Asada K, Ohba T, Takahashi S, Kato I. 1999. Alteration of Fruit Characteristics in Transgenic Tomatoes with Modified Gene Expression of Endo-xyloglucan Transferase. *Hortical Science*. 34: 533
- [55] Desilva J, Arrowsmith D, Hellyer A, Whiteman S, Robinson S. 1994. Xyloglucan endotransglycosylase and plant growth. *Journal of Experimental Botany*. 45: 1693-1701
- [56] Brummell DA, Harpster MH. 2001. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology*. 1: 311-340
- [57] Malinovsky FG, Fangel JU, Willats WG. 2014. The role of the cell wall in plant immunity. *Frontiers in Plant Science*. 5: 1-12
- [58] Rose JKC, Bennet AB. 1999. Cooperative disassembly of the cellulose-xyloglucan network of plant cell walls: parallels between cell expansion and fruit ripening. *Trends in Plant Science*. 5:176-183



## Toprakta Ağır Metal Kirliliğinin İnsan Sağlığına Etkileri ve Çözüm Önerileri

Emine Erman KARA<sup>1\*</sup> Ertan KARA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Niğde

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Adana

\*Sorumlu Yazar:

E-posta:ermankar@gmail.com

Geliş Tarihi : 14 Mart 2018

Kabul Tarihi: 28 Ekim 2018

### Özet

Toprak, doğada kirlenmeler için filtre görevi yapan ve bitkilerin yetiştiği önemli bir ortamdır. Doğada bulunan üç ana ekosistem (su, hava ve toprak) arasında madde ve enerji alışverişi olduğu için, bir ekosistemdeki kirlenme diğerine geçebilmektedir. Toprak kirliliği içerisinde yer alan ağır metal kirliliği, ağır metallerin bitkiler aracılığı ile insanlara ulaşarak hastalıklara neden olduğu için, ayrı bir öneme sahiptir. Ağır metallerin toprak içindeki belli konsantrasyondan fazlası toprakta ağır metal kirliliği oluşturmaktadır. Bunların yüksek dozları insanın genetik bağışıklık, yaş, beslenme ve genel sağlık durumu gibi faktörlere bağlı olarak değişik hastalıklara ve özellikle de kansere neden olabilmektedir. Bu çalışmada Pb, Hg, Ni, Al, Cd, Cr, Cu, Zn gibi ağır metallerin insan sağlığı açısından önemi, yapılan araştırma sonuçları ile irdelenerek, topraktaki ağır metal kirliliğinin insan sağlığına olası olumsuz etkilerine dikkat çekilmesi ve konu ile ilgili olarak yapılması gerekenler açıklanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Toprak kirliliği, Ağır metal, İnsan sağlığı

## Effects of Soil Heavy Metal Contamination on Human Health and Solution Offers

### Abstract

Soil ecosystem is an important environment which works as a filter for the contaminants in the nature and on which the plants grow. Because there is matter and energy exchange between the water, air and soil ecosystems in the nature, any contaminant in an ecosystem may be transferred to the others. Contamination of the soil by heavy metals has a particular importance, as heavy metals can reach to humans and cause diseases by means of plants. If presence of heavy metals in soil exceeds certain concentrations, it is regarded as contamination. High-dose heavy metals may cause various diseases, especially cancer, in conjunction with the factors such as the genetic immunity, general state of health, age and nutrition status of humans. This article examines the importance of heavy metals such as mercury (Hg), lead (Pb), nickel (Ni), cadmium (Cd), chromium (Cr), aluminum (Al), copper (Cu), zinc (Zn) on human health presenting some research results and clarifies the adverse effects of heavy metal contamination of soil on human health and the precautions to be taken about this matter.

**Keywords:** Soil pollution, heavy metals, human health

## GİRİŞ

Doğada bulunan su, hava ve toprak ekosistemlerinde madde ve enerji alış verişini nedeni ile bir ekosistemdeki kirlilik diğerine geçerek olumsuz etki gösterebilmektedir. Doğada kirlenmeler için filtre görevi gören toprak ekosistemi, aynı zamanda bitkilerin yetiştiği önemli bir ortam olup, bitkilerin alabileceği özellikteki bir kirlenme, topraktan alınıp, birikim etkisi ile besin zinciri yolu ile insana ulaşarak ciddi sağlık sorunları oluşturabilmektedir. Toprak, tamponlama kapasitesi nedeni ile filtrasyon özelliğine sahip olduğu için, kirlenmelere karşı su ve hava ekosistemine göre kirlenmelerin etkisinin ortaya çıkmasını önleyebilmekte ve/veya geciktirebilmektedir. Ancak, toprakta kirlilik sonucu bozulma meydana geldiğinde karşılaşılan sorunların boyutları büyük ve karmaşık olup, giderilmesi zor ve masraflı olabilmektedir [22, 13].

Toprak kirliliği; toprak oluşumundan kaynaklı veya dışardan ilave edilen maddeler veya yanlış tarımsal uygulamalar ile toprakların fiziksel kimyasal, biyolojik ve verimlilik özelliklerinin bir veya birkaçında bozulma meydana gelmesi olarak tanımlanabilmektedir. Kirlenmelerin çeşidine veya bozulan toprak özelliğine göre isimlendirilebilmektedir. Topraklarda bulunan ağır metaller toprakların oluşumu sırasında ayrıışan minerallerden

kaynaklanabileceği gibi (doğal kirlilik), toprağa çeşitli nedenlerle ilave edilen maddelerin yapısında bulunan ağır metallerden (yapay kirlilik) de kaynaklanabilmektedir [9, 32, 35].

Toprak kirliliği; aşırı pestisit ve gübre kullanımı, toprak düzenleyiciler ve hormon kullanımı, sıvı ve katı atıkların deşarjı, atık suların tarımsal sulamada kullanılması, atık çamur uygulaması, radyoaktif serpintiler ve atmosferik çökeltmeler sonucu ortaya çıkan bir çevre sorunudur. Toprak kirliliği içerisinde ağır metal kirliliği diğer kirlenmelere göre daha fazla önem kazandığından, son zamanlarda yapılan çalışmalar bu sorun üzerinde yoğunlaşmaktadır [15]. Toprakta ağır metal birikimine gübreler ve pestisitler dışında, toprağa verilen kanalizasyon suları, arıtma sıvı ve katı atıklar da neden olan faktörler içerisinde yer almaktadır [35]. Bunun dışında ağır metal içeriği yüksek mineralleri içeren ana materyal üzerinde oluşan topraklar da ağır metal kirliliği olabilmektedir [5].

Ağır metal, periyodik cetvelin üçüncü ya da daha yüksek periyodunda bulunan, fiziksel özellik açısından yoğunluğu 5 g/cm<sup>3</sup>'ten daha yüksek olan metaller için kullanılan bir terim olup; kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, cıva ve çinko olmak üzere 60'tan fazla metal bu gruba dahil olmaktadır. Bu elementler doğaları gereği yer kürede

genellikle karbonat, silikat ve sülfür halinde stabil bileşik veya silikatlara bağlı olarak bulunurlar [17].

Çeşitli nedenlerle havaya verilen SO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, HF ve hidrokarbonlar (HC) gibi kirlenici emisyonları içermekte olup, bu gazların fazla miktarları asit yağmurlarına dönüşebilmektedir. Asit yağmurların etkisi ile toprak asitleşmekte, emisyonlar içerisinde bulunan Zn, Cu, Fe, Cd gibi ağır metaller toprak ve bitki üzerinde birikebilmektedirler [37].

Ağır metallerin insana ulaşma yolları; gıda, içme suyu, solunum ve deriye temas olarak sıralanmaktadır. Toprakta bulunan ağır metaller erozyon ile su ekosistemine taşınabileceği gibi, toprak özelliklerine bağlı olarak yakanarak yer altı sularına da geçebilmektedir. Ağır metal kirliliği olan topraklar, park ve oyun bahçelerine bitkilendirme yapılmadan serildiğinde, deri veya solunum ile insanlara geçebilmektedir. Bu durum özellikle çocuklar için tehlike oluşturmaktadır [24, 11, 39].

Toprağa ulaşan ağır metaller bitkisel gıda yolu ile insan vücuduna girebildiği gibi, bu bitkilerin hayvanlara yem olarak verilmesi durumunda, hayvanın etinden ve sütünden gıda zinciri ile insanlara birikerek geçebilmektedirler. Bu maddelerin bazıları yüksek dozda vücutta zehirleyici etki yapabilirken, bazıları düşük dozda alınsalar dahi, biyolojik birikim nedeniyle zararlı etkilere neden olabilmektedirler. Bu olay bir biyolojik birikim, biyolojik artım olarak adlandırılmaktadır [10].

Ağır metaller insan sağlığı ve hastalıklarında önemli rol oynayıp, hücre ve hücre içi elemanların hem humoral hem de hücrel immunitenin düzenlenmesini, sinir iletimini, kas kasılmasını, hücre potansiyelinin regülasyonunu, mitokondriyal aktivitenin düzenlenmesi gibi diğer bir çok fonksiyonlarda görev almaktadırlar [1, 12]. Element ve minerallerin insan sağlığı ile olan ilişkisini insan vücudundaki her doku, sıvı, hücre ve organda dengelerini koruduğunu bilmenin insan sağlığını korumada temel olduğu araştırmalar ile ortaya konmuştur [4]. Canlı organizmaların vücutlarında Co, Fe, Cu, Mn, Mo, V, Se ve Zn gibi ağır metaller eser miktarda bulunur iken, krom, kurşun, kadmiyum, civa, arsenik gibi bazı ağır metaller gereksinim duyulmadığı için canlıların yapılarında bu metaller bulunmamaktadır [21].

Derleme olarak hazırlanan bu çalışmada, toprakta bulunan ağır metallerin toprağa bulaşma yolları, bitkiler tarafından alınan formları, bitkilerden gıda zinciri yolu ve/veya diğer yollar ile insana ulaşması halinde insanlarda neden olduğu sağlık sorunları yapılan araştırma sonuçları ile ortaya konmuştur. Araştırma sonuçları dikkate alınarak toprakta meydana gelen ağır metal kirliliğinin ve insan sağlığına olası olumsuz etkinin önlenmesi için alınması gereken önlemlere yer verilmiştir.

#### **Ağır Metallerin İnsanlara Ulaşma Yolları ve İnsanlara Etkileri**

Ağır metal ile kirlenen tozlar sokaklardan insanların yaşam alanı olan iç ortamlara taşındığında veya park ve bahçelerde kullanıldığında deri ve solunum yolu ile insan vücuduna geçebilmektedir. Tokalhoğlu ve Kartal [36] tarafından Kayseri'de Organize sanayi bölgesinde sokaktaki tozlardan alınan 29 örnekte yapılan Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn analizinde asitte ekstrakte edilebilir, indirgenabilir ve okside olabilir formların belirlendiği çalışma sonucunda; ekstraksiyon oranına göre; Cd (%93.3), Zn (%83.8), Pb(%77.2), Co( % 75.9), Mn (%73.0), Ni (%60.1), Cu (%59.0), Cr (%58.6) olarak belirlenmiş, ayrıca sokak tozlarının kirlenici olarak; endüstri, trafik ve

doğal faktörler belirtilmiştir. Sezgin ve ark., [34], büyük şehirlerdeki sokak tozlarının çevre kirliliğinin göstergesi olduğunu belirterek, tozlardaki kirlenici kaynaklarının araba egzozları, rüzgarla taşıma yoluyla olduğunu belirterek, sokak tozlarında bulunan ağır metallerden Pb, Cu, Mn, Zn, Cd ve Ni'in çevre kirliliği açısından önemli olduğunu, ağır metallerin çeşit ve miktarının sokak tozlarına göre değiştiğini bildirmişlerdir. İstanbul'da E-5 otobandan 22 farklı noktadan alınan sokak tozu örneklerinde Pb, Cu, Mn, Zn, Cd ve Ni konsantrasyonunun belirlendiği çalışma sonucunda; Pb, Cu ve Zn konsantrasyonunun, toprakta bulunması gereken maksimum miktardan daha fazla olduğu, bu durum insan sağlığı açısından risk oluşturduğu bildirilmiştir [34].

Benzer şekilde, sokakta bulunan kirlenmiş tozların insan yaşam alanı olan iç ortama taşındığında sağlık sorunlarına neden olabileceği belirtilmektedir. Malezya'da yapılan bir çalışmada kanserojen olmayan ağır metallerden olan Pb, Cd ve Cu'nun sınıflarda bulunan tozlardaki miktarını belirlemek için yapılan çalışmada, Sri Serdang şehrinde bulunan 21 bölgeyi içeren ilkokullarda pencere, havalandırma yeri ve döşemelerden alınan toz örneklerinde yapılan analizler sonucunda; en fazla miktarda ağır metalin sırasıyla; pencere, döşeme ve havalandırma alanında olduğu, ağır metal konsantrasyonlarının sırasıyla, Cd, Cu ve Pb şeklinde olduğu, bu değerlerin çocukların sağlıkları için risk oluşturacak düzeyde olduğu belirtilmiştir [33].

Çin'de çok fazla hava kirliliği olan Xi bölgesinde evlerdeki ağır metal kirlilik düzeyini belirlemek için yapılan çalışmada, yarım gün veya daha fazla zaman geçirilen evlerden alınan toz örneklerinde insan sağlığına zarar veren ağır metal konsantrasyonları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda; evdeki tozlarda Cr, Mn, Co ve V miktarları bölgedeki toprakların içeriklerine yakın olarak belirlenmiş, bu miktarların yetişkinler için risk oluşturmayacak düzeyde, çocuklar için ise kanser olmayan risk düzeyinde olduğu belirlenmiştir [39]. Malezya'da yapılan bir çalışmada, okul öncesi eğitim gören öğrencilerin bulunduğu okulda iç ortamda duvarlardan ve öğrencilerin avuçlarından alınan toz örneklerinde belirlenen ağır metal konsantrasyonlarının sırasıyla Fe> Pb> Zn> Cr> Cd şeklinde tespit edildiği ve bunun, çocukların sağlığı açısından risk oluşturacak düzeyde olduğu belirlenmiştir [24].

İran'da 2013-2014 yılları arasında evsel atıklarda bulunan ağır metallerin konsantrasyonlarının belirlendiği çalışmada endüstri bölgesi, trafiğin yoğun olduğu bölge, endüstri ve yoğun trafikten uzak olan üç ayrı bölgeden alınan örneklerde ağır metallerden Cr, Ni, Cu, Mn, Pb, Zn, Co ve Cd'un konsantrasyonlarının, sıcak dönemde soğuk dönemlere göre daha yüksek çıktığı, kanser indeksine göre Ni, Cr, Cd ve Pb'un çocuklar için yemek, solunum ve deri yolu ile geçişte riskli düzeyde olduğu, çalışma yapılan alan olan Ahvaz şehrinde evsel atıkların çocukların teması halinde kanserojen risk taşıyabileceği bildirilmiştir [31].

Toprak ekosistemindeki dengeyi olumsuz etkilemeyecek düzeyde olan ağır metal miktarı, bitkiye oradan da gıda zinciri ile hayvan ve insana ulaştığında, birikim etkisi nedeni ile toksik düzeye ulaşarak hastalıklara neden olabilmektedir. Çin'de yapılan çalışmada kapatılan bir maden yatağının drene edilen suları ile kirlenen Guangdong bölgesinde bulunan 74 toprak ve orada yetişen bitkilerden (28 şeker kamışı, 30 sebze, 16 çeltik) örneklerinde ağır metallerden; Cd, Cu, Zn As ve Pb düzeyleri belirlenerek toprak ve bitki örneklerine ait sonuçlar arasındaki ilişkiler istatistiksel olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda; toprakların ağır metal (Cd, Cu, As) bakımından kirlenmiş olduğu,

bitkilerdeki ağır metal konsantrasyonunun bitki çeşidine göre; kök, gövde ve yapraklarda biriktiği belirlenmiştir [25]. Brezilya'da, tropikal ve sıcak bölgelerde yetişen sebze ve toprak örneklerinde kadmiyum konsantrasyonları ile toprak ve bitkideki konsantrasyonları arasındaki ilişkinin belirlendiği çalışma sonucunda; Sao Paulo için topraktaki Cd konsantrasyon düzeylerinin insanlara zarar verebilecek düzeyde olduğu, tropikal bölgelerde yetişen sebzelerde Cd birikiminin sıcak bölgelerde yetişenlerden daha fazla olduğu ortaya konmuştur [28].

Madencilikte ağır metaller insan etkisi nedeni ile buldukları yerlerden çıkarılarak, toprak-su-bitki sistemi içerisinde artan miktarlarda birikebilmektedirler. Bu birikme sonucunda toprak-bitki-hayvan-insan beslenme zincirinde konsantrasyonları artarak taşınabilmektedirler [23].

Kömür madeni veya diğer endüstriyel faktörlerden kaynaklanan topraktaki ağır metal kirliliği doğum risklerine ve zararlanmalara neden olabilmektedir. Çin'de yapılan bir çalışmada kömür madeninin yoğun olarak çıkarıldığı Shanxi bölgesinde 97 köyde 2002-2004 yılları arasındaki doğum zararları ile topraklardaki ağır metal miktarları arasındaki ilişkiyi belirlemek amacı ile yapılan çalışma sonucunda; arsenik, kurşun ve nikel içeren topraklar ile doğum zararları arasında kuvvetli ilişki belirlenmiştir. Ayrıca, çalışmada doza bağlı olarak kurşun ile olumlu pozitif, arsenik ile orta düzeyde pozitif ve nikel ile doza bağlı olarak negatif etki belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre; insanlarda

doğum zararı açısından arsenik ile önemli bir ilişki olduğu, nikel içeriği ile ilgili net bir ilişkinin söylenemeyeceği, bu konuda araştırmaların yapılması gerektiği belirtilmiştir [45].

#### **Ağır Metallerin Toprakta Bulunuş Formları ve İnsan Sağlığına Etkileri**

Ağır metallerin toprakta bulunan toplam miktarları yerine, bitkilere geçen miktarları ve bitkiler tarafından alınan formları önemlidir. Bu nedenle, insan sağlığını olumsuz etkileyen bazı ağır metallerin toprakta bulunuş formları ve insana ulaştıklarında sağlık üzerine olan etkilerine burada yer verilmiştir.

Küresel kirlilik faktörü olarak insan ve tüm canlı yaşamında tehlike ve risk oluşturabilen ağır metaller; maruz kalınan doz, genetik yapı, kişinin bağışıklık direnci ve genel sağlık hali, yaş, beslenme düzeyi gibi faktörlere bağlı olarak, insanlarda en başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olabilmektedirler. Ağır metallerin canlı vücudundaki etkileri, vücutta kalma süreleri ve vücutta tutuldukları yere göre değişmektedir. Örneğin; kurşun ve civa merkezi sinir sistemine, Ne ve Ni ciğerlere, Cd böbreklere etki etmektedir. Hayvanlar üzerinde yapılan deney sonuçlarının insanlar üzerinde ne kadar güvenle uygulanabileceği konusundan da yeterli çalışma bulunmamaktadır. Örneğin, insanlarda kanser yapan arseniğin farelerde aynı etkiyi göstermediği belirlenmiştir [30].

Bazı ağır metallerin insanlarda neden oldukları semptomlar ve etkileri Çizelge 1'de verilmiştir.

**Çizelge 1.** Bazı Ağır Metallerin İnsanlarda Neden Oldukları Semptomlar ve Etkileri [21].

Element	Başlangıç Semptomları	İleri Düzeydeki Semptomlar	Etkiler
Nikel	Bas ağrısı	Nefes darlığı	Taşikardi (kalsiyum difüzyonuna engel olarak)
	Bayılma	Göğüs ağrısı	Ödem
	Zafiyet	Nefes almada güçlükler	Gırtlak kanseri, akciğer kanseri, solunum yollarında negatif etkiler
	Kusma		Solunum yolu hastalıkları (zatürre), dermatitis
Çinko	Kusma	Göğüs ağrısı	Ülser (deri)
	İshal	Öksürme	Mukoz zarlarda tahriş
		Üşüme	Akciğer ödemi
		Ateş	Solunum yollarında tahribat
Bakır			Hamilelikte yüksek oranda düşüğe neden olur.
Kadmiyum	Kusma	Kimyasal zatürre	Kalsiyum bağlayıcı proteini küçük barsakta engeller.
	Mide bulantısı	Akciğer ödemi	Sindirim sisteminde birikme ile sorunlara neden olabilir.
	Karın ağrısı	Teratojen	Hücre arası geçen proteinlerin hücre zarlarından geçişini engeller.
		Kanser	Aktif transport mekanizmasıyla hücrelere taşınabilir.
			Böbreklerde tahribata neden olabilir.
			Bağışıklık sisteminde hasara neden olur (makrofaj ve antikor üretimi etkilenir).
			Kardiyak hücrelerini etkiler.
			Kan hücrelerinde hasara neden olur.
		Protein sentezini etkiler	

Ağır metallerin ekolojik sisteme ve özellikle insan vücuduna etkilerinin önemi nedeni ile, bu makalede öncelikle en yüksek yayınıma sahip olan Kurşun, toksikolojik olarak en büyük hasara yol açan Kadmiyum, yaşamsal özellik göstermesine rağmen aldığı değeri göre kanserojen etkiye sahip olan Krom ve diğer ağır metallerin toprakta bulunmaları ile insana olan etkileri hakkında bilgi verilmiştir.

