



Review Paper / Derleme Makalesi

THE USE OF LICHENS FOR BIOMONITORING OF ATMOSPHERIC POLLUTION

Gülşah ÇOBANOĞLU*

Marmara Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kadıköy-İSTANBUL

Received/Geliş: 19.06.2015 Revised/Düzelme: 22.08.2015 Accepted/Kabul: 07.09.2015

ABSTRACT

Although sulfur dioxide concentration decreased in recent years caused by the discouragement of fossil fuel, pollutants in the atmosphere still forming a considerable threat to human health, and it should be followed and taken constant and serious precautions about causing resources. Instantaneous or ongoing air pollution levels can be measured in various ways, directly or indirectly. In this study, to determine air quality (in terms of quantities and impacts of pollutants such as sulfur dioxide, heavy metals, radionuclides), how to benefit the lichens featuring bioindicators and biomonitors, which methods are applied, the advantages and disadvantages of biological methods, past to present studies on this subject in the world, the assessment of the relevant literature and the reliability of the obtained results were taken from a broad perspective. In addition, the text covers various complementary information on the subject such as environmental and anthropogenic factors which are effective on pollution sensitivity of lichens, adverse effects of pollution on lichen structure, metal uptake mechanism in lichen thallus and comparative analysis of data relating to changes in parameters in vitality of lichens. This review will be a guiding source for air quality biomonitoring with lichens today and creation of protection strategies.

Keywords: Air quality, bioindicator, biomonitor, lichen.

ATMOSFERİK KİRLİLİĞİN BİYOLOJİK İZLENMESİNDE LİKENLERİN KULLANIMI

ÖZ

Son yıllarda eskiye oranla fosil yakıtlardan vazgeçilmesiyle kükürt dioksit konsantrasyonunda bir düşüş olduğundan söz edilmekle beraber, insan sağlığı için önemli tehdit oluşturan atmosferdeki kirleticilerin sürekli ve ciddi olarak takip edilmesi ve sebep olan kaynaklarla ilgili önlemler alınması gerekmektedir. Anlık veya süregelen hava kirliliği seviyesi doğrudan veya dolaylı olarak çeşitli yöntemlerle ölçülebilmektedir. Bu çalışmada, hava kalitesinin (kükürt dioksit, ağır metaller, radyonüklidler gibi kirleticilerin miktarları ve etkileri bakımından) değerlendirilmesi için biyoindikatör ve biyomonitör özelliğe sahip olan likenlerden nasıl faydalandığı, hangi yöntemlerin uygulandığı, biyolojik yöntemlerin avantaj ve dezavantajları, bu konuda yapılan geçmişten günümüze çalışmalar ve elde edilen sonuçların güvenilirliği hakkında ilgili literatürün değerlendirmesi geniş bir perspektifle ele alınmıştır. Bunun yanında, likenlerin kirliliğe duyarlılığında etkili olan çevresel ve antropojenik faktörler, kirliliğin liken yapısı üzerindeki olumsuz etkileri, liken tallusunun metal alımı mekanizması ve likenlerin canlılık parametrelerindeki değişimlerine ait verilerin karşılaştırmalı analizi gibi konuyla ilgili çeşitli tamamlayıcı bilgiler de yer almaktadır. Bu derleme, günümüzde likenlerle hava kalitesinin izlenmesinde ve koruma stratejilerinin oluşturulmasında yol gösterici bir kaynak olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Biyoindikatör, biyomonitör, hava kalitesi, liken.