#### **Kurşun (Pb)**

İnsan faaliyetleri ile ekolojik sisteme en önemli zararı veren ilk metal olma özelliği taşıyan kurşun, doğada organik ve inorganik halde bulunmaktadır. Kurşun; toprakta, suda havada ve günlük kullandığımız birçok maddede değişik miktarlarda bulunmaktadır. Bitki besin elementi olmayan, toprakta minerallerin yapısında ve maden alanlarında fazla miktarda bulunan kurşunun, toprağa ve atmosfere geçişi, endüstri kuruluşlarının bacalarından, taşıtların egzozlarından çıkan dumanlar, lehim, akü, boya, elektrik ve petrol sanayilerine ait atıklar ve pestisitler ile olabilmektedir. Kurşunun vücutta toksik etki yaratması için, kanda veya yumuşak dokularda belli bir düzeye kadar birikmesi gerekmektedir. Yaş, beslenme ve fizyolojik durumlar gibi birçok faktöre bağlı olarak etkisi değişimle birlikte, insanlarda kurşun birikmesi sonucu oluşan akut zehirlenmelerde, beyin hasarı ve ölüm, bebekler ve çocukların çok duyarlı olduğu kronik zehirlenme vakalarında ise, küçük yaşta kurşuna maruz kalmada zekâ geriliği, ağız ve diş hastalıklarına, öğrenme bozuklukları ve hiperaktivite ile kan basıncı yüksekliği, kronik anemi, periferik sinir hasarı görülebilmektedir. İnsan kanında kurşun miktarı arttığında, vücut fonksiyonları bozulabilmektedir. Örneğin, eritrosit sentezi bozulabilir, anemi olabilir, sistemik kan basıncı artabilir, nefropati, enselopati ortaya çıkabildiği gibi, çocuklarda ölümle bile sonuçlanabilmektedir [38, 19].

#### **Cıva (Hg)**

Cıva birçok sanayi dalında kullanıldığı için, çevresel bulaşma ve bileşiminde cıva bulunan tarım ilaçlarının sık kullanımı ile tarım ürünlerinin yapısından beslenme döngüsüne girerek etkisini göstermektedir. Cıva zehirlenmesi sonucu oluşan akut zehirlenmeler ile nörolojik bozukluklar, böbrek hasarı oluşturmakla birlikte, kronik zehirlenme sonucunda titreme, diş eti iltihabı, psikolojik değişiklikler, gebelerde düşük ya da bebekte doğumsal anomaliler gözlemlenebilmektedir [4].

#### **Kadmiyum (Cd)**

Ağır metal yönünden zengin ana materyal üzerinde oluşan topraklarda bu elementlerin içeriği %30-60 artabilir. Volkanik kökenli ana materyal üzerinde oluşan toprakların ağır metal içerikleri yüksek olmaktadır. Ağır metaller değişik kaynaklardan toprağa ulaşmaktadırlar. Bunun dışında, kadmiyum tarımsal topraklara fosforlu gübreler yoluyla ulaşarak bu alanlarda birikebilmektedir. Bu konuda yapılan araştırmalarda, çözülebilir fosforlu gübreler MAP (monoamonyum fosfat) ve DAP (diamonyum fosfat) tarımsal alanlarda kullanıldığında kadmiyum içeriğinin arttığı, özellikle DAP uygulanan topraklarda kadmiyum ve çinko yönünden artış belirlenmiştir [35, 16, 26, 20].

Son yıllarda artan endüstriyel faaliyetler, aşırı ve bilinçsiz yapılan kimyasal gübre ve pestisit kullanımı, atık suların su kaynaklarına karıştırılması ve sulama suyu olarak kullanılması, toprak ve suyun Cd içeriğini arttırmaktadır. Toprakta Cd birikiminin en önemli nedenlerinden biri de

toprağa karıştırılan arıtma çamurlarıdır [32].

Kadmiyum, kadmiyum kirliliğinin olduğu topraklarda yetişen bitkiler ve bu bitkilerle beslenen hayvanlardan üretilen hayvansal gıdalar ile içme sularına karışan sanayi artıkları aracılığıyla insan bünyesine ulaşabilmektedir. Uzun süreli kadmiyuma maruz kalındığında en fazla etkilenen organın böbrekler olduğu, yapılan araştırmalarda; böbrekte biriken kadmiyum konsantrasyonunun 200 mg/kg'a ulaşması durumunda, böbrek fonksiyonlarında bozulma olduğu belirlenmiştir. Akciğer ve prostat kanserlerinin oluşumunda kadmiyumun etkisi kesin olarak belirlenirken, kadmiyum fazlalığında böbrek yetmezliği, kan basıncı artması, karaciğer yetmezliği ve bazı organların kanserleri gibi birtakım hastalıklar ortaya çıkabilmektedir [41].

#### **Nikel (Ni)**

Bitki besin elementi olan Ni, bitkiler tarafından topraktan iyon formunda alınmaktadır. Nikel'in topraktaki kaynağını fosforlu gübreler (DAP, MAP) ile volkanik kökenli kayaların yapısındaki mineraller oluşturmaktadır, asit topraklarda Ni çözünürlüğü artmaktadır [5]. Niğde İlinde patates üretimi yapılan topraklarda ağır metal kirliliğini ortaya koymak amacı ile yapılan çalışma sonucunda; Cd, Ni konsantrasyonunun sınır değerlerin üzerinde olduğu, kimyasal gübre kullanımının fazla olduğu yerlerde topraklarda meydana gelen asitleşmenin buna neden olduğu, yoğun kimyasal gübre kullanılmayan alanlarda belirlenen yüksek Ni konsantrasyonunun ise volkanik kökenli ana kayalardan kaynaklanabileceği bildirilmiştir [20].

Nikel'in insana geçişi solunum ve sindirim yolu ile olup, vücuttan nasıl atıldığı konusunda çok açık bilgiler bulunmamaktadır. Nikel'in neden olduğu kontakt dermatitis çok yaygın ve iyi bilinen bir reaksiyon olup, Nikel'in vücutta fazla alımı sonucunda akciğer fibrosisi, kalp-damar ve böbrek hastalığı yaptığı, karsinojenik aktivite ile çok ciddi ilişkisi bilinmektedir. Nikel maden ocağında, haddehanesinde ve rafinerisinde çalışan işçiler üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda akciğer ve burun kanserlerinin insidanslarının yüksek olduğu ortaya konmuştur. Değişik hayvan modellerinde nikel bileşiklerinin verilmesi ile tümörler oluşturularak yapılan çalışma sonuçlarına göre, nikel kanserojen olarak değerlendirmiştir [42].

#### **Bakır (Cu)**

Toprakta Cu'nun kaynağı mineraller, toprak organik maddesi ve bazı pestisitlerdir. Toprakta bulunan Cu,  $PO_4^{2-}$  ve  $CO_3^{2-}$  gibi bileşikler ile bir araya geldiğinde alınamaz forma geçmesine rağmen, asit topraklarda çözünürlüğü artmaktadır. Bitki besin elementi olan Cu, bitkiler tarafından topraktan iyon formunda alınmaktadır. Bakırın düşük konsantrasyonları dahi tarımsal ürünlerde, sudaki organizmalarda ve insanda zehir etkisi yaratmaktadır [39].

#### **Çinko (Zn)**

Zn'nun topraktaki kaynağı mineraller ve organik maddedir. Toprakta bulunan Zn,  $PO_4^{2-}$ ,  $CO_3^{2-}$  gibi bileşikler ile bir araya geldiğinde alınamaz forma geçmesine rağmen, asit topraklarda çözünürlüğü artmaktadır. Bitki besin elementi olan Zn, bitkiler tarafından topraktan iyon formunda alınmaktadır. Biyolojik olarak esansiyel bir element olan çinko, çok sayıda enzim sisteminde koenzim olarak rol oynar ve beslenme yolu ile vücuda geçer. Çinkonun toksikolojik belirtileri mide krampisi ve ishal şeklinde olup, deney hayvanları üzerinde kanserojenik etkisi belirlenmiştir [4].

### Krom (Cr)

Bitki besin elementi olmayan, toprakta fazla miktarda bulunduğu bitkiler tarafından alınabilen Cr'un topraktaki kaynağını, mineraller ile toprağa ilave edilen Cr içeren atık ve artıklar oluşturmaktadır. İnsan sağlığı açısından önemli bir element olan Cr, fazla miktarda alındığında insanlarda hastalık nedeni olabilmektedir.

Hegzavalent krom (Cr<sup>+6</sup>), Trivalent krom (Cr<sup>+3</sup>)'dan daha toksiktir [3]. Biyolojik sistemlerdeki aşırı Cr<sup>+6</sup> farklı tipte kanser oluşumuna sebep olabilir iken, stabil özellik gösteren Cr<sup>+3</sup> kanserojen bir madde olarak düşünülmektedir. Cr<sup>+3</sup> bileşiklerinin, günlük doz sınırları içinde alındığında insanlara veya hayvanlara zararları görülmemiştir. Cr<sup>+6</sup> hücre içindeki elemanlara Cr<sup>+3</sup> formunda bağlanarak bu elemanların fonksiyonlarına zarar verebilmektedir [17].

### Alüminyum (Al)

Kayaçların yapısındaki minerallerde bulunan Al<sup>+3</sup>, toprakta kompleks alüminyum silikatlar halinde bulunur. Topraklarda bulunan Al<sup>+3</sup> iyonu, karbonat, bikarbonat ve fosfat ile bileşik oluşturabilir. Al<sup>+3</sup>'ün iyon formunda veya kompleks formunda bulunması toprak reaksiyonu tarafından etkilenir, asit topraklarda Al çözünürlüğü artar. Al bitki besin elementi olmamasına rağmen, konsantrasyonunun yüksek olduğu topraklarda bitkiler tarafından alınabilir.

Vücuda girişi sindirim yolu ile olan ve sindirim sisteminden direkt kana geçen Al'un büyük kısmı, kemik ve akciğer olmak üzere çeşitli dokularda depolanmaktadır. Normal sağlıklı insanlarda alüminyum böbrek yolu ile vücut dışına atılmaktadır [4]. Endokrin bozan kimyasallar sınıflamasında ağır metallerden; Pb, Cd, As, U, ve Hg yer almaktadır [14].

### Toprakta Ağır Metal Kirliliğine Neden Olan Uygulamalar

Çevresel etkilerin değişmesi, toprağın ve suyun değişik nedenlerle kirlenmesi, beslenmenin düzensizliği insanlarda bu metallerin değişik oranlarda alınmasına neden olmakta, bunun sonucunda insanda toksik etkileri ortaya çıkabilmektedir.

Toprakların ağır metal içerikleri, toprağın oluşumu sırasında üzerinde olduğu ana materyalin yapısındaki minerallerin çeşidine ve toprağa dışardan ilave edilen maddelerin bileşimindeki ağır metal çeşidi ile miktarına göre değişiklik göstermektedir. Toprakta bulunan ağır metaller iyon, şelat veya bileşik formunda bulunabilmektedirler. Ağır metallerin bulunduğu formu etkileyen önemli toprak özellikleri; toprak bünyesi, kil çeşidi, su miktarı, toprak sıcaklığı, kation değişim kapasitesi, redoks potansiyeli, toprak reaksiyonu (pH), toprağın kireç içeriği, toprağın fosfor içeriği, karbonat ve bikarbonat iyonları konsantrasyonu, besin elementleri arasındaki oran, toprağın organik madde içeriği ve organik maddenin bileşimi gibi özelliklerdir. Toprakların adsorbsiyon kapasitelerine göre az veya çok miktarda ağır metali tutması, toprakların tamponlama kapasiteleri nedeni ile olmaktadır. Tamponlama kapasitesi düşük olan kumlu ve organik madde içeriği az olan asit özellikteki topraklarda ağır metal içeriği sınır değerler üzerine daha kolay çıkabilmektedir [9].

-Üç Avrupa ülkesi ve ABD'de yapılan arazi çalışmaları sonucunda; yüksek pH, kil ve organik C içeriğinin toprakta metal toksisitesini önemli oranda azalttığı ortaya konmuştur [27].

-Ağır metal ile kirlenmiş olan suların tarımda kullanımı ile tarım topraklarında kirlilik ortaya çıkabilmektedir. Niğde İli Bor İlçesi deri endüstrisi atık sularının toprak kirliliğine etkisinin araştırıldığı çalışmada, deri endüstri atık suyu ile kirlenen sular ile sulanan toprakların ağır metal içeriğine etkisini ortaya koymak için yapılan çalışma sonucunda; Cd içeriğinin standartların altında, Zn, Cr ve Cu içeriğinin bazı yerlerde sınır değerini üzerinde olduğu, bu değerlerin toprakların kireç ve fosfor içeriği tarafından etkilendiğini, kireç içeriğinin yüksek olduğu topraklarda ağır metal konsantrasyonunun düşük olduğu ortaya konmuştur [8].

-İsınma veya sanayide kullanılan bazı kömürlerde ağır metal kirliliğine neden olabilmektedir. Türkiye'de taşkömürü ve linyit kömürünün temizlenmeden, aşırı ve filtresiz kullanımı asit etkisi yanında, toprakta önemli oranda ağır metal kirliliğine neden olabilmektedir [18].

-Bitkiler kökleri vasıtası ile dışarı verdikleri salgılar ile rizosfer bölgesinin reaksiyonunu (pH) etkileyerek, bitkilerin besin elementlerini kökleri ile aldıkları yer olan rizosfer bölgesinde bulunan ağır metallerin çözünürlüklerini etkileyerek, ağır metallerin iyon veya bileşik formuna geçmesine neden olabilmektedirler. Bu durum, bitkilerin çeşit ve türlerine göre değişmekte, bazı bitkiler rizosfer bölgesinin pH'sını bazikleştirerek ağır metallerin iyon formuna geçmesine neden olurken, bazı bitkiler rizosfer bölgesinin pH'sını bazikleştirerek ağır metallerin bileşik formuna geçmesine neden olabilmektedirler. Böylece, toprak özelliklerinin yanı sıra toprakta yetişen bitkilerde ağır metallerin topraktaki alınabilirliği üzerine etkili olabilmektedir [2, 5].

-Toprak özelliklerine bağlı olarak, ağır metaller, toprakta kil mineralleri yüzeyine adsorbe olmakta, kil tabakaları arasında fikse olmakta, karbonat ve bikarbonat halinde çökelebilmekte, Fe, Al oksitler gibi oksitler içerisinde tutulabilmekte veya organik bileşikler ile şelat oluşturarak kararlı forma dönüşebilmektedirler.

Bunun dışında topraklarda yapılan yoğun kimyasal azotlu gübrenin NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> formu toprakların asitleşmesine neden olarak ağır metallerin alınabilirliğini artırabilmektedir [20].

Fosfatlı gübrelerde yüksek konsantrasyonlarda kadmiyum bulunduğu için, gübre uygulanan tarımsal alanlarda kadmiyumun toprağa; oradan da yetiştirilen ürünlere geçme olasılığının yüksek olduğu, gübre uygulamasının tarımsal alanlarda uygulanma süresi arttıkça toprağa ve oradan da yetiştirilen ürünlere geçen ağır metal miktarının yükseldiği bildirilmektedir [7].

Toprakta ağır metal kirliliğinin toprak ekosistemi ve insan sağlığına olan etkilerinin fark edilmesinin ardından, başlangıçta topraklarda ağır metal kirliliğini belirlemeye yönelik araştırmalar yapılmış, daha sonraları ağır metallerle kirlenen topraklarda yetişen bitkilere geçen ağır metal düzeylerini belirlemek için kirli topraklarda yetişen bitkilerde yapılan ağır metal düzeyini belirlemeye yönelik araştırmalara ağırlık verilmiştir.

Yapılan araştırma sonuçlarından elde edilen veriler doğrultusunda, bir çok ülkede toprak kirlilik düzeyini gösteren haritalar oluşturularak, kirlilik düzeyine göre bitkisel üretim planlaması, toprak yönetimi, kirliliği gidermede kullanılacak yöntemlerin belirlenmesi konusunda ilerlemeler kaydedilerek toprak kalite kriterleri oluşturulmuştur.

Çin'de yapılan çalışmalarda, toprakta yapılan ağır metal analiz sonuçları ve toprak kalite indeksleri kullanılarak belli formüller yardımı ile toprak kirlilik riski, gıda kirlilik riski,

sağlık riski ve kanser riski ile ekolojik riskler gibi veriler elde edilmiştir [40, 44, 6, 43]. İnsan sağlığının korunması açısından benzer çalışmaların ülkemizde de yapılması gerekmektedir.

#### Sonuç olarak;

Tarıma elverişli toprak miktarı fazla olmadığı için, Dünyada ve ülkemizde tehlike oluşturan ağır metallerin neden olduğu toprak kirliliğinin meydana gelmemesi için gerekli önlemlerin alınması ve oluşan kirliliği en aza indirmek halk sağlığını koruma açısından önemlidir. Bu nedenle acil önlemler alınmalıdır.

#### Bu önlemler;

- Sanayi ve endüstri alanında yer alan fabrikaların her türlü (katı, sıvı ve gaz) atıklarının arıtılmadan doğaya atılmalarının engellenmesi,
- Maden alanlarından çıkan atıkların titizlikle depolanması ve arıtılması,
- Araçlarda kurşunsuz benzinin kullanımının sağlanması, sanayide ve kentsel alanlardakaliteli yakıt kullanılması,
- Nükleer ve sanayi tesislerinin sağlam ve dayanıklı zeminlere yapılması, deprem bölgelerine bu tür tesislerin yapılmaması,
- Şehir çöplerinin kurulacak tesislerde işlenmesi,
- Toplumda çevre bilincinin geliştirilmesi için çalışmalar yapılması,
- Ağır metal ile kirlenmiş topraklarda yapılacak iyileştirme çalışmaları ile ağır metallerin bitkiler tarafından alınamayacak formlara dönüştürülmesi ve/veya ağır metallerle kirlenmiş topraklarda gıda olarak tüketilecek bitkilerin üretiminin yapılmaması, ağır metal kirliliği olan topraklar ile insanların temasının önüne geçilmesinin sağlanması,
- İnsan ve çevre sağlığını tehdit edebilecek uygulamaların önüne geçilebilmesi için, gerekli hukuki düzenlemelerin yapılması veya güncellenmesi, etkin kontrol mekanizmalarının oluşturulması, etkilenen alanların öncelikli olarak belirlenmesi, etkilenen alanlarda yaşayan insanlardaki etkileri belirlemek için araştırmaların yapılması,
- Toprak kirliliğinin belirlenmesi, giderimi ve yaptırımlarına ilişkin çalışmaların artırılması büyük önem taşıdığı için, başarılı bir toprak kirliliği kontrolü, öncelikle kirlenmiş alanların belirlenmesi, incelenmesi ve sınıflandırılması,
- Toprak özellikleri belirlendikten sonra toprakların kirlilik düzeyi ile kirlilik kaynağını belirten toprak haritaları oluşturulmalı, toprakların iyileştirilmesinde uygulanacak yöntem ve teknikler ile ilgili programlar oluşturulmalıdır.

Yukarıda açıklanan önlemler ve uygulamalar sağlanarak toprakta meydana gelebilecek ağır metal kirliliğinin insan sağlığına olan olumsuz etkilerinin önüne geçilebilecektir. Konu ile ilgili yapılan araştırma sonuçları ile ortaya konan bu sorunun çözümü için; toprak bilimcileri, bitki yetiştiricileri, halk sağlığı ve çevre mühendisliği konusunda çalışan araştırmacıların birlikte yapacakları çalışmaların sonuçları konunun detaylandırılması ve insan sağlığının korunması açısından yararlı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- [1] Agget, R.J., Devis, N.T., 1983. Some Nutritional Aspect of Trace Metals. J. Inherent Metabolic Dis. 6: 22-30.
- [2] Aktaş, M., 1994. Bitki Besleme ve Toprak Verimliliği. A.Ü.Zir.Fak.,Yayınları:1322, Ankara
- [3] Anderson, R.A., 1987. Chromium. In Mertz,W (Ed.). Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 5<sup>th</sup>.ed. Vol.1. Academic press, Orlando, Fla.
- [4] Bakar, C., Baba, A., 2009. Metaller ve İnsan Sağlığı: Yirminci Yüzyıldan Bugüne ve Geleceğe Miras Kalan Çevre Sağlığı Sorunu, 1. Tıbbi Jeoloji Çalıştayı, 30 Ekim-1 Kasım, Ürgüp Bld., Kültür Merkezi, Ürgüp/ NEVŞEHİR
- [5] Brohi, AR., Aydeniz, A., Karaman, MR. 1995. Toprak Verimliliği. G.O.P.Üniv.,Zir.Fak.Yay:5 Kitaplar Serisi: 5, Tokat
- [6] Chen, H., Teng, Y., Lu, S., Wang, Y., Wang, J., 2015. Contamination Features and Health Risk of Soil Heavy Metals in China Science of the Total Environment 512-513 ,143-153
- [7] Cupit, M., Larsson, O., de Meeus, C., Eduljee, GH., Hutton, M. 2002. Assessment and Management of Risks Arising From Exposure to Cadmium in Fertilisers – II. The Science of the Total Environment, 291, 189-206.
- [8] Çelebi, H., Kara, EE., 2007. Niğde ili Bor ilçesi Tabakhanelerinden Çıkan Atıksuların Tarım Topraklarının Kirliliğine Olan Etkisinin Araştırılması. Uluslararası Küresel İklim Değişikliği ve Çevresel Etkileri Kongresi. 18-20 Ekim 2007. Konya-TÜRKİYE
- [9] Çepel, N., 1997. Toprak Kirliliği, Erozyon ve Çevreye Verdiği Zararlar. TEMA (Türkiye Erozyonla Mücadele, Ağaçlandırma ve Doğal Varlıkları Koruma Vakfı) Yayınları No: 14, İstanbul.
- [10] Çobanoğlu, Z., Güler, Ç., 1997. "Toprak Kirliliği", Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, 40, 1.Basım. T.C.Sağlık Bakanlığı, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara.
- [11] Demir, G., Özcan, HK., Özdemir, H., Pektaş, AO., Oruc, I., Büyükyıldız, M., 2016. Heavy Metal Concentrations of Selected Public Parks of İstanbul City. 2<sup>nd</sup> International Conference on Chemical Materials and Process (ICCMP 2016).May 11-13 Copenhagen, DENMARK Book Series:
- [12] Golden, MH., 1982. Trace Elements in Human Nutrition. Hum.Nutr. Clin.Nutr. 36(3): 185-189.
- [13] Göçmez, S., 2006. Menemen Ovası Topraklarında İz Su Kentsel Arıtma Çamuru Uygulamalarının Mikrobiyal Aktivite ve Biyomas ile Bazı Fiziksel ve Kimyasal Toprak Özellikleri Üzerine Etkisi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Anabilim Dalı, Doktora Tezi (Yayımlanmamış)., Bornova, İZMİR
- [14] Gökerik, M., 2012. Endokrin Bozucu Kimyasallar ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı Bitirme Ödevi Mayıs-2012, Kayseri.
- [15] Haktanır, K., Arcak, S., Erpul, G., Tan, A., 1995. Yol Kenarlarındaki Topraklarda Trafikten Kaynaklanan Ağır Metal Birikimi. Tr., J., of Engineering and Environmental Sciences. 19, 423-431.
- [16] Kabala, C., Singh, BR., 2001. Fractionation and Mobility of Copper, Lead, and Zinc in Soil Profiles in the Vicinity of a Copper Smelter. Journal of Environmental Quality, 30, 485-492.
- [17] Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S., 2004. Metallerin Çevresel Etkileri-I, İTÜ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, İstanbul.



- [18] Kantarcı, MD., 1992. Zararlı Maddelerin Orman Topraklarına Etkileri. *Katı Atık ve Çevre*. 8, 14-27.
- [19] Kara, E., 1999. İnsan Sağlığı ve İş Güvenliği Açısından Kurşun Metalinin Çalışanlara ve Çevreye Etkileri. (Adana il'inde egzoz gazındaki kurşun etkisinde kalan trafik polisleri ile ilgili inceleme). T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı, Yakın ve Orta Doğu Çalışma Eğitim Merkezi (YODÇEM). Yayın No:18.ISBN 975-455-061-1, Ankara.
- [20] Kara, EE., Pırlak, U., Özdilek, HG., 2004. Evaluation of Heavy Metals (Cd, Cu, Ni, Pb and Zn) Distribution in Sowing Regions of Potato fields in the Province of Niğde, Turkey. *Water, Air and Soil Pollution*. 153: 173-186
- [21] Kent, C., 1998. *Basics of Toxicology*. New York, NY: John Wiley & Sons, Inc.
- [22] Kocaer, FO., Başkaya, SH., 2003. Metallerle Kirletilmiş Toprakların Temizlenmesinde Uygulanan Teknolojiler. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 8(1):121-131.
- [23] Koch, D., Grupe, M., 1993. Mobility of Heavy Metals of Geogenic/Antropogenic Origin. *Mitteilungen-der-Deutschen-Bodenkundlichen-Gesellschaft*. No:72, 1, 385-388.
- [24] Latif, MT., Yong, SM., Saad, A., Mohamad, N., Baharudin, NH., Mokhtar, BB., Tahir, NM., 2013. Composition of Heavy Metals in Indoor Dust and Their Possible Exposure: A Case Study of Preschool Children in Malaysia. *Air Qual Atmos Health*. 7:181-193.
- [25] Liao, JB., Wen, ZW., Ru, X., Chen, JD., Wu, HZ., Wei, CH., 2016. Distribution and Migration Heavy Metals in Soil and Crops Affected by Acid Mine Drainage: Public Health Implications in Guangdong Province, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol:124 P:460-469.
- [26] McGowen, SL., Basta, NT., Brown, GO., 2001. Use of Diammonium Phosphate to Reduce Heavy Metal Solubility and Transport in Smelter Contaminated Soil, *Journal of Environmental Quality*, 30, 493-500.
- [27] McGrath, SP., Chaudri, AM., Giller, KE., 1994. Long-Term Effects of Land Application of Sewage Sludge Soils Microorganisms and Plants, In 15<sup>th</sup> World Congress of Soil Science, Acapulco/Mexico.
- [28] Melo, LCA., Alleoni, LRF., Swartjes, FA., 2011. Derivation of Critical Soil Cadmium Concentrations for the State of Sao Paulo, Brazil, Based on Human Health Risks. *Human and Ecological Risk Assessment*. Vol:17, Iss:5 P:1124-1141.
- [29] Mkhabela, MS., Warman, PR., 2005. The Influence of Municipal Solid Waste Compost on Yield, Soil Phosphorus Availability and Uptake by Two Vegetable Crops Grown in a Pugwash Sandy Loam Soil in Nova Scotia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 106, 57-67.
- [30] Muslu, Y., 1985. Su Temini ve Çevre Sağlığı. İstanbul Teknik Üniversitesi, İnşaat Fakültesi, Çevre Müh. Böl. İTÜ Matbaası. Cilt III; İstanbul.
- [31] Neisi, A., Goudarzi, G., Babael, AA., Vosoughi, M., Hashemzadeh, H., Naimabadi, A., Mohammadi, MJ., Hashemzadeh, BÇ., 2016. Study of Heavy Metal Levels in Indoor Dust and Their Health Risk Assessment in Children of Ahvaz City Iran. *Toxin Reviews*. Vol:35 Iss:1-2 P:16-23.
- [32] Özbek, H., Kaya, Z., Gök, M., Kaptan, H., 1993. Scheffer/Schachtschabel Toprak Bilimi (12.Baskı) Çeviri. P.Schachtschabel., H.P. Blume., G.Bbümmer., K.H. Hartge., U.Schwertmann. Ç.Ü.Ziraat Fak.Genel Yayın No:73, Ders Kitapları Yayın No:16, ADANA.
- [33] Praveena, SM., Abdul Mutalib, NS., Aris, AZ., 2015. Determination of Heavy Metals in Door Dust from Primary School (Sri Serdang, Malaysia): Estimation of Health Risks. *Environmental Forensics* 16: 257-263.
- [34] Sezgin, N., Ozcan, HK., Demir, G., Nemlioglu, S., Bayat, C., 2003. Determination of Heavy Metal Concentrations in Street Dusts in Istanbul E-5 Highway. *Environment International* Vol:29, 979–985.
- [35] Tok, HH., 1997. Çevre Kirliliği, Trakya Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü Yayınları, Syf.266. Tekirdağ.
- [36] Tokaloğlu, Ş., Kartal, Ş., 2006. Multivariate Analysis of the Data and Speciation of Heavy Metals in Street Dust Samples from the Organized Industrial District in Kayseri (Turkey). *Atmospheric Environment*, Vol: 40 2797–2805
- [37] Topbaş, M., Brohi, AR., Karaman, MR., 1998. Çevre Kirliliği. T.C. Çevre Bakanlığı Yayınları Syf.13-37-83, Ankara.
- [38] U.S. Department of Health and Human Services. 1991. Toxicological Profile for Lead. Agency for Toxic Substances. 1-303. 1991.
- [39] Vural H. 1993. Ağır Metal İyonlarının Gıdalarda Oluşturduğu Kirlilikler. *Çevre Dergisi* 1993; 8: 3-8.
- [39] Wan, D., Han, Z., Liu, D., Yang, J., 2016. Risk Assessments of Heavy Metals in House Dust from a Typical Industrial Area in Central China. *Human and Ecological Risk Assessment*. Vol:22, No:2 489-501.
- [40] Wang, Y., Liu, Y., Zhu, Y., 2012. Health Risk Assessment of Heavy Metals in Soils and Vegetables from Wastewater Irrigated Area, Beijing-Tianjin City Cluster, China *Journal of Environmental Sciences*. 24(4), 690–698.
- [41] WHO/IPCS., 1992. *Environmental Health Criteria Document 134. Cadmium*, WHO. Genova
- [42] WHO/IPCS., 1993. *Principles for Evaluating Chemical Effects on the Aged Population*, Environmental Health Criteria Document 144. IPCS, WHO, Genova
- [43] Wu, S., SiqingPeng, S., Zhang, X., Wu, D., Luo, W., Zhang, T., Zhou, S., Yang, G., Wan, H., Wu, L., 2015. Levels and Health Risk Assessments of Heavy Metals in Urban Soils in Dongguan, China *Journal of Geochemical Exploration*, 148, 71–78
- [44] Zhao, Q., Wang, Y., Cao, Y., Chen, A., Ren, M., Ge, Y., Yu, Z., Wan, S., Hu, A., Bo, Q., Ruan, L., Chen, H., Qin, S., Chen, W., Hu, C., Tao, F., Xu, D., Xue, J., Wen, L., Li, L., 2014. Potential Health Risks of Heavy Metals in Cultivated Topsoil and Grain, Including Correlations with Human Primary liver, Lung and Gastric Cancer, in Anhui Province, Eastern China. *Science of the Total Environment* 470–471, 340–347.
- [45] Zheng, XY., Pang, LH., Wu, JL., Pei, LJ., Tan, LF., Yang, C., Song, XM., 2012. Contents of Heavy Metals in Arable Soils and Birth Defect Risks in Shanxi, China: A Small Area Level Geographic Study. *Population and Environment*. Vol:33 Iss:2-3 P 259-268.



## Nanoparçacıkların Ölçme ve İnceleme Teknikleri

Mehmet ATEŞ\*

\*Munzur Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Aktuluk Yerleşkesi, 62000. Tunceli

\*Sorumlu Yazar:

E-posta: atesnrg@gmail.com

Geliş Tarihi : 06 Eylül 2018

Kabul Tarihi: 29 Ekim 2018

### Özet

Nanoparçacıkların (NP'lerin) tanımlanması için çok geniş ölçme ve inceleme analiz teknikleri olmasına rağmen, çevresel ve sıvı matrislerde NP'ların miktarını ve özelliklerini ölçmede kullanılan çok az sayıda analitik ve spektroskopik metotlar vardır. Bu analiz tekniklerinde olan Dinamik Işık Saçıcısı (DLS), NP'ların bulunduğu kolloidal (sıvı ortam) çözelti ortamında boyutlandırılması ve süspansiyonlarda kümeleşimlerini belirlemek için kullanılır. Zeta Potansiyeli, parçacık ile parçacığın içinde bulunduğu sıvı arasında oluşur. Zeta Potansiyeli, bir parçacığın dağıldığı yığın sıvısı ve NP yüzeyi ile alakalı zıt yüklü iyonları içeren sıvı tabakası arasındaki potansiyel farkının bir ölçüsüdür. NP'ların görüntülenmesi için Geçirimli Elektron Mikroskopu (TEM) ve Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) analiz yöntemleri, parçacıkların boyutunu, yapısını, şeklini, kümeleşimi ve dağılımı belirlemede başarılı bir şekilde uygulanır. Atomik Kuvvet Mikroskopu (AKM) ile de moleküller arası kuvvetler hassas bir şekilde ölçülebilir ve özel bir hazırlama işlemi gerektirmeden malzemeler her ortamda görüntülenebilir. NP'ların yapısal karakterizasyonu için uygun olan X-Işını Kırınım Spektroskopisi yöntemi kristalografik bilgi sağlarken, NP yüzeyleri ve kaplamalarının karakterizasyonu için de kullanılabilir. Bir NP'lün molekül veya bileşik yapısında bulunan bağlar hakkında tanımlayıcı bilgi sağlamak için Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometre (FT-IR) kullanılır. İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) ile başta metalik elementler olmak üzere periyodik tablodaki elementlerin büyük çoğunluğunun nicel ve yarı-nitel tayinlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemle iz element derişimlerinin belirlenmesiyle, herhangi bir çözeltideki metal bazlı NP'ların konsantrasyonun hesaplanması yapılabilir. Ayrıca bir Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi (UV-Vis) dedektörü ile birlikte florasan NP'lar ve kolloidlerin karakterizasyonu mümkündür. NP'ların derişimi belirli bir dalga boyundaki absorpsiyonunu UV-Vis spektroskopinde ölçerek bulunur. Tüm bu teknikler ve ölçüm yöntemleri bu çalışmamızda detaylı bir şekilde bilgi verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Nanopartikül, Karakterizasyon, DLS, Zeta potansiyeli, TEM, SEM, AKM, XRD, FT-IR, ICP-MS, UV-Vis.

## Measuring and Inspection Techniques of Nanoparticles

### Abstract

Although there are too many large measuring and examining analysis techniques to define the nanoparticles (NPs), there are only a few analytic and spectroscopic methods used to measure the amounts and the characteristics of NPs in environmental and liquid matrixes. Dynamic Light Scattering (DLS), one of these analysis techniques, is used to size in colloidal (liquid environment) solution that has NPs in, and to define the clustering in suspensions. Zeta potential occurs between particle and liquid that particle in. Zeta potential is a measure of the potential difference between the bulk liquid from which a particle is dispersed and the liquid layer containing the oppositely charged ions associated with the NP surface. For the imaging of NPs, Transmission Electron Microscopy (TEM) and Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis methods are applied successfully to determine the size, structure, shape, clustering and distribution of particles. Also, intermolecular forces can be accurately measured and the materials can be displayed in any environment without requiring a special preparation process with Atomic Force Microscope (AFM). The X-Ray Diffraction (XRD) Spectroscopy method which is suitable for the structural characterization of NPs can be used for the characterization of NP surfaces and coatings while providing crystallographic information. Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) is used to provide descriptive information about the bonds in a molecule or compound structure of an NP. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) is widely used in quantitative and semi-qualitative determination of the majority of the elements in the periodic table, especially in metallic elements. By determining the trace element concentrations thanks to this method, the concentration of metal-based NPs in any solution can be calculated. Moreover, the characterization of fluorescent NPs and colloids is possible with an Ultraviolet-Visible Spectroscopy (UV-Vis) detector. The concentration of NPs is determined by measuring specific wavelength absorption at UV-Vis spectroscopy. All of these techniques and measurement methods were given in detail in this study.

**Keywords:** nanoparticle, characterization, DLS, Zeta potential, TEM, SEM, AKM, XRD, FT-IR, ICP-MS, UV-Vis.

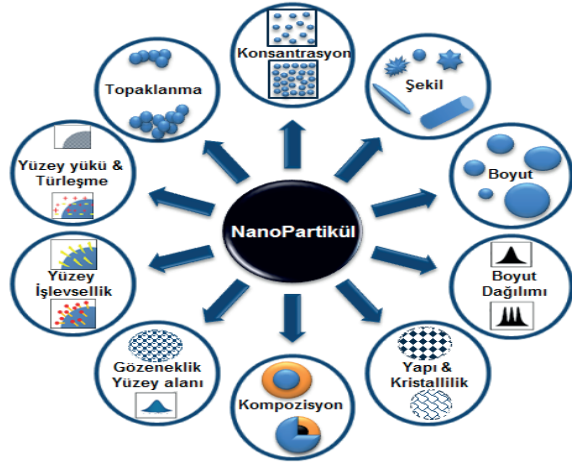
## GİRİŞ

Nanobilim ve nanoteknoloji doğası gereği disiplinler arası bir çalışma alanıdır. Öyle ki nano ölçekteki bir yapıyı tam anlamıyla kavramak için fizik, kimya ve biyoloji temel bilimlerini derin bir anlayışın yanı sıra malzeme, elektronik, makine, kimya mühendisliği ile biyomühendisliği uygulama bilgisi de gerekmektedir. Nanoteknolojinin uygulanması, geleneksel malzemelerin temel fiziksel ve kimyasal özelliklerinin değiştirilmesine izin verir. Malzemenin boyutlarını nano ölçeğe dönüştürdüğü için değişiklikler yapılmasına olanak tanır ve benzersiz elektriksel, optiksel ve mekanik özelliklere sahip yeni malzemeler sunar. En az bir boyutu 100 nm veya daha az olan nano materyaller dolgu malzemesi, katalizörler,

yarı-iletkenler, kozmetik, mikroelektronik, eczacılık, ilaç taşıyıcıları, enerji depolama ve sürtünmesiz kaplama malzemeleri gibi ticari amaçlar için gittikçe artan ölçüde kullanılmaktadırlar [1]. Nano yapı malzemelerin veya diğer adlandırılması ile nanoparçacıkların (NP'lerin) nanotoksikite etkilerinin belirlenmesi; kullanılan malzemenin parçacık numarası, yükleri, boyutları ve boyut dağılımları, yüzey alanları, yapıları ve şekilleri [2,3], kümeleşim durumları ve element yapıları [4], kompozisyon ve konsantrasyon oranı gibi birçok faktörlerden etkilenmektedir. *İn-vivo* (canlı ortamda ya da yaşayan koşullarda) veya *in-vitro* (laboratuvar ortamında veya yapay koşullarda) tüm nanotoksikolojik araştırmalarda bu faktörleri belirlemek veya göz önünde bulundurmamak gerekir. Malzemelerin karakteristik

özellikleri, yapısına ve kullanıldığı prosese göre değişkenlik göstermektedir.

Nano yapıdaki malzemeler, yığın (makro) halinde gösterdikleri özelliklerden çok farklı etkin özellikler gösterebilmektedirler. Özellikle 100 nm'den küçük boyuttaki malzemelerle toksikolojik biyodeneji veya biyomühendislik alanında herhangi bir çalışma yapılırken, malzemenin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin iyi belirlenip çalışmanın amacına uygun olup olmadığı belirtilmelidir. Çalışmalarda kullanılacak olan karbon nanotüpleri, kuantum noktacıkları veya metal bazlı NP'ların şekil, boyut, boyut dağılımı, yapı ve kristallilik, kompozisyon, gözeneklilik ve yüzey alanı, yüzey işlevsellik, yüzey yükü ve türleşme, topaklanma ve konsantrasyon gibi analizler yapılarak malzemenin karakterizasyon özellikleri belirlenmektedir (Şekil 1). NP'ların tanımlanması için çok geniş analiz yöntemleri olmasına rağmen, çevresel ve sıvı matrislerde (ortamın genel dokusu) NP'ların miktarını ve özelliklerini ölçmede kullanılan çok az sayıda analitik ve spektroskopik metotlar vardır. Nano malzemelerin kolloid fazları ve kümeleşimleri oluşturma yeteneği, farklı yüzeye tutunma ve emilim karakteristikleri ile şekil ve boyutlarındaki çeşitlilik onların miktarının ölçülmesini zor kılar [1].



Şekil 1. Nanoparçacıkların karakterizasyon analizlerini gösteren şematik model

Mühendislik ürünü sonucunda tasarlanmış olan metal veya karbon bazlı nano yapıları malzemelerin parçacık boyutu, şekli, yüzey alanı, yüzey reaktivitesi ve çözünürlüğünün belirlenmesi gibi araştırma konuları karakterizasyon çalışmaları için çok önemli başlıklardır. Bu doğrultuda biyodeneji çalışmalarında sıklıkla kullanılan ve NP'ların karakterizasyonu için yapılması elzem olan mikroskopi, kromatografi, spektroskopi, santrifüjleme, filtreleme ve diğerleri gibi bazı teknik türleri vardır [1]. Nanoölçekte ölçme ve görüntüleme özel yöntemler gerektirir, mikroskobik büyüklükler için geliştirilen ve kullanılan yöntemler nanoölçekte kullanılamazlar. Bu makalede, nanoölçekteki büyüklükler için geliştirilmiş ve kullanılan başlıca ölçme ve görüntüleme yöntemlerinden kısaca bilgi verilmektedir. Özellikle nanotoksikolojik biyodeneysel çalışmalarında kullanılan NP'ların karakterizasyonu için yapılan analiz yöntemlerinden; Parçacık boyutu ve zeta potansiyel ölçüm teknikleri, mikroskobik ve spektroskopik teknikleri hakkında genel bilgiler sunulmaktadır. Ayrıca karakterizasyon için hangi cihazlar ne amaçla kullanılacağı ve her analiz yöntemin çalışma sistemi hakkında bilgiler verilmiştir.

## Koloidal Boyut Ve Yüzey Ölçüm Teknikleri Dinamik Işık Saçılması

Dinamik Işık Saçıcısı (DLS) NP'ları ve diğer koloidal çözeltileri karakterize etmek için önemli bir araçtır. DLS, koloidal çözeltiden geçirilen bir lazerden saçılan ışığı ölçer. Saçılmış ışık yoğunluğunun modülasyonunu zamanın bir fonksiyonu olarak analiz ederek, çözeltideki parçacığın büyüklüğü hakkında bilgi edinilebilir. DLS, seyreltik çözelti içerisindeki NP'lardan saçılan ışığın şiddetinin ve değişiminin ölçülmesi temeline dayanır. Saçılan ışığın şiddetindeki değişim, parçacığın hareketine, büyüklüğüne, ortamın viskozitesine, sıcaklığa ve tuzluluk gibi faktörlere bağlıdır. Sıvı ortamdaki NP'ların karakteristik özellikleri açısından DLS analizlerin yapılması önemlidir [5]. Bu açıdan her bir NP'ın sulu ortamdaki (solüsyon/medium) gerçek boyut dağılımı DLS ölçümleri için nanosizer cihazları ile belirlenir. Parçacık boyut ölçümü, akışkan bir sıvı içerisinde yüzen veya asılı kalan parçacıklar, içinde bulunduğu çözücü moleküllerin bombardmanı ile rastgele hareketi sonucu brown hareketi yaparlar. DLS tekniği kullanılarak brown hareketinin hızı ölçülür ve parçacık boyutu ile ilişkilendirilir. Brown hareketinin ölçülebilmesi için akışkanın viskozitesi ve sıcaklığının bilinmesi gerekir. Numune sıcaklığı ile analiz sıcaklığının aynı olması gerekmektedir. Aksi takdirde örnek içinde oluşacak konveksiyon akımı taneciklerin düzensiz olmayan hareketine yol açar. Buda boyut algısını bozar [6, 7, 8].