* Corresponding Author/Sorumlu Yazar: e-mail/e-ileti: gcoban@marmara.edu.tr, tel: (216) 347 96 41 / 1249

1. GİRİŞ

Likenler bazı mantarlar (çoğunlukla *Ascomycetes*) ile yeşil alglerin (*Chlorophyta*) ve/veya siyanobakterilerin (*Cyanobacteria*) –daha çok bilinen adıyla mavi-yeşil alglerin– ortak yaşamının yaklaşık 20 000 tür ile ifade edilen başarılı örnekleridir. Bu ortak yaşam, “simbiyoz”, çoğunlukla kabul gördüğü gibi mutualistik (her iki ortağın da fayda sağladığı) bir birliktir. Vernon Ahmadjian’ın görüşüne göre ise mantarın alg üzerinde kurduğu kontrollü bir parazitlik şeklindedir [1]. Likenin simbiyotik yaşam ortaklarından “simbiyont” olarak bahsedilirken, mantar ortağı için “mikobiyont”, fotosentez yapan ortağı için “fotobiyont” terimleri sıklıkla kullanılmaktadır. Liken terimlerinin Türkçe karşılıkları henüz kesinlik kazanmamıştır, ancak bazıları Türkçeleştirilmiş şekilde dilimize yerleşmektedir. O. Sevgi ve B. Tecimen ilk olarak liken terimlerinin Türkçe karşılıkları için bazı öneriler yayınlamışlardır [2]. Bu simbiyotik birlik, kökleri ve kutikulası (su geçirmeyen dış örtüsü) olmayan ortak bir “tallus” oluşturur ve esas olarak minerallerin atmosferden alımı geçerlidir. Likenlerin bu özellikleri, geniş bir coğrafi aralıkta gelişebilmedeki olağanüstü yetenekleri ve mineral elementlerin ihtiyaçlarından çok daha fazlasını biriktirmeleri ile birleştiğinde, onları hava kirliliğinin en iyi biyolojik göstergeleri arasına sokmuştur [3-4].

Liken türleri aynı zamanda çok geniş bir morfolojik çeşitliliğe sahiptir. tallus tipleri ağaçlardan metrelerce uzunlukta sarkan ve tek noktadan bağlanan “dalsı” veya dik duran “çalımsı”, substrat üzerinde büyüklü küçüklü loblara sahip rozet şeklinde yayılan “yapraksı”, substratın içine gömülen 1 cm den bile küçük ya da yüzeyinde 10 cm den daha büyük olabilen “kabuksu”, hatta “unsu” formlara kadar çok farklı şekil, boyut ve renktedir.

Yeryüzündeki çoğu ekosistemde, ağaç (epifitik), kaya (epilitik) ve toprak (epigeik) gibi çeşitli tipte “substrat” (tutundukları ortam) üzerinde gelişen bitkisel canlılardır. Bitki olarak anılmaları, bitkilere benzer olarak fotosentez yapabilen klorofilli ortağının sayesinde likenin kendisine besin üretebilmesinden olup aslında, türleşmede daha etkili olan mantar ortağının filogenisine dayalı olarak sınıflandırmada Bitkiler (Plantae) değil, Mantarlar (Fungi) aleminde yer alırlar. Tallus içinde mantarlar (Fungi), algler (Protista) ve siyanobakteriler (Monera veya Bacteria) aynı anda 3 alem üyesi (en az 2) bir arada yaşayabilmektedir. Mantar türleri kendi besinlerini üretmediklerinden, doğada serbest olarak da yaşayabilen ancak çoğunlukla liken oluşturmayı tercih eden belirli mikroskobik alg veya siyanobakteri türleri (*Trebouxia*, *Trentepohlia* veya *Nostoc* gibi) ile bir araya gelerek liken türlerini meydana getirirler [5].

1.1. Likenlerin Biyolojik Avantajları

Birçok sebepten dolayı likenler atmosferik birikim çalışmalarında biyolojik izleme araçları olarak da fayda sağlamaktadır. Likenlerin çok geniş bir coğrafi yayılımı bulunduğundan evrensel düzeyde karşılaştırılabilirliklerine izin vermektedirler. Buna ek bir avantaj olarak, çok yıllık ve yavaş büyüyen talli organizmalar olan likenler, kısımları mevsime göre görülen çiçekli bitkiler gibi değil, zamana göre değişmeyen tek bir morfoloji gösterirler. Yani likenlerdeki morfolojik değişikliklerin kendileri zamana bağlı birikimin etkileridir.