DLS analizi, daha büyük parçacıkların daha yavaş hareket ettiği ve küçük parçacıklardan daha fazla ışık saçtığı çözelti (Brown çözeltisi) içindeki parçacıkların difüzyon hareketine dayanmaktadır. Parçacık boyutu büyüdükçe Brown hareketi yavaşlarken, sıcaklık yükseldikçe Brown hareketi hızlanır. Brown hareketin hızı "difüzyon katsayısı" ile tanımlanır. DLS ile ölçülen çap değeri bir parçacığın sıvı içerisinde nasıl hareket ettiğini gösterir. Buna hidrodinamik çap denir. Hidromatik<sup>1</sup> çap (karakterize edilen parçacıklarla aynı hızda yayılan varsayımsal geçirgen olmayan bir kürenin çapı), saçılma yoğunluğu ölçümlerinin zamana bağlılığından ölçülebilir. Elde edilen çap değeri parçacıkla aynı difüzyon katsayısına sahip kürenin çapıdır. Bu difüzyon katsayısı sadece parçacıkların esas boyutuna bağlı değildir, aynı zamanda ortamdaki iyonların tipine ve konsantrasyonuna da bağlıdır [8, 9, 10]

**DLS Ölçüm Yöntemi:** NP'ların gerçek boyut dağılımları, deiyonize su, ultra saf su veya uygun çözdürücü içinde hazırlanan stok süspansiyonlarında numuneler alınarak incelenir. Eğer hazırlanan konsantrasyonun çok yüksek olması durumunda, numunenin seyreltilip cihazın saniyede sayım elde edebileceği düşük konsantrasyonlara (<10 ppm) ayarlanmalıdır. Bu analiz için gerekli numune miktarı minimum 1mL'dir. Ancak doğru sonuçların elde edilmesi için hazırlanan nihai konsantrasyondan en az üçer kez örnek alınarak analizler yapılmalıdır [9, 10].

## Zeta Potansiyeli

Zeta Potansiyeli, parçacık ile parçacığın içinde bulunduğu sıvı arasında oluşur. Parçacıklar arasında itme ve çekme kuvvetleri oluşmasına neden olur. Bir sıvı içerisindeki aynı yükteki parçacıklar birbirlerini iter, farklı yükteki parçacıklar ise çeker. Bu çekme ve itme kuvveti parçacığın zeta potansiyel değerine bağlıdır [11]. Zeta potansiyel ölçümü dağılıma mekanizmaları ile ilgili ayrıntılı bilgi verir ve elektrostatik dağılım kontrolünün anahtarıdır. Belli bir yükteki parçacık, süspansiyon

*1-Basinç oluşturan, sıvı ile çalışan sistem*

içerisindeki karşı yükteki iyonları çeker, bunun sonucunda yüklü parçacık yüzeyinde güçlü bir bağ yüzeyi oluşur ve daha sonra da yüklü parçacığın yüzeyinden dışa doğru yayılmış bir yüzey oluşur. Yayılmış bu yüzey içerisinde “kayma yüzeyi” diye adlandırılan bir sınır bulunur. Yüklü parçacık ve onun etrafında bulunan iyonların kayma yüzey sınırına kadar olan kısım tek bir parça olarak hareket eder. Bu kayma yüzeyindeki potansiyel zeta potansiyeli olarak isimlendirilir ve hem parçacığın yüzey yapısından hem de içinde bulunduğu sıvının içeriğinden etkilenir. Parçacıkların polar sıvılar içerisindeki davranışlarını yüzeylerindeki elektrik yükü ile değil, zeta potansiyel değerleri (+/-  $\zeta$  mV) belirlenir [7, 8, 12]. Elektrokinetik potansiyeli olarak da bilinen zeta potansiyeli, NP yüzeyindeki “etkili” elektrik yükünün ölçüsüdür ve koloidal NP’ların yük kararlılığının miktarını belirtir. Bir NP net bir yüzey yüküne sahipken, yük NP yüzeyine yakın bulunan zıt yüklü artan bir iyon konsantrasyonu tarafından kamufle edilir. Bu zıt yüklü iyon tabakası NP ile hareket eder ve yüzey yük tabakası ve zıt yüklü iyonlar beraber elektrik çift tabaka olarak adlandırılır.

Zeta potansiyeli yüzey yük yoğunluğu ve çift tabaka kalınlığı ile ilgilidir. Yüzey yük yoğunluğu ise potansiyel belirleyici iyonların konsantrasyonuna bağlıdır. NP yüzeyindeki yükün büyüklüğünün çözelti pH’sına bağlı olduğu gözönünde bulundurulmalıdır. Aslında, yüzey yükü izoelektrik noktası denen belli bir pH’da sıfıra indirgenebilir. Bir çok sistemde  $H^+$  iyonu potansiyel belirleyici iyon olduğu için zeta potansiyeli pH’a bağlıdır. Zeta potansiyel parçacığın içinde bulunduğu sıvının pH değeri ile değişir. Değişimin sıfır eksenini kestiği pH değeri “izoelektrik nokta” olarak adlandırılır [13]. Zeta potansiyeli düşük pH değerleri için pozitif ve yüksek pH değerleri için negatiftir. Zeta Potansiyelinin büyüklüğü parçacık kararlılığı hakkında bilgi sağlar, daha yüksek büyüklükteki potansiyeller artan elektrostatik itme ve dolayısıyla artan kararlılığı göstermektedir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Nanoparçacıkların zeta potansiyel değeri ile kararlılığı arasındaki ilişki.

Zeta değeri	Nanoparçacıkların kararlılığı
0-5 mV	Parçacıklar kümeleşme veya bir araya gelme eğilimi sergilerler,
5-20 mV	Parçacıklar minimal düzeyde kararlıdır,
20-40 mV	Parçacıklar orta düzeyde kararlıdır,
40+ mV	Parçacıklar son derece kararlıdır.

**Zeta Potansiyeli Ölçüm Yöntemi:** Zeta potansiyeli iki altın elektrot içeren bir hücreye bir çözelti eklenerek ölçülür. Elektrota bir voltaj uygulandığında, parçacıklar zıt yüklü elektrota doğru hareket ederler. Voltajın bir fonksiyonu olarak parçacık hızını ölçmek için bir Doppler tekniği kullanılır. Hücre içinden lazer geçer ve parçacıklar lazer demeti içinden hareket ederken, saçılmış ışığın yoğunluğu parçacığın hızıyla orantılı bir frekansta dalgaları. Çoklu voltajlardaki parçacık hızı ölçülür ve bu veri zeta potansiyelini ölçmek için kullanılır. Zeta potansiyeli için standart analiz yöntemi esas alınarak DLS analizleri için hazırlanan solüsyonlarda (<10 ppm çözelti) zeta potansiyel analizleri yapılabilir. Zeta potansiyel ölçümleri için şırınga ile çözeltiden 1 mL numune alınarak, temiz elektrotlu Zeta potansiyel kuvetine konularak nanosize cihazında analizler yapılır [13].

### Mikroskopik Teknikle

#### Geçirilmiş Elektron Mikroskobu

Geçirilmiş Elektron Mikroskobu (TEM), görüntüleme ve kırınım tekniklerini birlikte kullanarak malzemelerin mikro yapısal incelemesini ve kristal yapılarının belirlenmesini birlikte sağlayabilen çok özel bir malzeme karakterizasyon cihazıdır. Bir başka deyişle, nanometre mertebesinde çok küçük ve ince alanlardan, milyon katı büyütme malzemenin kristalografik ve morfolojik bilgilerine aynı anda ulaşılmasını olanaklı kılan bir tekniktir. TEM, bir elektron demetinin numuneden geçişini görüntüleyen yüksek büyütme ölçüm tekniğidir [13].

TEM, oldukça ince numuneden elektron demetinin geçirilmesi sonucu numune ve elektronlar arasında meydana gelen çeşitli etkileşimin işlenmesiyle görüntünün elde edildiği bir mikroskop tekniğidir. Geçirilen ışın demetindeki genişlik (amplitude) ve faz değişimleri numune kalınlığının (elektron demetinin geçmesi gereken malzeme miktarı) ve numune malzemenin bir fonksiyonu olan görüntüleme kontrastı sağlar. Bu teknik numuneyi aydınlatmak için ışık değil de elektronları kullandığı için, TEM görüntülemesi ışık-bazlı görüntüleme tekniklerinden kayda değer ölçüde daha yüksek çözünürlüğe sahiptir. Hızlandırılmış elektronlar düşük de Broglie<sup>2</sup> dalga boyundan dolayı oldukça yüksek çözünürlüklü görüntüler elde edilmesini sağlar. Numuneden geçen elektronlar doğrudan görüntü elde edilmede kullanılabilirken çeşitli düzlemlerden meydana gelen ve Laue<sup>3</sup> şartlarını sağlayan kırınım da görüntü elde etmede kullanılmaktadır. Kırınım desenlerinde meydana gelen aydınlık alan ve karanlık alanlar kullanılmasıyla aydınlık/karanlık alan yöntemleri görüntülemeye ayrı ayrı kullanılmaktadır [14, 15, 16].

**TEM Ölçüm Yöntemi:** TEM kullanan NP’ların başarılı bir şekilde görüntülenmesi numunenin arka plana göre nisbi kontrastına bağlıdır. Numuneler, görüntüleme için ince bir karbon tabakası ile kaplı bir bakır ızgara üzerinde NP’ları kurutularak hazırlanır. Elektron yoğunlukları biçimsiz karbondan önemli ölçüde yüksek olan malzemeler kolaylıkla görüntülenir. Bu malzemeler bir çok metali (ör; gümüş, altın, bakır, alimünyum), birçok oksiti (ör; silika, alimünyum oksit, titanyum oksit) ve polimer NP’lar, karbon nanotüpler, quantum noktaları, ve manyetik NP’ları içerirler. TEM görüntüleme, parçacık büyüklüğü, tane büyüklüğü, büyüklük dağılımı ve NP’ların morfolojisini doğrudan ölçmeye tercih edilen bir metottur. Ölçme doğruluğu genelde gerçek değerinin % 3’lük sınırları içindedir. NP’ların TEM görüntülerini elde etmek için, sıvı ortamın çözeltisinin bir damlası (8-10 $\mu$ L) 50 Å kalınlığında ve 3 mm çapındaki karbon-kaplanmış bakır ızgaralar üzerine damlatılıp ve kurutulduktan sonra, parçacığın morfolojik yapısı, çapı ve boyut dağılımını gösteren resimler TEM cihazından elde edilir. Ayrıca imageJ gibi ilgili yazılım programları kullanılarak NP’ların boyut dağılımları oransal olarak da belirlenebilir [15, 16].

### Taramalı Elektron Mikroskobu

2-De broglie dalga boyu, momentumu olan bir hareketliye eşlik eden dalganın dalga boyu anlamına gelir. De Broglie tarafından keşfedildiği için bu adı almıştır. De Broglie hareketlere eşlik eden dalgaların hepsine «Madde dalgaları» adını vermiştir

3-Laue yönteminde sabit kristal den yansıyan radyasyon ölçülerek büyük tek kristallerin yönelimini ve simetrisini belirlemek temel amaçtır

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla parçacık yüzeyin taranması prensibiyle çalışır. SEM yüksek çözünürlüklü resim oluşturmak için vakum ortamında oluşturulan ve aynı ortamda elektromanyetik lenslerle incelenen elektron demeti ile incelenecek malzemeyi analiz etme imkanı sağlar. SEM analizinde görüntü alınması, yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanması, bu elektron demetinin numune yüzeyinde taratılması sırasında elektron ve numune atomları arasında oluşan çeşitli girişimler sonucunda meydana gelen etkilerin uygun algılayıcılarda toplanması ve sinyal güçlendiricilerinden geçirildikten sonra bir katot ışınları tüpünün ekranına aktarılmasıyla yüzey görüntüsü elde edilir [17, 18].

Yüksek vakumda hızlandırılmış elektronlar manyetik lensler kullanılarak incelenecek numune üzerine düşürülür. Elektronlar ile numune arasında çeşitli etkileşimler sonucu geri saçılmış elektronlar, ikincil elektronlar, Auger elektronları ve X-ışınları oluşabilir. Bu sonuçların uygun algılayıcılar yardımıyla toplanması ve tekrar ekrana verilmesi ile görüntü elde edilir. SEM'de genelde ikincil elektronlar görüntü oluşturulmasında kullanılır. Elde edilen görüntülerden tanecik boyutu, taneciklerin yerleşimi hakkında hem mikro hem de nano ölçekte iki boyutlu detaylı bilgiler elde edilebilmektedir [16].

**SEM Analiz Yöntemi:** Sıvı olmayan ve sıvı özellik taşımayan her türlü iletken olan olmayan numune incelenebilir. İletken olmayan numuneler çok ince (yaklaşık 3 Å/saniye) iletken malzemeyle kaplanarak incelenebilir hale getirilir. Biyolojik numuneler sıvı ihtiva edebilir bu tür malzemeleri inceleyebilmek için critical point drier (kritik nokta kurutucu) sayesinde numunenin yapısı ve şekli bozulmadan kurutularak mikroskopta incelemeye elverişli hale getirilir. Hazırlık basamaklarından geçtikten sonra numune Elektron Mikroskobunda incelenmeye hazır hale gelir. Numunenin yapısına göre değişmekte olan vakum süresi beklenir; bu süre ortalama 30dk.'dir. Vakum süresi tamamlandıktan sonra numunenin yüzey şeklinin resmi alınabilir. Numunenin elementel analizini yapmak 3dk. sürer. Ancak süre tamamen incelenecek numunenin yapısına bağlıdır [16, 18].

#### Atomik Kuvvet Mikroskobu

Atomik Kuvvet Mikroskobu (AKM), yüzey topografisini angstrom (Å) (10-10 m) mertebesinde 100 mikrona (µ) kadar görüntüleyebilme kabiliyetine sahip bir mikroskoptur. Bu cihaz ile moleküller arası kuvvetler hassas bir şekilde ölçülebilir ve özel bir hazırlama işlemi gerektirmeden malzemeler her ortamda görüntülenebilir. AKM'de, incelenecek malzemenin fotoğrafını oluşturmak için çapı 100 nm'den daha küçük olan çok ince silikon bir uç kullanılır. Silikon uç malzeme yüzeyinde hareket ederken malzeme üzerindeki atomlar silikon uçtaki atomları itmekte, silikon ucun yüksekliği ayarlanarak malzeme yüzeyine uygulanan kuvvetin sabit kalması sağlanmaktadır. Ölçümleme mekanizması, ucun yukarı aşağı hareketlerini kaydederek bu bilgileri örnek malzemenin yüzeyinin üç boyutlu resmini oluşturacak olan bilgisayara aktarmaktadır. Böylece tam yüzey topografyası kesin yükseklik bilgisiyle birlikte kaydedilebilmekte ve yüzeydeki her bir atom görülebilmektedir. AKM'de, görüntü elde edilmesinin yanında nanoyapıların oluşturulmasında da kullanılmaktadır [8, 16].

AFM, biyomalzemelerin görüntülenmesinde doğal yüzeye belirgin zarar vermediğinden önem kazanmaktadır.

AFM'nin temel gücü, çeşitli biyomalzemeleri sulu sıvılar altında alt nanometre ölçeğinde görüntüleme yeteneğidir. Bununla birlikte, önemli dezavantajı, konsol ucu boyutunun genel olarak incelenen nanomalzemelerin boyutlarından daha büyük olması ve bununla numunelerin yanal boyutlarını olumsuz şekilde aşırı tahmin edilmesine neden olmasıdır. Floresan tekniklerinden farklı olarak, AFM spesifik molekülleri tespit etme veya konumlandırma yeteneğinden yoksundur; bununla birlikte, bu dezavantaj, hücre yüzeylerinde tek fonksiyonel molekülleri araştıran veya saptayabilen bir ligand, hücre adezyon molekülü veya kimyasal grup taşıyan AFM konsol ucu ile tek moleküllü kuvvet spektroskopisindeki son gelişmelerle giderilmiştir [19].

**AFM Analiz Yöntemi:** AFM, taramalı tünelleme mikroskobundan farklı olarak, ölçüm için oksitsiz, elektrik iletken yüzeyler gerektirmez ve bir ucunda keskin uca sahip mikro işlemeli bir konsol (genellikle silikondan veya silisyum nitrürden yapılmış) içeren bir Taramalı Prop Mikroskobu (SPM) görüntüleme aracıdır. Elektrostatik ve van der Waals iticiliğinin neden olduğu konsol ucunun sapmasını ve uçtaki atomlar ile ölçülen yüzeydeki cazibe noktalarını algılamak için ucunda keskin bir uca sahiptir. Titreşimli konsol, daha sonra, yaklaşık 0.5 nm'lik bir dikey çözünürlüğe sahip bir görüntü elde etmek için numunenin yüzeyini tarar. SEM ve TEM teknikleri gibi AFM, nanomalzemelerin boyut, şekil, yapı, emilim, dağılım ve toplanmasını araştırmak için de kullanılabilir, AFM çalışmalarında kullanılan farklı tarama modları, kontaklı mod (statik mod olarak da adlandırılır), kontak modu ve aralıklı numune temas modunu içerir (dinamik mod ve dokunma modu olarak da adlandırılır). Fizyolojik koşullar altında nanomalzemelerin boyut ve şekillerinin araştırılmasına ek olarak AFM, nanomalzemelerin desteklenen lipid çift tabakaları ile gerçek zamanlı etkileşiminin gözlemlenmesi gibi biyolojik durumlarda; mevcut mikroskobik teknikleriyle elde edilemeyen nanomalzemeler arasındaki dinamikleri karakterize etme yeteneğine sahiptir [19].

#### Spektroskopik Teknikler

##### X-Işını Kırınım (Difraksiyon) Spektroskopisi

X-Işını Kırınım Spektroskopisi veya X-Işını Difraksiyon (XRD) spektroskopisi olarak bilinen, isminden anlaşılacağı üzere X-ışını denilen ve Ultraviyole ışından daha kuvvetli fakat Gamma ışınından daha zayıf enerjili ışın kullanılarak yapılan analizi temel almaktadır. X-Işınları yöntemi ile madde analizi, bir maddenin karakteristiği olan kırınım desenine dayanır. Kırınım, üzerine düşen elektromanyetik radyasyonun dalga boyuyla uyumlu farklı geometrik varyasyonlar içeren periyodik yapılara çarpması sonucu gözlenen bir etkidir. Aynı şekilde XRD, her bir kristal fazın kendine özgü atomik dizilimlerine bağlı olarak, aynı mertebedeki dalga boyuna sahip X-ışını dalgalarını karakteristik bir düzen içerisinde kırması esasına dayanır. Her bir kristal faz, X ışınları ile etkileştiğinde kendi yapısına özgü bir X-ışını kırınım deseni oluşur ve bu kırınım desenleri bir nevi parmak izi gibi o kristali tanımlar. X-Işını Kırınımı için 3-8 keV arası foton enerjisine sahip X-ışınlarıyla uyumlu olan moleküller ve kristaldeki atomlar arası mesafe 0.15-0.40 nm civarında olmalıdır. XRD analiz metodu, analiz sırasında numuneyi tahrip etmez ve çok az miktardaki numunelerin dahi analizlerinin yapılmasını sağlar. Periyodik cetvelde atom numaraları düşük elementler hariç birçok elementin analizleri yapılabilir. X ışınlarının dalgaboyu (0.1-10 Å) kristali oluşturan atomlar arasında

mesafe mertebesinde olduğundan kristal yapısını, örgü parametrelerini, kusurlar, tanecik büyüklüğü, faz geçişleri gibi birçok yapısal parametreleri incelemede yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [8, 20].

**XRD Ölçüm Yöntemi:** NP'ların kristal yapıları, XRD cihazı ile karakterize edilebilir. Bunun için numuneler seramik X-ışını tüpü ile 1.54 Å dalga boyunda üretilen 2.2 kW bakır anodu radyasyonu ile taranır. Analizi yapılacak her bir NP için yaklaşık 250 mg numune 3-90 theta ( $\theta$ ) aralığında tarama için numune tutucu üzerine ayrı ayrı konulur. Kristal oluşumu difraksiyon deseninden belirlendikten sonra kristalit boyutu Scherrer<sup>4</sup> formülü ile hesaplanır. Diğer kimyasal yöntemlere göre, bazı üstünlükleri vardır. Bunlardan en önemlisi bir cismi, kendisini oluşturan elementler cinsinden değil, örnek içinde gerçekte bulunduğu şekilde açıklamasıdır [20].

#### Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi

Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometre (FT-IR) cihazı; Kızılötesi ışığın bir dipol momente sahip madde ile etkileşmesi sonucu yapısı içerisindeki bağların titreşim hareketi prensibine dayanır. FT-IR spektroskopisi incelenmek istenen örnek makro moleküllerin fonksiyonel gruplarının titreşimlerinden kaynaklanan yapısal, kompozisyonel ve fonksiyonel bilgilerinin elde edilmesini sağlayan bir tekniktir. Kızılötesi Spektroskopisi bir molekül veya bileşik yapısında bulunan bağlar hakkında tanımlayıcı bilgiler verir. Kızılötesi Spektroskopisi temel olarak kızılötesi ışığın incelenen madde tarafından soğurulmasına dayanır. Her bir titreşim hareketi belli bir enerjide soğurulmaktadır. Bu enerji zamanın bir fonksiyonu olarak ele alınarak işlenir. Elde edilen veriler dalga boyuna karşı grafik edilerek spektrumlar oluşturulur. Bu yöntem ile bir molekül veya bileşik yapısında bulunan bağlar ve fonksiyonel gruplar karakterize edilebilir. Organik bileşiklerin aynı olup olmadığı, saflığını, yapıdaki bağların durumu, bağlanma yerleri ve organik yapı (aromatik veya alifatik) hakkında bilgi vermektedir. Ayrıca katı ve sıvı numuneler için kalitatif analiz yapılabilir [21, 22].