Likenler metabolik aktivitesi atmosferik nem ile sınırlı “poikilohidrik” organizmalardır. Yüksek bitkilerde olan stoma ve kutikulanın likenlerde bulunmaması havadaki kirlenmelerin tüm tallus yüzeyi ile emilmesi anlamına gelmektedir. Belki de en önemlisi, likenlerin birçok elementi kendi fizyolojik ihtiyacından çok daha fazla miktarlarda biriktirme yetenekleridir [5]. Likenlerin vasküler (damarlı) bitkilerden 100 kat daha fazla kükürt dioksit absorbe ettiği belirtilmektedir [6]. Hava kirliliği indikatör rolü bakımından çiçekli bitkilerle karşılaştırıldığında, liken ve karayosunu gibi talli bitkiler daha fazla öne çıkmaktadır. Çünkü hava kalitesinin izlenmesi söz konusu olduğunda, uzun yıllar bütün bir tallus olarak (yaprak, çiçek dökmeden) yaşayan likenlerin tercih edilmesi daha uzun vadeli ve güvenilir sonuçlar vermektedir.

Likenlerin kirliliğe duyarlılığının yüksek oluşu onların biyolojisi ile yakın ilişkilidir. Uzun yaşayan çok yıllık organizmalar olarak bütün yıl kirleticilere maruz kalan likenler simbiyotik dengeyi korumak zorundadır. Bütün liken türleri kirliliğe aynı derecede duyarlılık göstermezler. Fakat genel olarak kirliliğe ancak belirli bir tolerans limitinde dayanabilirler. Bu nedenle hava kalitesinin izlenmesinde önem kazanmışlardır. Liken komünitelerindeki çeşitlilikten dolayı, belirli türlerin sıklık (frekans) derecesine bağlı yayılış haritaları bu konudaki çalışmaların başında gelir. İkinci yaklaşım liken türlerinin kirliliğe cevap olarak morfolojik ve anatomik değişikliklerinin incelenmesidir. Üçüncü yol ise fizyolojik cevabın (membran bütünlüğü, CO₂ gaz alışverişi, klorofil, pigment yıkımı, N₂ fiksasyonu ve enzim aktivitesi gibi) incelenmesidir. Kirlilikten zarar gören likenlerde meydana gelen bazı değişiklikler şu şekilde sıralanabilir: morfolojik ve anatomik semptomlar, ince-yapı semptomları, membran sistemi bozuklukları, klorofil flüoresan bozukluğu, fizyolojik bozukluklar, üreme-gelişme ve büyüme hızı bozuklukları [5]. Bu değişikliklerin bir kısmı (morfolojik ve fizyolojik) arazide gözlemlenirken bir kısım değişiklikler transplantasyon çalışmalarıyla veya kontrollü laboratuvar çalışmalarıyla gözlemlenebilir.

1.2. Biyolojik Göstergeler İle İlgili Terim ve Tanımlamalar

Çevre kirliliğinde organizmalar için kullanılan birçok terim birbirinden farklı anlamlar taşımaktadır. “Biyoidikatör” ya da biyolojik gösterge terimi organizmaların farklı seviyelerdeki kirleticilere verdikleri cevap ile ilişkili olarak atmosferdeki kirleticilerin varlığını ve miktarını gösterme yeteneklerini ifade etmektedir. Hava kirliliği seviyesinde nicel bilgi sağlayan biyolojik göstergeler “biyoidikatörler”, zamana göre değişikliklerin belirlenmesine de izin veren ve nitel veri sağlayan biyolojik izleyiciler “biyomonitörler” olarak tanımlanmaktadır. Biyomonitörlerin kullanıldığı uygulama “biyolojik izleme” veya “biyoizleme” (İng. biomonitoring) olayıdır. “Biyoakümülatör” terimi havadaki metalleri içinde tutan biyolojik biriktiriciler için kullanılmaktadır. “Biyoremediatörler (fitoremediatörler)” ise biyolojik iyileştiriciler anlamına geldiğinden kirleticileri çevreden uzaklaştırma, eleme veya koruma özelliği göstermelidir. Biyoremediatörler yüksek miktarda toksik biriktiren, kısa ömürlü ve büyük biyokütleyle sahip olan canlılardır. Likenler, iyi birer biyoidikatör ve biyoakümülatör olmalarına rağmen havayı iyileştirici ve çevreyi koruyucu biyoremediatörler (fitoremediatörler) arasında sayılmamaktadır. Bunun nedeni çok yavaş büyümelerinden meydana gelen büyük miktarda liken biyokütlesinde biriken metallerin asıl kaynağının aydınlatılmasının güç olmasıdır [7]. “Biyolojik gösterge” ile “biyolojik biriktirici” terimleri birbirlerinin yerine kullanılamaz. “Biyomonitör (biyolojik izleyici)” terimi için; “belli element ve maddeleri içeren ve/veya morfolojik, histolojik veya hücresel yapıları, metabolik-biyokimyasal olayları, davranışları, popülasyon yapıları ve bu parametrelerdeki değişimleri içine alan, çevresel değişiklikler veya çevre kalitesinin nicel etkileri üzerinde haber verici organizmalar veya organizmaların komüniteleri” tanımlaması kullanılmıştır [8].

Bir organizmanın “biyomonitör” olabilmesi için gerekli özellikler J. Garty [3] tarafından şöyle sıralanmıştır: 1. Organizmanın ölçülebilir miktarda metal biriktirme yeteneğinin olması, 2. Organizma veya ilgili kısımlarının kalite ve yeryüzündeki dağılımı açısından uygun olması ve örnek toplanmasının mümkün olması, 3. Çalışmanın tekrar edilebilir olması, 4. Toplama ve analizlerin gerektirdiği harcamaların kabul edilebilir olması [4].

“Hava kirliliği” terimi “hava kalitesi” ile eş anlamlı değildir. “Hava kirliliği”, kirleticiler ile “hava kalitesi” ise kirleticilerin etkileri ile tanımlanmakta olup bu etkiler insanları, hayvanları ve inorganik maddeleri, anıtları v.b. içine almaktadır [3]. “Hava kirliliği” terimi atmosferik duman, mineralce zengin toz, Kükürt dioksit (SO₂), Nitrojen oksitler (NO_x), Kükürt (S) ve Azotlu (N) bileşikler, Flor (F), foto-oksitanlar (Ozon ve PAN gibi) ve hava toksik maddelerini ifade etmektedir.

M.R.D. Seaward, belirli kirleticilerin canlı materyalle izlenmesinde biyoidikatörlerin

önemine açık olarak değinerek biyosferde insan teknolojisinin değerlendirilmesine güncel bir yaklaşım getirmiştir [9]. Fakat yine de fiziksel ve kimyasal olarak kirleticilerin ölçülmesinin yerine geçemiştir. Biyolojik izleme, fazlaca alet kullanımı gerektiren pahalı ve pratik olmayan kapsamlı araştırmalarda tamamlayıcı veya alternatif yöntem olarak tavsiye edilmektedir. Böylece, fiziksel ve kimyasal verilerin yanında, canlılığı gösteren fizyolojik veriler de sağlanmaktadır.