**FT-IR Ölçüm Yöntemi:** FT-IR analizi ile elde edilmiş NP'ların moleküler karakterizasyonu yapılarak, bu NP'ların sentezlenmesi/üretiminde yer alan maddelerinin yapısında bulunan moleküller, bu moleküllerin yapısında bulunan işlevsel gruplar (-NH<sub>2</sub>, -OH, -COOH, gibi) ve moleküller bağlar hakkında bilgiler elde edilmektedir. FT-IR spektrumu kullanılarak yapılan spektroskopik analiz tekniği kısa şu şekildedir; FT-IR spektrumunda 4000–400 cm<sup>-1</sup> aralığında kaydedilen örnekler, potasyum bromür peletleri içinde hazırlanır. Spektrumlar 4 cm<sup>-1</sup> çözünürlükte 32 taramalı tek ışın modunda toplanır. Enstrüman detektörü döterlenmiş triglisin sülfat üzerine, kızılötesi dedektör materyali ve ışın demeti ayırıcısında (Splitter) KBr üzerinde kurulur. Detektörün sinyalini amplifiye etmek için kullanılan kazanım parametresi Autogain moduna ayarlanır. Aynanın hızı 0.6329 olarak ve diyafram değeri 60 KBr (150 mg) olarak belirlenir. Ortalama 2-4 mg numune bir havan içinde KBr ile birlikte öğütülür ve iyi bir saydamlığa sahip peletler hazırlanır. İlk olarak, background (zemin değer) spektrumu kaydedilir ve ardından örneklerin spektrumları aynı koşullarda elde edilmesi sağlanır. Background otomatik olarak numune

spektrumundan çıkarılır ve nihai spektrumlar, transmisyon modunda kaydedilir. Bunun sonucunda spektrumların yönetimi enstrümanın yazılımı ile gerçekleştirilir [22].

#### İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma - Kütle Spektrometresi

ICP-MS Sistemi, indüktif eşleşmiş plazma (ICP) ve kütle spektrometresi (MS) ünitelerinden oluşan bir cihazdır. ICP-MS, katı ve sıvı örneklerde çok sayıda elementin hızlı, hassas ve doğru biçimde, niteliksel, niceliksel ya da yarı-niceliksel olarak ölçülmesine olanak sağlayan ileri teknoloji ürünü bir analiz tekniğidir [16]. Bu tekniğin çalışma prensibi ise yüksek sıcaklıktaki bir plazmaya, genellikle argon gönderilerek moleküler bağların kırıldığı ve atomların iyonlaştırıldığı bir analitik analiz yöntemi şeklindedir. ICP-MS cihazı 8000-10000 kelvin sıcaklığa ulaşan argon plazma tarafından örneğin iyonize edilmesi, iyonize elementlerin kütle spektroskopisi tarafından ayrıştırılarak element derişimlerin elektron çoklayıcı bir dedektör tarafından ölçülmesi aşamalarını içerir. Analiz edilmek istenen örnekteki elementler ICP'de, sıvı numuneler bir püskürteç (nebulizer) içinde aerosolleştirilir ve tek tek atomların elektronlarını hareketlendirerek elementleri iyonize etmek için yüksek sıcaklıktaki bir ısı kaynağının (ör; argondan plazma) içinden geçirilir. İyonize atomlar daha sonra bir vakum haznesinde bir kılavuz iyon vasıtasıyla nötr parçacıklardan ayrılırlar ve MS ile saptanırlar. İyonların kütle/yük (m/z) oranı elementleri ayırmak için kullanılır ve her bir elementin yoğunluğu bir iç standardına göre iyon sinyal oranına dayalı olarak belirlenir. ICP-MS'teki plazma optik emisyon spektrometresinde kullanılan Argon plazması ile aynıdır. Periyodik tablodaki birçok elementin birinci iyonlaşma enerjileri Argonun iyonlaşma enerjisinden (15.76 eV) küçük olduğu için elementler plazma içerisinde pozitif iyonlara dönüşürler [8].

ICP-MS atom kütleleri 7-250 arasında olan metaller ve seçilmiş ametaller de dahil, numunelerin element kompozisyonunu teşhis etmek veya miktarını belirlemek için hassas analitik bir tekniktir. ICP-MS sistemiyle direk olarak çözeltide iz element derişimlerinin belirlenmesinde uygundur. Birçok element için gözlenebilir sınırların  $\mu\text{g/L}$ 'nin (ppt ve daha düşük derişimler) altındadır. Çok sayıda element aynı anda analiz edilebilir özelliği sayesinde nitel analizlerde ve izotop oranlarının belirlenmesinde olduğu gibi, başta metalik elementler olmak üzere periyodik tablodaki elementlerin büyük çoğunluğunun nicel ve yarı-nitel tayinlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. H, He, C, N, O, F, Pu elementleri ile asal gaz (He, Ne, Ar, Xe, Kr ve Rn) elementlerinin dışındaki tüm elementlerin derişimleri ultra iz element düzeyinde ölçülebilir. ICP-MS'in çalışma aralığı diğer yöntemlere oranla oldukça geniştir. Birçok element için  $\mu\text{g-mg/L}$  arasında kalibrasyon grafikleri çizilebilmektedir ve bu farklı derişime sahip birçok elementin aynı anda analizine olanak sağlamaktadır [23, 24].

**ICP-MS Ölçüm Yöntemleri:** ICP-MS analiz tekniğinin en önemli aşamalarından biri örnek hazırlama aşamasıdır. Bunun için ICP-MS numuneleri, iyonizasyonu kolaylaştırmak için sıvı halde olmak zorunda olduğu için, numunenin parçalanması gerekebilir. Numune hacim gereklilikleri, numune içinde ilgilendiğimiz elementin yoğunluğuna, mevcut herhangi bir müdahaleye, ve ilgilendiğimiz element sayısına bağlı olarak değişir. 100 uL'e kadar düşük numune hacimleri ölçülebilir. Katı örneklerin çözelti haline getirilmesi için katı çözme tekniklerinden mikrodalga veya yaş yakma sistemleri kullanılarak yapılabilir. Bunun için katı

<sup>4</sup>X-ışını kırınımı ve kristalografisindeki Scherrer denklemi, alt-mikrometre parçacıklarının veya kristalitlerin büyüklüğünü, bir kırınım modelindeki bir tepenin genişlemesine bir katı olarak bağlayan bir formüldür. Paul Scherrer'den adını almıştır. Toz halindeki kristal parçacıklarının büyüklüğünün belirlenmesinde kullanılır

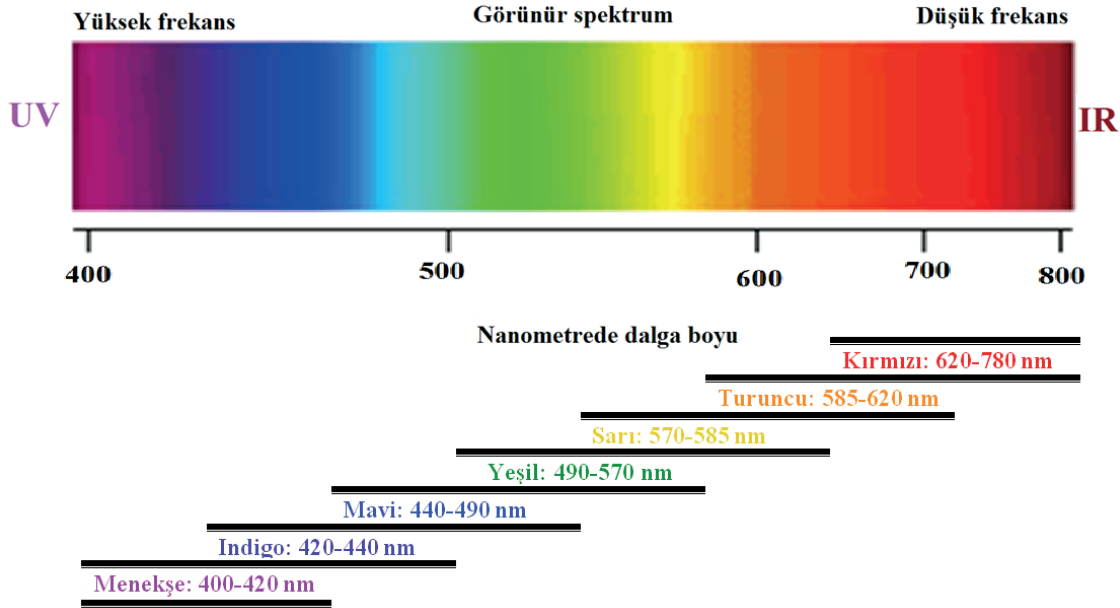
örnekler yüksek basınca dayanıklı teflon kaplar içinde ve yeterli saf güçlü asit ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{HF}$ , vb.) miktarı (2-5 mL asit) kullanılarak katının tamamının çözünmesini sağlar. Analiz edilecek sıvı örneklerdeki toplam çözünmüş katı madde miktarı % 0.1 in, organik madde içeriği de %2'nin altında olmalıdır. Eğer mümkünse örnekler mutlaka 0.45 mikronluk filtreden geçirilmelidir. Matris etkisini ortadan kaldırmak için örnekler ile standartların aynı asit çözeltisi (tipik olarak %2-5  $\text{HNO}_3$ ) içerisinde hazırlanması önemlidir. ICP-MS ölçüm aralığı ppb-ppt aralığında olduğundan, daha konsantr analitlerin bu ölçüm aralığına getirilmesi için seyreltme yapmak gerekmektedir [16, 24].

### Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi

Ultraviyole-Görünür (UV-vis) spektroskopisi, bir numune (sönümlenme olarak bilinen ve emilen ve yayılan ışığın toplamı olarak tanımlanan bir miktar) tarafından emilen ve yayılan ışığı ölçmek için kullanılan bir tekniktir. En basit biçimiyle, bir numune bir ışık kaynağı ve fotodedektör arasına konur ve UV-vis ışık demetinin yoğunluğu numuneden geçmeden önce ve geçtikten sonra ölçülür. Başka bir açıklaması, UV-vis absorpsiyon spektroskopisi bir ışın demetinin bir örnekten geçtikten veya bir örnek yüzeyinden yansıtıldıktan sonraki azalmasının ölçülmesidir. Işığın şiddetinin azalması absorplamanın

arttığını gösterir. Örneğinin derişimi belirli bir dalga boyundaki absorpsiyonunu ölçerek bulunur. Numunenin dalga boyuna bağlı sönümlenme spektrumunu ölçmek için bu ölçümler, her dalga boyunda karşılaştırılır. Bu veriler genelde sönümlenmenin dalga boyunun bir fonksiyonu olarak işaretlenir. İşlenmemiş bir tampon kullanılarak, tamponun spektral özelliklerinin numune sönümlenme spektrumunda bulunmamasını garantilemek için her bir spektrumun arka planı düzeltilir [25, 26].

UV-vis spektroskopisi genellikle çözültideki moleküller veya inorganik iyon ve komplekslerin ölçümünde kullanılır. Normalde UV taraması 200 - 400 nm dalgaboyu aralığına denk gelirken görünür ışık taraması 400 - 800 nm aralığına karşılık gelir (Şekil 2). Kolay, kullanışlı, hızlı, doğru ve ucuz olması bu tekniği vazgeçilmez kılmıştır [16]. Metal bazlı plazmonik NP'lar büyüklüğe, biçime, yoğunluğa, kümeleşme durumuna ve yüzeyine yakın kırılma indeksine karşı hassas optik özelliklere sahiptir, bu sebepten dolayı UV-Vis spektroskopisi ile NP'ların teşhis edilmesi, karakterize edilmesi ve incelenmesi oldukça önemlidir. Ölçülmüş spektrum, nümerik modellere dayanarak tahmin edilen spektrumla karşılaştırılır. Plazmonik olmayan NP'lar büyüklük ve yoğunluğa bağlı optik özelliklere sahiptirler, fakat spektrumları plazmonik NP'ları kadar saçılım özelliklerine karşı hassas değildir.



Şekil 2. UV-görünür nanometre dalga boyu skalası

**UV-vis Ölçüm Yöntemi:** UV-vis analizi 1 nm ile 1100 nm'ye kadar genişliğindeki bir yarı kullanarak spektra toplayan UV-vis tek ışınli diyot dizisi spektrometresi ile yapılmaktadır. UV, görünür ve infrarede yakın elektromanyetik spektrumu aydınlatmak için deuterium ve tungsten lambalar kullanılmaktadır. İncelenecek örnek spektrometre ile fotometre arasına ve kuvvet olarak adlandırılan, genellikle sert plastikten ya da quartz'dan yapılan özel dikdörtgen tüp (minimum 1 mL hacimli) içine yerleştirilir. Kullanılacak bu tüplerin UV-ışını olumsuz etkilemeyecek şekilde temiz ve yan yüzeylerinde çiziklerin olmaması gerekir. Farklı bazlı (ör: yarı-iletken veya metal) nano örnekler farklı dalga boylarını absorbladıkları için öncelikle bu aralığın bulunması gerekir. UV-görünür bölge cihazları 200-900 nm arasında çalışır. 60-100 µL kadar

küçük numunelerden mesafe uzunluğu 1 cm olan bir mikropil kullanarak spektra toplanabilir [26].

## SONUÇ

Nanoteknoloji gelecekte yapılması düşünülen malzeme ve aygıt üretim yöntemlerinin değişmesini; nanoölçekte işlevi olan malzeme ve aygıtların makroskobik boyutlardaki malzeme içine yerleştirilmesini ve bunların çok miktarda hatasız üretilmesi için yeni yöntemlerin geliştirilmesi gerekli kılmaktadır. Nano ölçekteki malzemelerin daha hafif, daha sağlam, programlanabilir malzemeler olması, daha az malzeme kullanımı, üretim safhasında daha az enerji gereksinimi, artık malzeme üretmemesi gibi avantajlar göz önünde bulundurulduğunda NP'ların üretilmesi ve özelliklerin belirlenmesi önemli hususlardır. Nanometre

büyüklik aralığındaki parçacıklar hem doğada bulunurlar hem de mevcut endüstriyel süreçlerin bir sonucu olarak ortaya çıkarlar. Fakat yeni üretilen NP'lar farklıdır çünkü "sıfırdan" üretiliyorlar. NP'ların özellikleri ana bileşiklerin özelliklerine göre farklılık gösterirler çünkü NP'lardaki atomların yaklaşık %40-50'si yüzyededir ve bu da kitle (makro) materyallerden daha büyük reaktiviteye sahip olmalarını netice verir. Kabul edilen genel görüş; "makro yapı malzemeler nano yapı malzemeler ile aynı etkiyi göstermezler". Üstün özelliklerinden dolayı hemen her alanda giderek kullanımı artan nano boyuttaki malzemelerin faydalarının bilinmesi yanında, doğrudan veya dolaylı zararlı etkilerini belirlemek ancak nanotoksikolojik biyo-deneySEL çalışmaların sonuçları ile varılabilir. Bu sebeplerden dolayı hangi amaç ile üretilmiş olursa olsun mutlaka NP'ları kullanmadan önce gerekli karakterizasyon analizlerinden elzem olanları deney öncesi süreçte yapması gerekmektedir. Bu malzemeler tüm mühendislik alanında olmak üzere, gıda ve ziraat sektöründe ve insan yaşamı etkileyen her alanda kullanılmaktadır. Bilinen veya bilinmesi gereken bir gerçek; mühendislik ürünü sonucunda elde edilen her nano yapı malzeme, kullanılsın veya kullanılsın, biyolojik yaşamı, çevreyi ve sonuçta insan sağlığı doğrudan veya dolaylı olarak etkilemektedir. Söz konusu canlı yaşamın sağlığı ise nano yapı malzemelerin karakterizasyon yöntemlerinin bilinmesinin önemi açıkça ön plana çıkarmaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Farré M, Gajda-Schranz K, Kantiani L, Barceló G (2009). Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. *Anal Bioanal Chem* 393:81–95
- [2] Madden AS, Hochella J (2005). A test of geochemical reactivity as a function of mineral size: Manganese oxidation by hematite nanoparticles promoted. *Geochim Cosmochim Acta*, 69:389–398
- [3] Pal S, Tak YK, Song JM (2007). Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 73:1712–1720
- [4] Chau CF, Wu SH, Yen GC (2007). The development of regulations for food nanotechnology. *Trends Food Sci Technol* 18:269–280
- [5] Ledin A, Karlsson S, Duiker A, Allard B (1994). Measurements *in situ* of concentration and size distribution of colloidal matter in deep ground waters by photon correlation spectroscopy. *Water Res* 28:1539–154
- [6] Patri A, Dobrovolskaia M, Stern S, McNeil S. (2006). Preclinical characterization of engineered nanoparticles intended for cancer therapeutics. In MM Amiji, ed., *Nanotechnology for Cancer Therapy*, Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis; Sh; 105–138.
- [7] Sapsford KE, Tyner KM, Dair BJ, Deschamps JR, Medintz IL. (2011). Analyzing nanomaterial bioconjugates: a review of current and emerging purification and characterization techniques. *Anal Chem*. 83:4453–4488
- [8] <http://daytam.atauni.edu.tr/cihaz>. Erişim tarihi Mayıs 2018.
- [9] <http://www.malvern.com/en/default.aspx>, Erişim tarihi Mayıs 2018.
- [10]. <http://nanocomposix.com/pages/characterization-techniques>
- [11] Baalousha M, Lead JR (2007). Characterization of natural aquatic colloids (<5nm) by flow-field flow fractionation and atomic force microscopy. *Environ Sci*

*Technol* 41:1111–1117

- [12] Clogston JD, Patri AK. (2011). Zeta potential measurement. *Methods Mol Biol*. 697:63-70
- [13] <http://merlab.metu.edu.tr/> Erişim tarihi Mayıs 2018.
- [14] Hall JB, Dobrovolskaia MA, Patri AK, McNeil SE. (2007). Characterization of nanoparticles for therapeutics. *Nanomedicine*; 2:789–803.
- [15] Williams DB, Carter CB. (2009). *Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science*, Second Edition. *Springer*; Sh; 3–22.
- [16] <http://mlab.bayburt.edu.tr/en/Sayfa/Cihazlar>, Erişim tarihi Mayıs 2018.
- [17] Suzuki E. (2002). High-resolution scanning electron microscopy of immunogold-labelled cells by the use of thin plasma coating of osmium. *J. Microsc.* 208, 153–157
- [18] Johal MS. (2011). *Understanding nanomaterials*. Boca Raton: CRC Press. FL
- [19] [https://en.wikipedia.org/wiki/Atomic\\_force\\_microscopy](https://en.wikipedia.org/wiki/Atomic_force_microscopy), Erişim tarihi Mayıs 2018.
- [20] Zanchet D, Hall BD, Ugarte D (2011). *Characterization of nanophase materials*. Wiley-VCH Verlag: GmbH. Sh; 13–36.
- [21] Cantor CR, Schimmel PR. (1980). *Techniques for the study of biological structure and function*. San Francisco: W.H. Freeman. 584 sh.
- [22]. [https://en.wikipedia.org/wiki/Fourier\\_transform\\_infrared\\_spectroscopy](https://en.wikipedia.org/wiki/Fourier_transform_infrared_spectroscopy), Erişim tarihi Mayıs 2018.
- [23] Gmshinski IV, Khotimchenko SA, Popov VO, Dzantiev BB, Zherdev AV, Demin VF (2013). Nanomaterials and nanotechnologies: methods of analysis and control. *Russ Chem Rev.* 82:48.
- [24] Endres PJ, Paunesku T, Vogt S, Meade TJ, Woloschak GE (2007). DNA-TiO<sub>2</sub> nanoconjugates labeled with magnetic resonance contrast agents. *J Am Chem Soc.* 129:15760–61.
- [25] Jiang X, Jiang J, Jin Y, Wang E, Dong S (2005). Effect of colloidal gold size on the conformational changes of adsorbed cytochrome c: probing by circular dichroism, UV-visible, and infrared spectroscopy. *Biomacromolecules.* 6:46–53.
- [26] Biju V, Itoh T, Ishikawa M (2010). Delivering quantum dots to cells: bioconjugated quantum dots for targeted and nonspecific extracellular and intracellular imaging. *Chem Soc Rev.* 39:3031–56





## Mobilya Endüstrisinde Kullanılan Makinelerde Çalışma Güvenliği

Hatice ULUSOY<sup>1</sup> Abdi ATILGAN<sup>2\*</sup> Hüseyin PEKER<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Köyceğiz MYO, Ormancılık Bölümü, Muğla

<sup>2\*</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon MYO, Malzeme ve Malzeme İşleme Tek. Bölümü, Afyonkarahisar

<sup>3</sup>Artvin Çoruh Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü, Artvin

### \*Corresponding Author

E-mail: dashing0343@hotmail.com

Geliş Tarihi : 01 Ağustos 2018

Kabul Tarihi: 30 Ekim 2018

### Özet

Teknolojinin gelişmesi ile birlikte, mobilya endüstrisinde kullanılan makinelerde gelişmiştir. Ancak KOBİ'lerde mikro ve küçük işletme olarak sınıflandırılan imalathanelerin sayısı mobilya sektöründe oldukça fazladır. Bu işletmelerde tam otomasyon sistemine geçilememesi, İşçi sağlığı ve iş güvenliği riskini artırmaktadır. İşyerlerinde çalışanların iş sağlığı ve güvenliği şartlarının sağlanmasında, makine kaynaklı tehlikeler oldukça önemli bir yere sahiptir.

Bu çalışmada küçük ve mikro işletme sınıfında faaliyet gösteren işletmelerde kullanılan makinelerde, potansiyel riskler ve çalışma güvenliği tedbirleri hakkında önerilerde bulunulmuştur. Bu kapsamda; şerit testere, çizicili yatar daire testere, rendeleme(planya, kalınlık), yüzey ve kenar şekillendirme (yatay freze, şakuli freze), delik (yatay ve dikey delik), torna, kompresör, kenar bantlama, bant zımpara(palet) ve pres(baskı) makineleri incelenmiş olup, çalışma güvenliği ve tedbirleri hakkında bilgilendirme yapılmıştır. Mobilya endüstrisi, 6331 sayılı İş Sağlığı ve Güvenliği Kanunu'na göre tehlikeli sınıfta yer almaktadır. Kullanılan makinelerin hepsi kesici, düzeltici, inceltici ve koparıcı dişliler, testereler ve bıçaklarla çalışmaktadır. Ayrıca bu makinelerin tamamen otomatize olmaması, işin elle yapılmasını gerektirdiğinden, kaza tehlikelerini de beraberinde getirmektedir. Sektörde görülen kazaları önleme konusunda öncelikle makinelerde alınacak tedbirler öncelikli olmalıdır. Sonuç olarak can ve mal güvenliğinin korunması açısından, imalathanelerin tam otomasyon sistemine geçmesi, iş güvenliğine aykırı olan makinelerin emniyet yönetmeliğine göre teknik düzenlemelerin yapıpıp güvenlik standardı oluşturulmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Mobilya Sanayi, Mobilya Endüstrisi Makineleri, İşçi Sağlığı ve İş Güvenliği

## Working Safety in Machinery Used in Furniture Industry

### Abstract

Together with the development of technology, advanced machinery used in the furniture industry. However, the number of wineries that are classified as micro and small enterprises are very much in SMEs in the furniture industry. This can not be passed on fully automated systems in businesses, increasing the risk of worker health and safety. In ensuring the safety conditions of employees in the workplace, the machine has a very important factor hazards and accidents.

In this study, small and micro-enterprises operating in manufacturing machinery used in class, study suggestions were made about potential risks and safety measures. In this context, bandsaw, Tilting circular saws, planing (planer, thickness), surface and edge shape (horizontal milling machine, Spindle molding), drilling (horizontal and vertical holes), turning the compressor, edge banding, belts (track) and press (printing) machines are examined, it was informed about the study and safety measures. Furniture industry, Occupational Health and Safety Act No. 6331 according to the hazardous (B) is located in the classroom. All of the used machine cutter, trimmer, thinner, puller gears, working with saws and knives. In addition, these machines are not completely automated, requiring that the work done by hand, brings with it the risk of accident. About the industry in accident prevention measures to be taken in the machine must be our priority.

As a result, the protection of these sectors can employees and property, it should go to the full automation of factories, creation of made the technical adjustment for the machine, which is contrary to safety safety regulations, safety standards, machinery and protective, administration briefing on the side of increase as sensitivity should be provided.

**Keywords:** Occupational Health and Safety, Furniture Industry, Furniture Manufacturing Machines

## GİRİŞ

Türkiye'de son yıllarda makineleşmenin yaygınlaşması ile birlikte, üretimin ve rekabetin büyük ölçüde artması, çalışanların sağlığına ve güvenliğine yönelik riskleri de artırmaktadır. Bu sebeple, diğer faktörlerin yanında işçi sağlığı ve iş güvenliğinin önemi daha da öne çıkmaktadır. İş kazası sıklık oranları ülkelerin gelişmişlik düzeyleri ve konuya verdikleri öneme bağlı olarak değişmektedir. Uluslararası Çalışma Örgütü (ILO), WHO (Dünya Sağlık Örgütü), TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu)'in verilerine göre, ülkeler arası iş kazası sıralamasında Türkiye; Avrupa'da birinci, dünyada da El Salvador ve Cezayir'den sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Bu durum çok büyük

sosyal ve ekonomik sorunlara yol açmaktadır. Ayrıca son 10 yılda tüm ülkelerde ölümlü iş kazaları oranları azalırken, Türkiye'de yükselmeye devam etmektedir.

Makineleşmenin az olduğu dönemlerde, mekanik basit aletlerin kullanımı ile daha çok el işçiliğine dayanan ürünler üretilmiştir. Ancak sanayii devrimi ile birlikte, mobilyacılık sektöründe kullanılan makineler de değişmiştir. Kısa bir süre içinde ahşabı istenilen şekle getiren makineler üretilmiştir. Günümüzde de bu makineler, teknoloji ilerledikçe geliştirilmekte ve ahşaba şekil vermek konusunda daha çok imkân sağlamaktadır. Bütün bu gelişmelere rağmen mobilya endüstrisi, sanatı ve el emeğini hala önemli oranda içerisinde barındıran bir sektördür. Makinalar, farklı işlemleri

yerine getirmektedir. Ancak, tasarımı halindeki mobilyanın üretilebilmesi kalifiye işçiliğe bağlıdır.

Türkiye’de mobilya sanayii gerek yapı, gerekse fiziki koşullar bakımından diğer sanayilere göre iş kazası ve meslek hastalığına uğrama riski itibarıyla ele alınması gereken öncelikli sanayilerden birisidir. DİE (Devlet İstatistik Enstitüsü) verilerine göre sektörde yer alan işletmelerin % 99,4’ü 10 işçinin altında çalışanı olan işletmelerdir. Bununla birlikte sanayide çalışan işçilerin % 58,5’i mesleki eğitim görmemiş ilköğretim mezunlarından oluşmaktadır. Bahsedilen tüm bu olumsuzluklar karşımıza iş kazası ve meslek hastalığı olarak çıkmaktadır [1].

Türkiye mobilya sektöründe küçük ve orta işletmelerdeki imalat gruplarına bakıldığında; panel mobilya, masif mobilya, döşemeli mobilya gibi geniş yelpazede üretim yapılmaktadır [2]. Bu ürünleri üretmek için kullanılan manuel kontrollü aletlerin ve makinaların tamamı, son derece tehlikelidir. Hemen hemen hepsi kesici, düzeltici, aşındırıcı, inceltici ve koparıcı dişliler, testere ve bıçaklarla çalışır. Ayrıca bu makinaların tamamen otomatize olmaması, işin elle yapılmasını gerektirdiğinden, kaza risklerini de beraberinde getirmektedir [1].

Yapılan bir çalışmada, Türkiye mobilya sektöründe iş kazaları ve meslek hastalıklarının seyri ve önlenmesine ilişkin öneriler sunulmuştur. Bu tavsiyeler arasında; eğitim, zararsız hammadde kullanımı, teknolojiye etkin bir şekilde yararlanma, çalışma koşullarının iyileştirilmesi, ergonomik düzenleme, yangınla mücadele, iş hijyeni, psikososyal tehlikelerle mücadele, kişisel koruyucu donanımların kullanımının yanı sıra makine koruyucularının da kullanımının öncelikle tedbirler arasında gelmektedir [3].

2012 yılında yapılan bir çalışmada, nedenlerine göre kaza türlerine bakıldığında, ikinci sırada “Makinelerin sebep olduğu kazalar” gelmektedir [4]. Yapılan bir çalışmada, mobilya işletmelerinin birçoğunda hali hazırda kullanılan konvansiyonel makine teknolojilerinin güvenli kullanımı için gerekli olan donanım ve ekipmanların kullanımı ve tasarımı incelenmiştir. Birçok iş kazasının meydana geldiği makineler arasında olan freze, daire testere, şerit testere, planya vb. makinelere uygun olan kalıp ve aparat sistemlerine yer verilmiştir. Güvenlik donanımlarının ilgili makinelere adapte edilmesinin iş kazalarının önlenmesi açısından önemi vurgulanmıştır [5]. Yapılan bir başka çalışmada, küçük ölçekli mobilya imalathanelerinde meydana gelen iş kazalarının analizi yapılmıştır. İşyerinde kullanılan makine koruyucularının standart ve daha yeterli hale getirilmesi ve ilgili yasadaki öngörüldüğü gibi, koruyucuların ayrı değil makineyle birlikte satılmasının sağlanması gerektiği belirtilmiştir [6].

İş kazalarının işyeri büyüklüklerine göre dağılımı incelenince, dağılımın küçük işyerlerinde yığıldığı ortaya çıkmaktadır. İş güvenliğinin sağlanmasında ileri teknoloji kullanılması, otomasyona geçilmesi ve makinelerin standartlara uygun olmasının yanında mutlaka koruyucularının da bulunması gereklidir. Yapılan işe uygun kişisel koruyucular kullanılmalıdır [7].

İş güvenliği önlemleri insanın doğasının doğurduğu hatalara değil, nesnel ve teknik nedenlere yönelik olmalıdır. Çalışanların en dikkatsiz halinde bile kaza yapmasına olanak bırakmayacak koşullar sağlanmalıdır. İş güvenliğinde, önce güvenlik ve sağlık, sonra ürün ve makine düşünülmeli, çalışanların yaşamı ve sağlığı ana amaç olmalıdır [8]. Yapılan bir çalışmada ise, makinelerin bakımlarının düzenli yapılmamasından dolayı, imalatçıların rahatsızlık yaşadıkları belirtilmiştir [9].

Gelişmekte olan ülkelere baktığımızda hiç kuşkusuz iş güvenliği ve sağlığının sanayileşmiş ülkelere nazaran çok daha kötü durumda olduğu görülmektedir. Uluslararası Çalışma Örgütü (ILO) tarafından yapılan araştırmalara göre, işletmeler büyüdükçe kaza sayısı azalmakta, buna karşın küçük ve orta ölçekli işletmelerde kaza oranları daha yüksek bulunmaktadır [10].

Gelişmiş ülkelerde de, az gelişmiş ülkelerde de, genellikle mobilyacılık sektöründe faaliyet gösteren firmalar, küçük ölçeklidir. ABD’de bile sektördeki firmaların %86’sı 50’den az işçi çalıştırmaktadır. Bu konu üzerine yeterli araştırma yapılmamakta beraber yapılan çalışmalar iş sağlığı ve güvenliğini hiçe sayarak yapılan üretimin doğurduğu sağlık ve güvenlik problemlerini açığa çıkartmaktadır. Örneğin Ankara bölgesindeki mobilya imalatı yapan Atölyelerde %69’unda makine koruyucularının kullanılmadığı; makine koruyucuları kullanılmayan atölyelerin %87,5’inde kaza yaşandığı tespit edilmiştir [11].

Bir ilin meslek gruplarına göre oluşturulmuş esnaf ve sanatkârlar odası kayıtları incelendiğinde, mobilya sektöründe faaliyet gösteren imalathanelerin yaklaşık % 95’i mikro ve küçük ölçekli işletmelerden oluşmaktadır. Bu organizasyon yapısından dolayı, kesikli üretim yapan ve sipariş üzerine çalışan atölye tipi işletmeler yoğunluktadır. Bu tip işletmelerde kullanılan makine ve teçhizat kesikli üretime müsait manuel kontrollü olması daha pratik çalışma olanağı sunmaktadır. İnsan emeğinin ve ustalığının birinci planda tutulduğu bu işletmelerde kullanılan makinelerde uzun yıllardır kullanılmakta olan tasarım ve iş güvenliği yönünden gelişime uğramamış klasik, el kontrollü makinelerdir. Özellikle küçük ve orta ölçekli işletme sayılarının incelediğimizde, işyeri sağlığı ve güvenliği konusunda çalışanların yasal haklarını bilmemeleri, kullandıkları makinelerin çalışma güvenliği konusunda yeterli tecrübe ve bilgiye sahip olmamaları riskin derecesini artırmaktadır.

Ahşap işleme işlerinde kendi özelliklerine göre önlem alınması gereken çok çeşitli makineler ve tezgâhlar bulunmaktadır. Bu çalışmada, küçük ve orta ölçekli işletmelerde kullanılan makineler ve bunlardan kaynaklanacak iş kazalarını önlemek için gereken çalışma güvenliği tedbirleri 6331 sayılı iş sağlığı ve güvenliği mevzuatı da göz önünde bulundurularak belirtilmiştir.

## Ahşap İşleme Makinelerinde Çalışma Güvenliği

### 1.1. Rendeleme Makineleri

#### 1.1.1. Planya Makinesinde Çalışma Güvenliği

Planya makinesi, iş parçalarının yüzeylerini rendelerek düzgün hâle getirme, komşu iki yüzeyi birbirine dik veya istenen açıda rendeleme işlemlerinde kullanılan makinelerdir [12].



**Şekil 1.** Planya Makinesi [13].

- İş Parçası Üzerinde Çivi Taş V.B. Yabancı Cisimler Bulunmadığını Kontrol Ediniz. Ve gerekiyorsa Tel Fırça İle Temizleyiniz.
- 30 Cm'den Daha Kısa Ve 1 Cm'den Daha İnce Parçaları Makineye Serbest Elle Vermeyiniz. Uygun Bir İtme Parçası Kullanınız.
- Mümkün Olan Her Durumda Koruyucuyu Kullanınız
- Parçayı İterken Elinizi Bıçakların Üzerinden Geçirmeyiniz.
- Çalışırken Makinenin Sol Yanında Ve Sağlam Bir Şekilde Durunuz.
- Bütün Ayar Ve Bağlama Düzenlerinin Sağlam Olduğunu Ve Özellikle Bıçak Bağlama Cıvatalarını Sık Sık Kontrol Ediniz.
- Talaş Miktarını Geniş Yüzeylerde 2mm Dar Yüzeylerde 5mm'den Fazla Vermeyiniz.
- 25 Cm'den Daha Kısa Parçaların Maktalarını Makinede Rendeleyiniz.
- İş Parçasını Daima Elyaf Yönünde Rendeleyiniz.
- İş Parçasını İterken Parçaya Ve Sipere Sağlamca Bastırınız.
- İşlem bittiğinde Veya Ayar Değiştirileceği Zaman Şalteri Kapatınız Ve Makinenin Tamamen Durmasını Bekleyiniz.
- Kör Ve Ağızları Kırılmış Bıçaklarla Katiyen Çalışmayınız.
- Makine Normal Hızını Almadan Çalışmaya Başlamayınız.
- İş Parçasını Geriye Çekerken Bıçakların Üzerinden Geçirmeyiniz.
- Çalışma sırasında makinenin altında biriken talaşları makineyi durdurarak temizleyiniz.
- Makta rendelemek için talaş miktarı oldukça azaltılmalıdır
- İş parçasını geriye çekerken bıçakların üzerinden geçirmeyiniz.
- İş parçası üzerinde taş, çivi vb. yabancı cisimlerin bulunmadığı kontrol edilir, gerekiyorsa tel fırça ile fırçalanır.
- 30 cm'den kısa ve 1 cm'den ince parçalar serbest elle makineye verilmez. Verilmesi gerekiyorsa uygun bir itme parçası kullanılır.
- Mümkün olan her durumda koruyucu kullanılır.
- İş parçasını iterken eller bıçakların üzerinden geçirilmez.
- Çalışırken makinenin sol yanında yüz makineye dönük, sol ayak ileride ve sağlam bir şekilde durur.
- Bütün ayar ve bağlama düzenleri, özellikle bıçak bağlama cıvataları sık sık kontrol edilir.
- Talaş miktarı geniş yüzeylerde 2 mm, dar yüzeylerde 5 mm'den fazla verilmemelidir.
- İş parçası daima elyaf yönünde rendelenir.

- İş parçası itilirken tablaya ve sipere sağlamca bastırılır.
- İşlem bittiğinde veya ayar değiştirileceği zaman şalter kapatılır ve makinenin tamamen durması beklenir.
- Kör ve ağız kırık bıçakla kesinlikle çalışılmaz.
- Makine normal hızını almadan çalışmaya başlanmaz
- İş parçası geriye çekilirken bıçakların üzerinden geçirilmez.
- Çalışma sırasında makinenin altında biriken talaşlar, makine durdurularak temizlenir.
- Parçayı iterken elinizi bıçakların üzerinden geçirmeyiniz
- Bütün ayar ve bağlama düzenlerinin sağlam olduğunu ve özellikle bıçak bağlama cıvatalarını sık sık kontrol ediniz [12,14,15].

### 1.1.2. Kalınlık Makinesinde Çalışma Güvenliği

Kalınlık makinesi, bir yüzü planya makinesinde rendelenerek düzeltilmiş iş parçalarının kalınlıklarını eşit ve düzgün olarak rendelemeye kullanılan, otomatik sevk düzenli bir temel ağaç işleme makinesidir [12].



**Şekil 2.** Kalınlık Makinesi [16]

- Parça yüzeyinde çivi, taş, vb. yabancı cisimlerin bulunup bulunmadığı kontrol edilir, gerekirse tel fırça ile temizlenir.
- İş parçasının boyu sevk silindirleri arasındaki mesafeden biraz daha uzun olmalıdır. Bu mesafeden kısa parçalar makineye verilmemelidir.
- 1cm'den daha ince parçalar alt destek parçası olmaksızın makineye verilmez.
- Çalışırken makinenin tam arkasında değil yan tarafında durulmalıdır.
- İtme silindirleri çok parçalı değilse farklı kalınlıktaki parçalar makineye yan yana verilmez.
- Parça, makineye verilirken ve alınırken el, tabla hizasından daha içeri sokulmamalıdır.
- Rendeleme sırasında sıkışma olursa hemen sevk sistemi ve makine durdurulur. Sonra tabla aşağı indirilerek iş parçası geriye çekilir.
- Uzun parçaların makineden çıkışta sarkmasını önlemek için bir yardımcı eleman veya destek sehpa kullanılmalıdır.
- Talaş kalınlığı, işin özelliğine göre ve makineyi zorlamayacak şekilde ayarlanmalıdır.
- Budaklı, çatlak ve bir yüzü planya makinesinde

düzeltilmemiş parçaları makineye vermeyiniz. Parçayı daima elyaf yönünde rendeleyiniz.

➤ Kalınlığı az, genişliği fazla olan parçaların genişliklerini makinede çıkarmayınız. Aksi takdirde silindirlere baskısıyla parça yana eğilir ve açısı bozuk çıkar.

➤ Çalışırken makinenin tam arkasında değil yan tarafında durunuz. Tabla hizasına eğilip makinenin içine katıyen bakmayınız. Talaş ve parçalar yüzünüze fırlatabilir [12,15,14].

### 1.2. Freze Makineleri

#### 1.2.1.Şaküllü (Dikey) Freze Makinesinde Çalışma Güvenliği

Üst freze makinesinin alt freze makinesinden başlıca farkı, motor ve bıçağının, tablanın üst tarafından ve düşey doğrultuda çalışmasıdır. Bu makinede, alt freze makinesinde yapılan kenar frezeleme işlemlerinin yanı sıra, daha çok yüzeyleri oyarak şekillendirme işlemi yapılır [14].



Şekil 3. Şaküllü Freze Makinesi [17]

- Makineye takılan kesicilerin keskinliği ve kovana bağlantıları kontrol edilmelidir.
- Makine tablasının üzerine uygun kılavuz pimi takılmalıdır.
- Derinlik taretinin ayarı yapılmalıdır.
- Makine çalıştırılmadan önce Şalter açılıp kapatılarak kesicinin doğru bağlandığı kontrol edilmelidir.
- İşlem yapılan parça, kesicilerin dönme yönünün tersi yönünde makineye verilmelidir.
- İş parçası makineye uygun sevk hızıyla verilmelidir.
- Mümkün olan her durumda bıçak koruyucu kapağı ve uygun kalıp kullanılmalıdır.
- İşlem bittiğinde ayak pedalına basılarak motor sonuna kadar yukarı kaldırılmalıdır.
- Tespit mandalı ayarlandıktan sonra ayak pedalı desteklemeden serbest bırakılmamalıdır. Yoksa bıçak ani ve sert biçimde iş parçasına düşeceği için ciddi kazalar olabilmektedir.

➤ Talaş derinliği işlemin durumuna göre uygun bir şekilde ayarlanmalıdır.

➤ İşlem bittiğinde makinenin Şalteri kapatılmalı ve milin tamamen durması beklenmelidir.

➤ Sevk hızını bıçakları zorlamayacak miktarda ayarlayınız.

➤ İş parçasını ve kalıbı sağlam bir şekilde tutarak hareket ettiriniz.

➤ Mümkün olan her durumda bıçak koruyucu kapağını kullanınız.

➤ Şalteri açmadan önce kovayı elle çevirerek bıçağın serbestçe döndüğünü kontrol ediniz [16,18].

#### 1.2.2. Yatay Freze Makinesinde Çalışma Güvenliği

Alt freze makinesi, iş parçalarına lamba, Kınış, kordon, pah açma; kenar şekillendirme ve temizleme; zıvana, diş, kırılacağıkuyruğu kızak, kanal açma ve yüzey şekillendirme işlemlerinde kullanılan ağaç işleme makinesidir. Alt freze makinesinde çalışırken aşağıdaki hususlara dikkat edilmelidir [12].



Şekil 4. Yatay Freze Makinesi [19]

- 25 cm'den daha kısa parçalar serbest elle makineye verilmemelidir.
- İş parçaları, makinede daima elyaf yönünde işlenmelidir.
- İş parçası, tablaya ve sipere sağlamca bastırılmalı ve eller bıçaklara yaklaştırılmamalıdır.
- Çalışma esnasında tüm dikkat işe verilmelidir. Başka yere bakılmamalı ve başkalarıyla konuşulmamalıdır.
- Çatlak ve kaba budaklı parçalar makineye verilmemelidir.
- İş parçası makineye verildikten sonra geri çekilmemeli, gerekiyorsa önce makine durdurulmalıdır.
- İş parçası, daima bıçakların dönme yönünün tersinde makineye verilmeli ve kesinlikle bıçak dönme yönünde iş parçası geri çekilmemelidir.
- Bıçakların keskinliği, top ve mile sağlam bir şekilde bağlandığı kontrol edilmelidir.
- Mümkün olan her durumda bıçaklar, iş parçasının alt tarafından çalışacak şekilde ayarlanmalıdır.
- Ön ve arka siper arasındaki mesafe, bıçağın gerektirdiğinden fazla açılmamalıdır.
- Siper ayarlandıktan sonra sağlamca sıkılmalı ve çalışma sırasında arada bir kontrol edilmelidir.

➤ Talaş derinliği, işin durumuna göre emniyetli bir şekilde ayarlanmalıdır. Fazla talaş kaldırılması gereken işlemler birkaç kere de yapılmalıdır.

➤ Makine çalıştırılmadan önce mil elle çevrilerek bıçakların serbest döndüğü; şalteri açıp kapatılarak da dönme yönünün doğruluğu kontrol edilmelidir.

➤ Mümkün olan her durumda koruyucu siper ve baskı tarağı kullanılmalıdır.

➤ Freze etrafındaki parçaların ayakaltında bulunmamasına dikkat edilmelidir.

➤ Düzgün şekilli olmayan parçaları rulmana dayanan kalıpla işlerken mutlaka dayama pimi kullanılmalı; parça, önce pime sonra bıçağa yaklaştırılmalıdır [12,20].