1.3. Atmosferik Kirlilik Değerlendirmesinde Likenlerin Rolü

Atmosferik kirleticiler Hutchinson vd. tarafından şöyle sınıflandırılmıştır [10]: 1- Birincil kirleticiler; SO₂, NO₂ ve F bileşikleri olup atmosferde aynı kimyasal formunda kalırlar, 2- İkincil kirleticiler; atmosferde taşınma sırasında primer kirleticilerin kimyasal reaksiyonları sonucu ortaya çıkan (O₃) ozon, peroksi asetil nitrat (PAN) ve asit yağmurlarından kaynaklanan sülfirik asit (H₂SO₄) ve nitrik asit (HNO₃) gibi asitlerdir, 3- Üçüncü grup kirleticiler; havadaki toksikleri içine alan endüstriyel organik bileşikler, tarımsal pestisitler, iz metaller ve metalloidler kapsamaktadır. Genellikle kükürt ve azot bileşikleri atmosferde gaz formunda bulunurken, ağır metaller partikül maddelere (PM) bağlı olarak bulunurlar [11]. Bazı partiküller volkanlar, toz ve kum fırtınaları, orman ve otlak yangınları, canlı vejetasyon ve deniz sprey etkisinden kaynaklı doğal olarak meydana gelir. Ayrıca elektrik santralleri, endüstriyel faaliyetler ve motorlu taşıtlarda fosil yakıtların kullanılması gibi çeşitli insan aktiviteleri önemli miktarda partikül üretmektedir. Bunlar kanser, kalp problemleri, solunum yolu hastalıkları ve bebek ölüm oranlarında artışa sebep olmaktadır [3].

Likenler, 1960lı yıllarda SO₂ (kükürt dioksit) gibi gaz kirleticilere karşı duyarlılıkları fark edildiğinden bu yana, şehir kirliliği ve emisyon kaynakları çevresinde indikatör olarak kullanılmaktadır. Havada düşük konsantrasyonlarda bulunan elementleri içinde biriktirebilme yetenekleriyle likenler o yıllardan günümüze kadar çok sık çalışma konusu olmuşlardır. Bununla ilgili yüzlerce makale bulunmaktadır [12] ve bunların arasında en eskileri liken komünitelerinin gaz halindeki kirleticilerle etkileşimi üzerinedir [13-18].

Bir bölgedeki liken türlerinin dağılımı, atmosferik kirliliğin özellikle kükürt dioksit seviyesinin tahmini değerlerini ortaya koyabilmektedir. Bu amaçla ilk kez D.L. Hawksworth ve F. Rose tarafından oluşturulan zonlama ölçeği ile İngiltere’de kükürt dioksit kirliliğinin tahminlerine dayalı 10 bölge tanımlanmıştır [15]. Bölge 1, ortalama kış SO₂ seviyesinin 170 µgm⁻³ ü aştığında epifitik likenlerin bulunmaması ile tanımlanırken bölge 10 ise SO₂ seviyesinin 10 µgm⁻³ den az olduğunda en fazla sayıda likenin bulunduğu bölgeyi ifade etmektedir (Çizelge 1). Liken dağılımında iklimsel ve coğrafik şartların etkili olması nedeniyle farklı bölgeler aynı liken türlerini barındırmaz. Dolayısıyla aynı çizelgenin bir başka ülkenin hava kirliliği seviyesi tahmini için birebir uygulanması mümkün değildir. Bu çizelge İngiltere’de yapıldığından o ülkeye özgüdür ve ancak doğal liken florası belirlenmiş bölgeler veya ülkeler için benzer şekilde yeni liken zonlama ölçekleri kendi liken türlerine dayalı olarak oluşturulabilir.

Likenler hava kirleticilerine duyarlı olmaları yanında, aynı zamanda iyi metal biriktiricilerdir. Gerek yağış ve toz, gerekse doğal ve antropolojik substratlarda (kabuk, toprak, kaya) mineral besinler, metal ve ağır metaller bulunur. Pb, Ni, Hg, Cr, Zn, Ti ve V önemli metal kirleticiler arasındadır [10]. Biyolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılan “ağır metal” terimi; fiziksel olarak metal, geçiş metali veya yarı metal dahi olsa atmosferde yüksek miktarlarda bulunduğu zaman canlılar üzerinde toksik etki gösteren elementler anlamına gelmektedir.