### 1.3. Daire Testere Makinesinde Çalışma Güvenliği

➤ Daire testere makinesi; yüzeyleri düzeltilmiş (rendelenmiş) iş parçalarının boylarını, genişlik ve kalınlıklarını istenilen ölçülerde ve açılarda kesme; tablaları ölçülendirme; lamba, kuniş, kanal ve zıvana açma gibi çok değişik amaçlarla kullanılan en önemli ağaç işleme makinelerinden biridir [12].



Şekil 5. Daire Testere Makinesi [21].

➤ “Otomatik Testere Durdurucular” daire testere monte edilerek çalışanların testere ile teması sonucu uzuv kaybını önleyebilir.

➤ Daire testereyi kullanan kişiler bu konuda tecrübeli olmalıdır.

➤ Dairesel testere ile çalışmalarda koruyucu gözlük ve yüz siperi kullanın.

➤ Kesilecek parçayı yerine dengeli oturtun.

➤ Kesilecek parça ile kullanıcı arasında bir muhafaza var ise görüşü engellemeyecek şekilde yerleştirin.

➤ Kesilecek malzemeyi el ile hareket ettirirken ellerin dairesel testereden yeterince uzakta olmasına dikkat edin.

➤ Kesilen parçayı, kopma aşamasında savrulmuş olarak fırlayabileceğinden serbest vaziyette bırakmayın.

➤ Kesme sırasında oluşan çapakların etrafa sıçramaması için perdeleme yapın.

➤ İşin çabuk bitirilmesi amacı ile hızlı kesim yapmanın testereyi zorlayacağı ve bu nedenle testere dişlerinin kırılmasına neden olacağı unutulmamalıdır. Kırılan testere diş çevreye savrulup zarar verebileceği gibi, eksik diş ile çalışan daire testere, kesilmekte olan parçanın yerinden savrulmasına neden olabilecektir.

➤ Dişi kırık daire testere derhal değiştirilmelidir.

➤ Daire testere dişleri keskinliğini kaybetmiş ise değiştirilmelidir.

➤ Testere hareketi durmadan tezgâh başından

ayrılmayın.

➤ Kızaklı gönye siperi ile parça boylarını keserken makine siperi boy ayar stopu olarak kullanılmamalıdır.

➤ Geri tepmelerde ve parça fırlamalarından korunmak için testerenin tam önünde değil, yan tarafında durarak çalışılmalıdır.

➤ Bir yüzü ve cumbası önceden düzeltilmeyen, düşer budaklı ve çivili parçalar makinede kesilmemelidir.

➤ Daima yapılacak işe uygun özellikte, çaprazlı ve bilenmiş testere kullanılmalıdır.

➤ Mümkün olan her durumda, ayırma kaması ve koruyucu siper kullanılmalıdır.

➤ Testere kesilecek parça kalınlığından birkaç mm yüksekte çalışacak şekilde ayarlanmalıdır.

➤ Bütün ayarlamalar testere tamamen durduktan sonra yapılmalı, makineyi çabuk durdurmak için testere dişleri veya yan yüzüne parça dayanmamalıdır.

➤ Dönmekte olan testerenin üzerinden eller veya iş parçası geçirilmeli, daima makinenin etrafından dolaşılmalıdır.

➤ Eller dönmekte olan testere lamasına 10 cm’den fazla yaklaştırılmamalı ve çalışırken parçayı almak için testerenin arka tarafına geçirilmemelidir.

➤ Kısa ve dar parçalar daima itme çubuğu ile itilerek kesilmelidir.

➤ Önce parçaları işlerken daima baskı tarağı kullanılmalıdır.

➤ Geniş tablalar hariç, iş parçaları serbest elle kesilmemeli; daima siperle dayayarak kesim yapılmalıdır.

➤ Çalışma sırasında tabla üzerinde artık parça biriktirilmemeli, biriken parçalar bir ağaç çubukla itilerek düşürülmelidir. Uzun parçaları keserken destek

➤ Makine çalıştırılınca testere normal hızını almadan parçayı kesmeye bağlanmamalıdır.

➤ Kesilmekte olan parça geriye çekilmemeli, gerekiyorsa önce makine durdurulmalıdır.

➤ İş parçasını, geniş tablalar hariç, serbest elle katiyen kesmeyiniz; daima bir siperle dayayınız.

➤ Kesilecek iş parçasının bir yüzü ile cumbasını önceden düzeltiniz.(rendeleyiniz). Peşli, eğri, düşer budaklı ve çivili parçaları makineye vermeyiniz.

➤ Uzun parçaları keserken destek sehpalari veya yardımcı personel kullandığınızda, parçanın itme ve yön kontrolünü sadece kendiniz sağlayınız [12,14,15].

### 1.4. Şerit Testere Makinesinde Çalışma Güvenliği

Şerit testere makinesi, kalas ve ahşap parçalarının boylarını, genişlik ve kalınlıklarını istenilen ölçüde kesme, eğmeçli şekilli parçaların kesimi ve zıvana açma işlemlerinde kullanılır [12]. Şerit testere makinesinde çalışılırken aşağıdaki hususlara dikkat edilmelidir:



Şekil 6. Şerit Testere Makinesi [22]

- Çalışmaya başlamadan önce testereyi kontrol edin.
- Arızalı ve çatlak olan testereyi kullanılmayın.
- Testere daima gergin tutulmalı, germe tertibatı ile ayarlanmalıdır.
- Testereyi amacına uygun kullanın.
- Açma-Kapama anahtarı çalışmıyorsa testereyi kullanmayın.
- Dar elbiseler giyin, elbise kollarını içeri kıvrın.
- Çalışma esnasında uygun gözlük, yüz siperi ve toz maskesi kullanın.
- Herhangi bir sıkışma halinde şerit testere durmuş olsa dahi motoru durdurmadan testereye el sürmeyin.
- Şerit değiştirme işlemi sırasında motoru durdurun.
- Arıza durumunda testerenin motorunu hemen durdurun ve ekip şefine veya ilgililere haber verin.
- Şerit testere bağlantıları en az ayda bir muayene ve kontrol edilmelidir.
- Bakım onarım dışında testerenin koruyucularını çıkarmayın.
- Bakım onarım sırasında çıkarılan koruyucular işe başlamadan önce yerine takılmalıdır.
- Üst kılavuz düzeni, kesilecek parça kalınlığından en fazla 1-2 cm daha yükseğe kaldırılarak vida sistemi sıkılır.
- Makine siperinin, şerit testere lamasına paralel olmasına ve tablaya dik olmasına dikkat edilir.
- Makine çalıştırılır, normal hızını almadan kesme işlemine bağlanmaz.
- Kesilecek parça üzerinde çivi, taş vb. sert cisimler bulunup bulunmadığı kontrol edilir.
- İş parçasının, makine tablasına sağlam bir şekilde oturması sağlanır. Eğmeçli iş parçalarının altı uygun şekilde parçalar ile desteklenir.
- Kesim yaparken eller testere dişlerine emniyetli bir uzaklıkta tutulur. Çalışırken testere lamasının kopma ihtimaline karşı, yan tarafında durulmaz ve kimsenin durmasına izin verilmez.
- Uzun parçaların kesilmesinde, tabla yüksekliğinde silindirik destek sehpaları kullanılır veya yardımcı bir kişi bulundurulur.
- Eğmeçli kesimlerde herhangi bir sıkışma olduğunda iş parçası kesinlikle geri çekilmez, makine durdurulur. Aksi durumda şerit testere laması geriye doğru gelir ve çıkar.
- Silindirik parça kesimleri daima V kalıbı içinde kesilir.
- Kertme şeklindeki kesimlerde, parçayı geri çekme işlemini azaltmak için önce şeklin kısa çizgisinden kesilir.
- İş parçası normal ve rahat bir hızla ve şerit testere lamasını bükmeyecek şekilde itilir.
- Makine tablası üzerinde biriken artık parçalar elle değil, bir ağaç çubukla itilerek düşürülür.
- Kesme sırasında, düzgün aralıklarla çarpma sesi duyulduğunda makine durdurulur ve testere lamasında çatlak olup olmadığı kontrol edilir.
- Çalışırken testere koparsa Şalter kapatılır ve makineden emniyetli bir uzaklıkta kasnakların tamamen durması beklenir.
- Normal gerginlikteki testere lamasıyla çalışılmalıdır. Gevşek ve fazla gergin testere lamaları ayar volanıyla normal gerginliğe getirilmelidir.
- Kesime uygun testere laması takılmalıdır. Sert ve kuru ağaçlarda, elyafa dik kesimlerde sık dişli testere; yumuşak ve nemli ağaçlarda, elyaf yönündeki kesimlerde seyrek dişli testere kullanılmalıdır.
- Kesilecek parça üzerinde çivi, taş vb. sert cisimler bulunmadığını kontrol edilmelidir.
- Kesimi yapılacak parçaların bir yüzünü ve cumbasını rendelenmelidir (düzeltilmeli).
- Kesme işlemi yaparken, eller emniyetli mesafede tutulmalıdır.
- İş parçasının, makine tablasına sağlam bir şekilde oturması sağlanmalıdır. Eğmeçli iş parçalarının altı uygun şekilde parçalarla desteklenmelidir.

➤ Sevk hızı (itme) aşağıdaki durumlarda azaltılmalıdır:

- ✓ Kesme yüksekliği arttıkça,
- ✓ Sert ağaçlarda,
- ✓ Nemli ağaçlarda,
- ✓ Karışık elyafı ve budaklı kısımlarda.

➤ Kesim sırasında, düzgün aralıklarla çarpma sesi duyulduğunda makine durdurulur ve testere lamasının çatlak olup olmadığını kontrol edilmelidir.

➤ Çalışan makinenin yan tarafında durulmamalı ve kimsenin durmasına izin verilmemelidir. Kopan testere laması yan tarafta bulunan kişiye zarar verebilir [12,15,20].

### 1.5. Pres Makinesinde Çalışma Güvenliği

Yüzeylerine tutkal sürülmüş olan iş parçalarının birbirine sıkılarak yapıştırılmasında kullanılan makinelere genel olarak "pres" adı verilir [23].



Şekil 7. Pres Makinesi [24]

➤ Çalışma noktasını koruyan koruyucular, çift el kumanda tertibatı ve varsa fotosel tertibatının özellikleri bozulmayacak ve devreden çıkartılmayacaktır.

➤ Preslerde yapılacak ayar, bakım ve onarım sadece yetkili elemanlar tarafından ve her türlü enerji bağlantıları kesilerek yapılacaktır.

➤ Küçük parçaların preslenmesi işleminde, bu parçalar özel kısıp, pense veya maşalarla tutularak tezgâha sürülecektir.

➤ Mekanik preslerde kalıp bağlamadan önce, motor durdurulacak, hidrolik ve pnömatik preslerde ise basınç bağlantısı kesilecek ve ayrıca pres başlığı ile tabla arasında yeter sağlamlıkta takozlar konulacaktır.

➤ Presler normal kapasiteleri içinde ve özelliklerine uygun olarak çalıştırılacaktır.

➤ Preslerde herhangi bir nedenle çift vuruş meydana gelmesi önenecek ve bu konuda gerekli düzeltmeler yapılacaktır.

➤ Tezgâhta operatörün etrafında, rahatça çalışacağı bir açıklık bulunmalıdır.

➤ Yapılan işle ilgili bütün gerekli koruyucular, yerinde ve çalışır durumda bulunmalıdır.

➤ Bakım ve onarım personelinin başka kimselerin kavrama, fren pedalı veya başlatma aksamına müdahalesi yasaklanmalıdır.

➤ Pres tezgahlarında, yağlama, ayarlama veya onarım yapılacağı zaman veya işbaşından ayrılmayı gerektiren hallerde pres durdurulmalıdır.

➤ Tezgâhı durdurup ayrıldıktan ve yeniden işe döndükten sonra, emin şekilde çalıştığı tekrar kontrol edilmelidir.

➤ Tezgâh operatörünün dikkatini dağıtacak olaylar önlenmelidir.

➤ Yetersiz bir kimse tarafından presin çalıştırılması önlenmelidir.

➤ Presler çalıştırılmadan önce tablaların ısınması beklenmelidir.

➤ Pres basınç miktarı kontrol edilmelidir.

➤ Tutkalın kuruma süresi dikkate alınmalıdır.

➤ Preslerin yüzey temizliği kontrol edilmelidir.

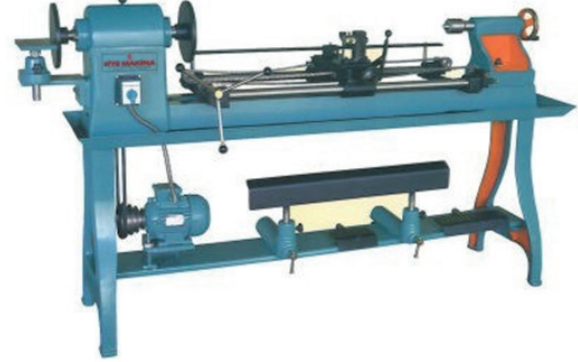
➤ Tutkal sürülen iş parçaları prese yerleştirildikten sonra sıkma işlemine geçmeden önce eller makine veya iş parçasının sıkıştırmasından korunmalıdır.

➤ Pres yüzeylerinde kurumuş tutkal ve tozlar silinmelidir.

➤ Parçalar prese kuralına uygun yerleştirilmeli parçalarındaki çarpıklığın önüne geçilmelidir [14,15,23].

### 1.6. Torna Makinesinde Çalışma Güvenliği

Ahşap torna makinesi, ahşap parçalara silindirik, konik veya her türlü dairesel şekil vermeye yarayan ağaç işleme makinesidir. Torna makinesi kullanılırken aşağıdaki hususlara dikkat edilmelidir [25].



Şekil 8. Torna Makinesi [26]

➤ Çatlak ve budaklı parçalar makineye bağlanmamalıdır.

➤ Tutkallanmış parçalar tamamen kuruduktan sonra makineye bağlanmalıdır.

➤ Parçalar makineye sağlam bir şekilde bağlanmalıdır. Gezer punta sıkıldıktan sonra mutlaka tespit edilmelidir.

➤ Siper, iş parçasına dokunmayacak en yakın mesafede (2-3) ayarlanmalıdır. Parça işlenirken inceldikçe, makine durdurularak siper tekrar yaklaştırılmalı ve siper kaidesi ve siper sağlamca sıkılmalıdır.

➤ Öğrenme aşamasında, makine çalışırken hiçbir ayarlama, ölçme ve kontrol işlemi yapılmamalıdır.

➤ Makine çalıştırılmadan önce mutlaka parça elle döndürülerek siper dokunmadığı kontrol edilmelidir.

➤ Daima keskin kalemle çalışılmalı, körelen kalem geciktirilmeden bilenecek işleme devam edilmelidir.

➤ Makine, iş parçasının çapına uygun devirde ayarlanmalıdır. (kalın parçalarda, kare parçaların kaba işlemlerinde ve alın tornalama işlemlerinde düşük devirle; ince parçalarda ve perdah işlemlerinde yüksek devirle çalışılmalıdır.)

- Torna kalemı, her iki elle sağlamca tutularak ve sipere iyice bastırılarak çalışmalıdır.
- Ayna ile alın tornalamada (tabak biçimindeki işlerin yüzeylerinde), oluklu kalem kullanılmalı ve sadece kazıma işlemi yapılmalıdır.
- Dönen parçaya ve bağlama elemanlarına (punta, ayna vb.) ellerin çarpmaması için dikkat edilmelidir.
- Zımparalama ve cilalama işlemlerinde, siper geri çekilmeli veya kaldırılmalıdır. Aksi durumda parmaklarınız parça ile siper arasında sıkışabilir [15,20,25].

### 1.7. Bant Zımpara Makinesinde Çalışma Güvenliği

Bant zımpara makinesi, genellikle geniş düzlem yüzeyli tablaların perdah edilmesinde kullanılır [14].

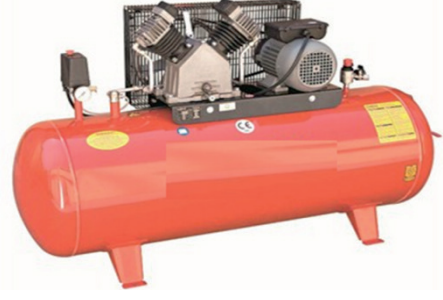


Şekil 9. Bant Zımpara Makinesi [27]

- Makinedeki toz ve talaşları temizleyiniz.
- Makinede çalışırken rahatsız etmeyiniz.
- Çalışırken iş parçasını sağlamca bir sipere dayayınız.
- Baskı takozunu elinizde sağlam bir şekilde tutunuz. Parça üzerinde çalışırken baskı takozunu bir elinizle sıkıca kavrayın, diğer elinizle de alt tablayı hareket ettirin.
- Elinizi zımpara bandına yaklaştırmayın, çalışırken zımpara bandına dokunmayın.
- Alt tabla yükseklik ayarını parçaya göre yapın, yükseklik kontrolünü yapmadan makineyi kullanmayın.
- Baskı takozunun 1/3'ünden fazlasının iş parçası üzerinden taşmamasına dikkat ediniz.
- Çalışmaya başlamadan önce bant zımpara gerginliğini, yırtık olmadığını kontrol ediniz.
- Çalışan makineye kesinlikle dokunmayınız. Zımparanın aşındırıcı özelliğinden dolayı zarar verecektir [14,15].

### 1.8 Kompresör Makinesinde Çalışma Güvenliği

Kompresör, pnomatik kontrollü makine ve aparatları (havalı sıkma düzenleri, vernik tabancaları, çivi tabancaları vb.) çalıştırmak, talaş ve tozları üfleterek temizlemek amacıyla kullanılır [15,20]. Kompresör kullanılırken aşağıdaki hususlar göz önünde bulundurulmalıdır:



Şekil 10. Kompresör [28].

- Kompresörün hareketli parçalarına dokunulmamalıdır.
- Bütün koruma tertibatının, sağlam bir şekilde takılmış olduğundan emin olunmalıdır.
- Basınçlı hava kendinize ve diğer kişilere doğrultulmamalıdır.
- Kompresör suyun bulunduğu ve nemli ortamlarda kullanılmamalıdır.
- Herhangi bir kompresör parçası üzerinde muayene, bakım, temizleme, kontrol veya değiştirme işlemi yapılmadan önce kompresör prizden çıkarılmalı ve depo tamamen boşaltılmalıdır.
- Kompresörü elektrik prizine bağlamadan önce presostat anahtarının (açma anahtarı) OFF konumunda olduğu kontrol edilmelidir.
- Kompresör boya, benzin, kimyasal maddeler, yapışkanlar ve herhangi bir yanıcı ve patlayıcı maddenin bulunduğu durumlarda kullanılmamalıdır.
- Çok geniş elbiseler giyilmemelidir. Bu tür elbiseler kompresörün hareketli parçalarına takılabilir.
- Makine çalışırken kulaklık takılmalıdır.
- Kompresör presostat anahtarından kapatılmalıdır. Fişi çekilerek kapatılmamalıdır.
- Tuhaf gürültülü ve çok titreşimli kompresörlerde bir arıza olabileceği düşünülmeli ve makine hemen durdurulmalıdır.
- Kompresör, çalışma alanının dışında, ayrı kapalı bir bölmede, mümkünse gürültü için ses yalıtımı olacak şekilde muhafaza altına alınmalıdır.
- Kompresörlerde basınç, ayarlanmış basınca ulaştığında, kompresör motorunun otomatik olarak durması sağlanacak ve motorun durması geciktiğinde, basınçlı havayı boşa verecek bir güvenlik tertibatı bulunacaktır.
- Hava kompresörlerinin hız regülâtörü, periyodik olarak kontrol edilecek ve her zaman iyi çalışır durumda tutulacak ve bunlarda soğutma suyunun akışının gözle izlenebileceği bir tertibat yapılacaktır.
- Sabit kompresörlerin temiz hava emmeleri sağlanacak ve patlayıcı, zararlı ve zehirli gaz, duman ve toz emilmesi önlenecektir (Filtreli olacak ve kirlendiğinde değiştirilmelidir).
- Hava kompresörü ile hava tankları arasında, yağ ve nem ayırıcıları (separatör) bulunacak ve bunlar hiç bir şekilde çıkarılmayacaktır.
- Hava kompresörlerinin çıkış borusu üzerinde stop valfi bulunduğu, bu valf ile kompresör arasında bir adet güvenlik supabı konacaktır.
- Kompresörlerin güvenle çalışmalarını sağlamak üzere; kompresörlerin montajından sonra ve çalıştırılmasından önce, kompresörler üzerinde yapılacak değişiklik ve büyük onarımlardan sonra, periyodik olarak



yılda bir kontrol ve deneyleri, ehliyeti Hükümet veya mahalli idarelerce kabul edilen teknik elemanlar tarafından yapılacak ve sonuçları, sicil kartına veya defterine işlenecektir.

➤ Kompresörlerin her kademesinde basınç deneyi, o kademede müsaade edilen en yüksek basıncının 1,5 katı ile yapılacaktır (dinamik test).

➤ Kompresörler üzerine aşağıdaki bilgiler yazılı bir plaka, imalatçı firma tarafından konacaktır.

- İmalatçı firmanın adı,
- Yapıldığı yıl,
- En yüksek çalışma basıncı,
- Kompresörün sıkıştırdığı gazın cinsi ve miktarı,

➤ Kompresörlerin, tehlike anında, uzak bir yerden durdurulması sağlanacaktır.

➤ Kompresörlerin hava depolarında güvenlik supabı bulunacak ve bu supaplarda, çıkan gazlara karşı gerekli tedbirler alınacak ve emniyet supaplarının açıldığını bildiren uygun uyarma tertibatı yapılacaktır.

➤ Kompresörlerde, her kompresöre özgü, özel kompresör yağı kullanılacaktır.

➤ Sabit kompresörlerin depoları, patlamalara karşı dayanıklı bir bölmede olacak, seyyar kompresörler, çalışan işçilerden en az 10 metre uzaklıkta veya dayanıklı bir bölme içinde bulunacaktır.

➤ Hassas makineler için kullanılacaksa (CNC tezgâhlar için) makinelere zarar vermemesi için hava kurutma sistemi bulunmalıdır [15,20].