Çizelge 1. Kirlilikten etkilenme derecesine göre epifitik liken türlerinin dağılımı [15]

| Bölge | Kış Ortalama SO ₂ (µg m ⁻³) | Türler (orta derece asitli kabuk üzerinde) |
|-------|--|--|
| 0 | ∞ | Epifitik türler yok |
| 1 | > 170 | <i>Desmococcus viridis</i> gibi yeşil algler var ancak tabanda, liken yok |
| 2 | ~ 150 | Yeşil algler yukarı gövdede, <i>Lecanora conizaeoides</i> (kabuksu liken) tabanda |
| 3 | ~ 125 | <i>L. conizeoides</i> yukarı gövdede ve <i>Lepraria incana</i> tabanda bol |
| 4 | ~ 70 | <i>Hypogymnia physodes</i> ve/veya <i>Parmelia saxatilis</i> veya <i>P. sulcata</i> tabanda, yukarı gövdede yok, <i>Hypocenomyce scalaris</i> , <i>Lecanora expellens</i> ve <i>Chaenotheca ferruginea</i> sıklıkla var |
| 5 | ~ 60 | <i>H. physodes</i> , <i>P. saxatilis</i> yukarı gövdede, <i>Melanelixia glabrata</i> , <i>P. subrudecta</i> , <i>Parmeliopsis ambigua</i> , <i>Lecanora chlorotera</i> görünür, <i>Calicium viride</i> , <i>Chrysothrix candelaris</i> , <i>Pertusaria amara</i> bulunabilir, <i>Ramalina farinacea</i> ve <i>Evernia prunastri</i> varsa tabanda, <i>Platismatia glauca</i> yatay dallar üzerinde |
| 6 | ~ 50 | <i>Flavoparmelia caperata</i> en azından tabanda var, <i>Pertusaria</i> (<i>P. albescens</i> , <i>P. hymenea</i> gibi), <i>Parmelia</i> s.l. (<i>Hypotrachyna revoluta</i> , <i>Parmelina tiliacea</i> , <i>Melanohalea exasperatula</i>) bol miktarda, <i>Graphis elegans</i> görünür, <i>Pseudevernia furfuracea</i> , <i>Bryoria fuscescens</i> yüksek alanlarda bulunabilir |
| 7 | ~ 40 | <i>Flavoparmelia caperata</i> , <i>Hypotrachyna revoluta</i> , <i>Parmelina tiliacea</i> , <i>Melanohalea exasperatula</i> yukarı gövdede, <i>Usnea subfloridana</i> , <i>Pertusaria hemispherica</i> , <i>Rinodina roboris</i> , <i>Arthonia pruinata</i> görünebilir |
| 8 | ~ 35 | <i>Usnea ceratina</i> , <i>Parmotrema perlatum</i> veya <i>Parmotrema reticulatum</i> görünür, <i>R. roboris</i> yukarı gövdede, <i>Normandina pulchella</i> , <i>Usnea rubicunda</i> genelde bulunur |
| 9 | < 30 | <i>Lobaria pulmonaria</i> , <i>L. amplissima</i> , <i>Pachyphiale carneola</i> , <i>Dimerella lutea</i> veya <i>Usnea florida</i> var, eğer bunlar yoksa 25 den fazla kabuksu tür iyi gelişmiştir |
| 10 | Saf | <i>L. amplissima</i> , <i>Lobarina scrobiculata</i> , <i>Sticta limbata</i> , <i>Pannaria spp.</i> , <i>Usnea articulata</i> , <i>U. filipendula</i> veya <i>Teloschistes flavicans</i> var |

1.4. Likenlerin Duyarlılık Gösterdiği Çevresel Faktörler

Likenlerin duyarlılık gösterdiği en önemli faktörlerin başında “atmosferik kirlilik” gelmektedir ki bu doğrudan veya dolaylı şekilde insan aktivitelerinden kaynaklanmaktadır. Bu duyarlılığın derecesinde biyotik ve abiyotik faktörler etkili olmaktadır. Biyolojik izleme çalışmaları, fiziksel çevre koşulları ve insan kaynaklı faktörler de göz önüne alınmalıdır.

Hemerobi (ekosistemlerdeki insan aktivitelerinin etkisi ve derecesi) açısından değerlendirmeler için likenler önemli bir gösterge olarak kullanılmaktadır [19]. İndikatör türler çeşitli derecelerde zarar görmüş olan vejetasyonlar hakkında belirleyici olmaktadır. Örneğin, iyi korunmamış ormanlarda *Xanthorion* birlikler yer alırken, *Lobarion* komüniteler sadece hemerobik etkiden uzak ormanlarda bulunmaktadır [20]. Yol kenarı likenlerinde (toprak, kaya ve ağaç türleri) yapılan çeşitli çalışmalarda, toprak profilleri ve karayolu üzerindeki vejetasyonun metal içeriğinde, rüzgarla dağılan tozun ve trafik yoğunluğunun etkili olduğu görülmüştür. Motorlu taşıtlar, azot oksitler (NO_x), karbon monoksit (CO), kükürt dioksit (SO₂), hidrokarbonlar, uçucu organik maddeler, havada asılı parçacıklar ve çeşitli metaller dışarı vermektedir. Kurşun (Pb) endüstrilemiş ülkelerdeki atmosferik birikimde antropojenik (insan kaynaklı) etkinin yaygın bir göstergesidir. Likenlerin ve karayosunlarının, motorlu araçlardan kaynaklanan kurşun (Pb) kirliliğindeki değişimin monitörü olarak kullanılması mümkündür [3].

Havadaki tozda metal-içeren parçacıkların maddesel özellikleriyle ilgili olarak solunum yolu kanseri vakalarının incelendiği çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Parçacık halinde maddeler ile gaz halindeki kirlleticilerin havada birleşimi insan solunum yolu hastalıkları ile çok sıkı bağlantılıdır.

Armalade'de (Orta İskoçya) yapılan bir çalışmada solunum yolu hastalıklarının bulaşma yollarının yorumlanmasında yardımcı rolleri ile likenlerin değeri gösterilmiştir ki burası İskoçya'nın 1963-1973 yılları arasında en yüksek akciğer kanseri ölümleri görülen bölgesidir [3]. C. Cislaghi ve P.L. Nimis tarafından yapılan çalışmada [21], İtalya'nın belli bölgelerinde genç erkek bireylerde akciğer kanseri ve liken çeşitliliği yüksek derecede birbiriyle pozitif ilişkili ($r=0,95$; $P<0,01$) bulunmuştur. Yaygın antropojenik kirleticiler olan SO_2 , NO_3^- , toz ve SO_4^{2-} ile pozitif ilişkili (sırasıyla $r=0,93$; $0,87$; $0,86$ ve $0,85$; $P<0,01$) olduğu halde, Cl^- , Ca^{+2} , Mg^{+2} , HCO_3^- , K^+ ve Na^+ gibi antropojenik olmayan maddeler ile aralarında bir ilişki elde edilememiştir. Bu tür çalışmalar antropolojik faaliyetlerin etkilerini açıkça göstermektedir.

Nüfus yoğunluğuyla birlikte özellikle dumanın fazlaşmasından, endüstri ve ticaret merkezi olan yerlerde ve yerleşim alanlarında kükürt dioksitin (SO_2) özellikle kış mevsimi ortalama değerlerinin arttığı bilinmektedir. Likenlerin SO_2 'ye karşı dumana nazaran daha duyarlı oldukları rapor edilmiştir [13]. Batı ve Orta Avrupa'da kirliliğe en dayanıklı tür olarak bilinen epifitik kabuksu liken *Lecanora conizaeoides*, SO_2 seviyesine bağlı olarak kolonize olduğu için kükürt miktarı bu tür için sınırlayıcı bir faktördür. Öyle ki, M. Hauck vd., tarafından 2001'de Almanya Harz dağlarında yapılan bir çalışmada, ağaç kabuğundaki kükürt değerlerinin düştüğü durumlarda bu kükürt-seven türün de azaldığı, türün dağılımında ayrıca diğer kirliliğe toleranslı epifitik türlerle rekabetin de önemli bir unsur olduğu belirtilmiştir [22]. M. Hauck vd.'ne göre, Batı ve Orta Avrupa'da çok düşük pH (yaklaşık 3) ve yüksek SO_2 değerlerine uyum sağlamış çok yaygın epifitik likenlerden biri olan *L. conizaeoides* popülasyonları, son 20 yılda ciddi derecede azalmıştır. Son yıllardaki kükürt dioksit değerlerindeki düşüşle birlikte asitlikteki hafif artışın (0,4 pH birimi) buna sebep olduğu rapor edilmiştir [23].