### 1.9. Kenar Yapıştırma Makinesinde Çalışma Güvenliği

Ahşap malzemelerin kenarlarını sıcak bantlama işlemlerini gerçekleştirmek için tasarlanmış portatif makinedir [29].



Şekil 11. Kenar Bantlama Makinesi [30]

➤ Makinenin sağlıklı bir şekilde çalışabilmesi için besleme girişinin (380 V AC  $\pm$ %10) olması gerekmektedir. Makinenin topraklanması mutlaka yapılmış olmalı.

➤ Makineye hava hortum rekoruna uygun basınç oluşturabilen bir kompresöre bağlanmalıdır, hava kaçakları önlenmelidir. Kompresörünüzün vermesi gereken basınç 6 – 8 (ALTI - SEKİZ) BAR arasında olmalıdır.

➤ Acil müdahale edilmesi gereken arıza, kaza vb. durumlarda makineyi hızlı biçimde durdurmak için acil stop butonları kullanılmalıdır. Acil stop butonlarının bulunduğu bölgelere kolay ulaşım için serbest geçiş ve ulaşım için gereksiz malzemelerle makine çevresi doldurulmamalıdır.

➤ Makinenizin iş parçası işleme alanına iş parçaları hariç herhangi bir yabancı cisim sokulmamalıdır.

➤ Aksi halde oluşabilecek mekanik vb. arızalar garanti kapsamı dışında tutulur.

➤ Elektrik panosu yetkili teknik servis tarafından açılmalıdır. Ehil kişilerce haricinde başka bir işlem yapılmamalıdır.

➤ Pnömatik switchlerle ayarlamalar dışında oynamalar yapılmamalıdır. Şartlandırıcı seviyesi kontrol edilmeli ve optimum 5-6 BAR arası olmalıdır.

➤ Makine soğukken ana şalter ve ısı kontrol cihazlarının anahtar düğmesi açılmış ise ayarlanan ısıya Ulaşınca kadar makine çalışmaz. Çünkü tutkalın ayarlanan ısıya kadar erimesi gerekir. Aksi halde istenmeyen mekanik sorunlar oluşabilir.

➤ Isı kontrol cihazları açık, fakat ısılar düşük ayardaysa önceden startlanmış makinede kullanıma geçilmeden önce ısılar yeniden yükseltilmeli ve yeniden makine startlanmalıdır.

➤ Kabin kapağı üzerinde bulunan güvenlik switchi bulunmalıdır. Makinenin çalışmasına izin vermez.

➤ Kabin kapağında kullanılan güvenlik switchinin yeri ile oynamayınız [31].

### 1.10. Delik Makinesinde Çalışma Güvenliği

#### 1.10.1. Yatay delik Makinesinde Çalışma Güvenliği



Şekil 12. Yatay Delik Makinesi [32]

➤ Matkabın keskinliğini daima kontrol ediniz ve mandrene sağlam bir şekilde bağlayınız. Çalışma sırasında arada bir makineyi durdurarak mandrenin sıklığını kontrol ediniz.

➤ Delme sırasında, matkabı yakacak veya kırarak şekilde zorlamayınız. Derinliği fazla olan deliklerde, matkabı arıyla geriye çekerek talaşların boşalmasını ve matkabın soğumasını sağlayınız.

➤ İş parçasını tablaya sağlam bir şekilde bağlayınız.

➤ Matkap koruyucu siperini daima kullanınız. Delme sırasında elinizi matkaptan ve özellikle deliğin çıkış ağzından koruyunuz.

➤ Uygun matkabı seçtikten sonra matkabın keskinliğini kontrol ediniz ve

➤ Mandrene sağlam bir şekilde bağlayınız.

➤ İş parçasını tablaya sağlam bir şekilde bağlayınız.

➤ Tablanın yüksekliğini ve dayama çubuklarını tablanın hareketine göre ayarlayınız.

➤ İstenilen delme derinliğine göre derinlik ayar çubuğunu ayarlayarak sıkıştırınız.

- mandren anahtarını mandrenden çıkartmadan kesinlikle makineyi çalıştırmayınız.
- Şalteri kapatınca mandreni elinizle tutarak çabuk durdurmaya çalışmayınız [15,25].

### 1.10. 2. Dikey-Delik Makinesinde Çalışma Güvenliği

- Dikey delik makinesi, kısa iş parçalarının baş kısımlarına, uzun iş parçalarının ve tablaların da yüzeylerine her türlü kavela, vida deliğinin yanı sıra zıvana, kiniş açma vb. işlemlerinde kullanılmaktadır. Makine kullanılırken aşağıdaki hususlara dikkat edilir:
  - Mandren anahtarı çıkarılmadan makine çalıştırılmamalıdır.
  - Çalışma sırasında eller matkapta uzak tutulmalıdır.
  - Şalter kapatılınca, mandren elle durdurulmamalıdır.
  - Özellikle küçük iş parçaları, serbest elle tutularak değil bir mengeneyle veya tablaya uygun bir şekilde bağlanarak delme işlemi yapılmalıdır. İş parçası elinizden kurtulup matkapla birlikte dönmeye başlayabilir. Bu durumda iş parçası yakalamaya çalışılmamalıdır. Hemen makinenin şalteri kapatılmalıdır.



Şekil 13. Dikey Delik Makinesi [33]

- Delme sırasında, matkap yanacak veya kırılacak şekilde zorlanmamalıdır. Derinliği fazla olan deliklerde, matkap fasıllarla geri çekilerek talaşların boşalması ve matkabın soğuması sağlanmalıdır.
- Delme sırasında matkap ucunun metal tablaya çarpmamasına dikkat edilmeli, gerekirse iş parçasının altına uygun bir altlık konulmalıdır.
- İş elbisesinin kolları lastikli, matkaba dolanmayacak şekilde olmalıdır.
- Delme işleminde sona gelirken ilerleme hızı azaltılmalıdır.
- Matkabın Keskinliğini Daima Kontrol Ediniz Ve Mandrene Sağlam Bir Şekilde Bağlayınız. Çalışma Sırasında Arada Bir Makineyi Durdurarak Mandrenin

Sıklığını Kontrol Ediniz.

- Mandren Anahtarını Mandrenden Çıkarmadan Makineyi Katiyen Çalıştırmayınız.
- Delme Sırasında, Matkabı Yakacak Veya Kırılacak Şekilde Zorlamayınız .Derinliği Fazla Olan Deliklerde, Matkabı Arayla Geriye Çekerek Talaşların Boşalmasını Ve Matkabın Soğumasını Sağlayınız.
- İş Parçasını Tablaya Sağlam Bir Şekilde Bağlayınız.
- Matkap Korumayı Siperini Daima Kullanınız. Delme Sırasında Elinizi Matkaptan Ve Özellikle Deliğin Çıkış Ağzından Koruyunuz.
- Ucu Merkezleme Vidalı Ve Piramit Dipli Dalıcı (Amerikan) Matkapları Makineye Bağlamayınız.
- Şalteri Kapatınca Mandreni Elinizde Tutarak Çabucak Durdurmaya Kalkmayınız [15,20,25].

## SONUÇLAR

Ülkemizde teknolojik gelişmelere hemen adapte olabilecek bir iş gücü yapısının olmaması, makine koruyucuları ile kişisel koruma araçlarının kullanımının yoğun olmaması, kazaların sayısını ve boyutunu artırmaktadır. Bu nedenlerden dolayı, makinelerden kaynaklanan kazalarda uzuv kopması ve ölümler çok olmaktadır [34].

İş kazaları için risk oluşturacak durumları hükümetler, dernekler ve yönetimler kararlaştırmalıdır. Geliştirilen kararları organizasyonların etkili bir şekilde uygulayabilmesi için, riskli durumların kontrol edilmesinde işletmenin dışından da yardımlar alınabilir [35].

Mobilya işletmelerine yönelik yapılan bir araştırmada, çalışılan makinelerin durumu veya tasarımı da iş kazalarından yeterli derecede korunabilmek için pek uygun olmadığı tespit edilmiştir. Çalışmanın gerçekleştirildiği küçük ve orta ölçekteki mobilya imalat atölyelerindeki makinelerin % 41,5'lik bölümü, kazaların olmaması için gerekli güvenlik teçhizatları ile donatılmamış veya bulunan teçhizatlarda hantal olduğu için kullanılmadığı tespit edilmiştir [6]. Fakat 30 Haziran 2012 tarihinde resmi gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren 6331 sayılı İş sağlığı ve güvenliği konunun getirdiği zorunluluklardan kaynaklanan bazı değişiklikler söz konusudur.

Makine ve malzemelerin iş kazalarının oluşumundaki etkisine bakıldığında kazalar, bakım ve onarımı yapılmamış veya uygun koruyucularla donatılmamış makinelerden, iyi seçilmeyen ve kullanılmayan kişisel koruyucu ve taşıma araçlarından, elektrikli araçların topraklanmaması ve izole edilmemesinden, zehirli, sıcak ve basınçlı gaz ve sıvıların iyi depo edilmemesinden, yorgun malzeme kullanımından veya kötü bir fabrika ve iş planından kaynaklanabilecektir. 30 Haziran 2012 yılında yürürlüğe giren İş Sağlığı ve Güvenliği kanunu ile birlikte, yasal zorunluluk haline gelen makine ve makine koruyucuları hakkında genel olarak aranan güvenlik kriterleri; makinenin dönen hiçbir aksamının meydana (görünür) olmaması, acil stop butonlarının bulunması, elektrik tertibatının toplu olarak bir pano içerisine bulunması, topraklamalı sistemlerin kurulması, koruma rölelerinin bulunması, insan antropolojisine uygun tasarımlar yapılması gibi şartlar sıralanabilir. Bu standartların herhangi bir makinede mevcut olması demek, CE (Conformité Européene & Avrupaya uygunluk) gereksinimlerini sağladığı anlamına gelir. Bu sebepten dolayı, mobilya üreticileri 6331 sayılı mevzuattan kaynaklanan zorunlulukları aşmak için ve Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı tarafından

yapılan iş güvenliği teftişlerinden problem yaşamamak için CE standartlarına sahip ya da CE belgeli makineler tercih etmeleri daha uygun olacaktır.

Bu çalışmada da yer verilen makineler ile ülkemizde orman ürünleri endüstrisine yönelik imalat dallarında yapılan araştırma sonuçlarında en sık iş kazası yaşanan makineler sıralandığında en çok planya, daire testere, freze, şerit testere ve diğerleri şeklinde olduğu bilinmektedir [6,36].

Son yıllarda geliştirilen, fakat makinelerde bulundurulmasının henüz yasal zorunluluğu olmayan "Otomatik Testere Durdurucular" daire testere monte edilmesi sonucu çalışan uzuvlarının zarar görmesini engellemektedir. Otomatik testere durdurucu, tezgâhın alt kısmına konumlanan çeşitli sensörler vasıtasıyla bir insan uzvunun testereye degeceğini algıladığı anda, yumuşak dokuyu tanıyıp elektrik sinyali ile freni devreye sokması ve testereyi durduran bir prensibe bağlı olarak çalışmaktadır. Bu ve buna benzer ileri teknoloji güvenlik sistemlerini bütün makinelerde kullanılmasının yasal zorunluluk olması, güvenlik standartlarını bir üst seviyeye çıkaracaktır.

Sonuç olarak işletmeler, makinelerden kaynaklı iş kazalarını önlemek için bilimin ve teknolojinin gerektirdiği şekilde makine parkurunu ve koruyucularını güncellemeleri ve gerekli güvenlik tedbirleri azami şekilde almaları gerekir. Devlet yönetimi ve yasa yapıcılar ise, kaza risklerini tamamen ortadan kaldırmayı amaçlayan tedbirleri yasal zorunluluklarla belirleyip, uygulanabilirliğini denetlemesi şarttır. Mobilya endüstrisine yönelik makine üretimi ve tedariki yapan firmalar da insan antropolojisine uygun biçimde tasarımlar yaparak, ergonomik kriterler göz önünde bulundurularak, makine koruyucuları ile birlikte teknik olarak güvenli tertibatını, insan dikkatine bağlı olmaksızın oluşturmaktadır.

Bundan sonraki çalışmalarda, İş sağlığı ve güvenliği ile ilgili mobilya sektörüne yönelik tespitler için analiz çalışmaları yapılabilir. Makine ve koruyucularının geliştirilmesine yönelik katkı ve öneriler sunulabilir. Yasalar ile zorunlu hale getirilmelidir. Makinelerde çalışan bireyler ise, tamamen işlerine adapte olup, dalgınlığa yol açabilecek durumlardan kendini soyutlamalıdır. Gerek makine gerekse kendisi için gerekli ve yeterli güvenli çalışma şartlarını oluşturduktan sonra çalışmaya başlanmalıdır.

## KAYNAKLAR

- [1] Koç, KH., Aksu B., Yıldırım M., 1998. Türkiye Mobilya Sanayinde İş Kazaları ve Meslek Hastalıklarının seyri ve önlenmesine ilişkin öneriler, Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları, No:622 S: 417-430
- [2] TOBB, 2013. Türkiye Mobilya Ürünleri Meclisi Sektör Raporu, Ankara
- [3] Atılgan A., Ersen N., Kahraman N., Peker H., 2015. Türkiye Mobilya Sanayinde İş Kazası ve Meslek Hastalıklarının Önlenmesine İlişkin Tavsiyeler, Selçuk Üniversitesi Teknik Online Dergisi, Özel Sayı (UMK-2015), S.664-683.
- [4] Üçüncü, K., 2012 SGK İş Kazası İstatistiklerinin Analizi-<http://www.isteguvencilik.tc/SGK2012IsKazaIstatistik.pdf>, Erişim Tarihi: 10.02.2015
- [5] Göksel Ulay, Ağaç İşleri Makinelerinde Güvenli Çalışma İçin Donanım Teknolojileri, 2015, Konya Selçuk Üniversitesi Teknik Online Dergisi, Özel Sayı (UMK-2015), S. 130-151
- [6] Uysal, B., Özçiftçi, A., Kurt, Ş., 2005. Türkiye'de Küçük Ve Orta Ölçekli Mobilya İmalat İşletmelerinde

Meydana Gelen İş Kazalarının Analizi, G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi, ISSN 1303-9709, 18(3), s: 439-451, Ankara

[7] Atay, F., 2006. Endüstri Alanında Çalışan Bireylerin İş Doyumu Düzeylerinin İş Güvenliği Algıları Açısından İncelenmesi, Sakarya Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Sakarya.

[8] Camkurt, M.Z., 2013. "Çalışanların Kişisel Özelliklerinin İş Kazalarının Meydana Gelmesi Üzerindeki Etkisi", TUHİS, İş Hukuku ve İktisat Dergisi, 24(6), 70-101.

[9] Gedik T., İlhan A., 2014. Sakarya İli Mobilya İmalatçılarında İş Sağlığı ve İş Güvenliği Üzerine Bir İnceleme, SDÜ Orman Fakültesi Dergisi, S. 15: 123-129

[10] Ekin, N., 1993. "İşçi Sağlığı ve İş Güvenliğinde Son Gelişmeler", Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı, İşçi Sağlığı ve İş güvenliği Sempozyumu, Ankara.

[11] URL-1. <http://safetyhealth.com.tr/mobilya-imalatinda-karsilasilan-saglik-ve-guvenlik-sorunlari/> (Erişim Tarihi: 10.04.2016)

[12] Mobilya ve İç Mekân Tasarımı (2011a), Makinede Rendeleme, MEGEP, Ankara.

[13] URL-2. [http://www.eroglumakine.com/images/makine/netmak/netmak\\_pl500\\_tek.jpg](http://www.eroglumakine.com/images/makine/netmak/netmak_pl500_tek.jpg) (Erişim Tarihi: 15.02.2016)

[14] Afyonlu A. Safa(1981), Ağaç İşleri Takım ve Makine Bilgisi (Temel Ders Kitabı), MEB, İstanbul.

[15] URL-3. <http://www.isgbelge.com/belge-ve-dokumanlar/talimatlar/> (Erişim Tarihi: 01.03.2016)

[16] URL-4. [http://s.makinaturkiye.com/Product/118396/thumbs/netmak\\_k500\\_otm\\_kalinlik\\_makinasi-1-400x300.jpg](http://s.makinaturkiye.com/Product/118396/thumbs/netmak_k500_otm_kalinlik_makinasi-1-400x300.jpg) (Erişim Tarihi: 01.03.2016)

[17] URL-5. [http://www.savasermakina.com.tr/urunler/sakullufreze/netmak\\_s900.jpg](http://www.savasermakina.com.tr/urunler/sakullufreze/netmak_s900.jpg) (Erişim Tarihi: 11.03.2016).

[18] Mobilya ve İç Mekân Tasarımı (2011), Makinede Şekillendirme, MEGEP, Ankara.

[19] URL-6. [http://www.ahsapislememakinalari.com/ilan/ilan\\_resimleri\\_kucuk/387r1griggio%20%20210%20freze-30.10.2010.11.51.37.jpg](http://www.ahsapislememakinalari.com/ilan/ilan_resimleri_kucuk/387r1griggio%20%20210%20freze-30.10.2010.11.51.37.jpg) (Erişim Tarihi: 21.03.2016).

[20] URL-7. <http://www.kalite.yildiz.edu.tr/category.php?id=23> (Erişim Tarihi: 15.04.2016).

[21] URL-8. [http://kajubox.mizrakmakine.com/uploads%5C12\\_0B%5C4237.jpg](http://kajubox.mizrakmakine.com/uploads%5C12_0B%5C4237.jpg) (Erişim Tarihi: 15.04.2016).

[22] URL-9. [http://makinecim.com/cp/pictures/2013/05/31/201454/i\\_satilik.60.lik.serit.makinasi.60.lik.serit.hizar.makinasi.satilik.60.lik.hizar\\_1\\_1369995424.jpg](http://makinecim.com/cp/pictures/2013/05/31/201454/i_satilik.60.lik.serit.makinasi.60.lik.serit.hizar.makinasi.satilik.60.lik.hizar_1_1369995424.jpg) (Erişim Tarihi: 18.04.2016).

[23] Ahşap Teknolojisi (2008), Tornalamaya Hazırlık, MEGEP, Ankara.

[24] URL-10. [http://s.makinaturkiye.com/Product/82521/thumbs/sicak\\_pres\\_makinesi\\_1300\\_x\\_3000\\_-1-400x300.jpg](http://s.makinaturkiye.com/Product/82521/thumbs/sicak_pres_makinesi_1300_x_3000_-1-400x300.jpg) (Erişim Tarihi: 19.04.2016).

[25] Ahşap Teknolojisi (2006), Makinede Delik Delme, MEGEP, Ankara.

[26] URL-11. [http://www.savasermakina.com.tr/urunler/agactorna/site\\_kopyali.jpg](http://www.savasermakina.com.tr/urunler/agactorna/site_kopyali.jpg) (Erişim Tarihi: 19.04.2016).

[27] URL-12. [http://s.makinaturkiye.com/Product/120143/thumbs/palet\\_zimpara\\_makinasi\\_2200x800\\_mm-1-900x675.jpg](http://s.makinaturkiye.com/Product/120143/thumbs/palet_zimpara_makinasi_2200x800_mm-1-900x675.jpg) (Erişim Tarihi: 01.04.2016).

[28] URL-13. [http://s.makinaturkiye.com/Product/120563/thumbs/pistonlu\\_hava\\_kompresoru\\_400lt-1-400x300.jpg](http://s.makinaturkiye.com/Product/120563/thumbs/pistonlu_hava_kompresoru_400lt-1-400x300.jpg) (Erişim Tarihi: 01.04.2016).

[29] URL-14. <http://ozanmakina.com/Ozbaskent->

Kazimali-Makasli-Pvc-Kenar-Bantlama-Makinasi-1215-2-tr-urun.html (Erişim Tarihi: 21.04.2016).

[30]URL-15. [http://www.makinemarket.net/makinemarket/galeri/188183kenar\\_bantlama\\_makinasi\\_mizrak\\_t.gif](http://www.makinemarket.net/makinemarket/galeri/188183kenar_bantlama_makinasi_mizrak_t.gif) (Erişim Tarihi: 12.04.2016).

[31]URL-16. [http://kenaryapistirmamakinasi.com/Mizrak-TUANA-KB-46-SUPER-Kenar-Bantlama-Makinasi-Kullanım-Kilavuzu\\_4\\_s\\_tr.html](http://kenaryapistirmamakinasi.com/Mizrak-TUANA-KB-46-SUPER-Kenar-Bantlama-Makinasi-Kullanım-Kilavuzu_4_s_tr.html) (Erişim Tarihi: 11.02.2016).

[32]URL-17. [http://s.makinaturkiye.com/Product/119300/thumbs/karsak\\_yatay\\_delik\\_makinasi\\_motor\\_hareketli-1-900x675.jpg](http://s.makinaturkiye.com/Product/119300/thumbs/karsak_yatay_delik_makinasi_motor_hareketli-1-900x675.jpg) (Erişim Tarihi: 11.02.2016).

[33]URL-18. <http://www.dekorasyonhocasi.com/wp-content/uploads/dekorasyonhocasi-5.bmp>

[34]Vayisoğlu, Z. A., İnsan kaynakları açısından işçi sağlığı ve iş güvenliği tedbirleri ve konuyla ilgili bir araştırma, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, İstanbul, 38-52 (2008).

[35]Rasmussen, J., Svedung, I., 2000. Proactive Risk Management in a Dynamic Society. Raddningsverket, Karlstad.

[36]Gürleyen L., Ulay G., Gürleyen T., Çakıcıer N. , “Mobilya Üretimi Yapan İşletmelerde İş Kazalarına Yönelik Mevcut Durumun Tespiti(Düzce İli Örneği)”, II. Ulusal Mobilya Kongresi (Pamukkale Üniversitesi) , 2013; ss:327-337 , Denizli.



[www.dergipark.gov.tr/derleme](http://www.dergipark.gov.tr/derleme)

NOBEL SCIENCE