Likenlerin de diğer bitkiler gibi pH'ya duyarlılığından bahsedilmiştir. Ağaç kabuğu pH'sı ve toksik maddelere duyarlılık epifitik liken kompozisyonunu etkileyen öncelikli faktörlerdir [24]. Nitrofit denilen azot (N) seven türlerin çoğu SO_2 'nin toksik etkilerine karşı düşük duyarlılık göstermektedir ki onların tek ihtiyacı kabuk pH'sının yüksek olmasıdır. Kabuk pH'sının artışı, İsviçre'de, nitrofit türlerde büyük artış olmasına ve son on yılda asidofit türlerin kaybolmasına sebep olmuştur. Havadaki amonyak (NH_3) konsantrasyonunun ölçümleri ile *Quercus* üzerindeki nitrofitlerin çokluğu arasında hemen hemen doğrusal bir ilişki olduğu görülmüştür. Nitrofitlerin bolluğu, SO_2 konsantrasyonu ile ilişkili değildir. Asidofit türlerin ise çoğu $35 \mu g m^{-3}$ veya daha fazla NH_3 konsantrasyonu olan bölgelerde çok duyarlılık göstermiş ve tüm asidofitler ortadan kaybolmuştur [25]. Buna bağlı olarak, SO_2 hava kirliliğini izlemek veya tahmin etmek için tür çeşitliliğini kullanan günümüzdeki yöntemlerin bazı modifikasyonlara ihtiyacı olduğu, aksi takdirde, yüksek NH_3 seviyesi bulunan nispeten iyi bölgelerde, hava kalitesinin hatalı olarak değerlendirilebileceği savunulmuştur.

SO_2 'nin liken türlerine zararı, düşük pH değerlerinde yani asitlik arttıkça daha ciddi olmaktadır [18]. Fakat pH düşük olduğunda bu her zaman fakir liken florasına sebep değildir, çünkü düşük SO_2 olan bölgelerde iyi gelişen liken komüniteleri olmuştur [26]. Kalkerli substratlar liken kolonizasyonu için daha elverişlidir, öyle ki, kireçli harç ve çimentoda olduğu gibi, substratın yüksek pH'sı asitliğin toksik etkisini azaltarak likenin kirlilikte yaşamını sürdürülebilirliğini sağlar. Asit yağmurları, likenleri, doğrudan veya dolaylı olarak, substratın asitliğini artırarak etkilemektedir. Epifitler için de aynı durum söz konusudur. Örneğin, önceleri özellikle kabuksuz koniferlerde yaygın olan *Parmeliopsis ambigua*'nın, son yıllarda, İngiltere'de orta derece kirlilik olan bölgelerde, muhtemelen yükselen kabuk pH'sına tepki olarak yaygınlaştığı belirtilmiştir. Diğer taraftan *Lobaria pulmonaria* gibi kirliliğe duyarlı türler ağaç kabuklarında, *Quercus* gibi, büyük ölçüde kaybolmuşlardır [27].

Asit yağmurdan etkilenmemiş *Picea abies* ormanında, kabuk pH'sının dikey değişiminin gösterilmesi amaçlanan bir çalışmada, yer seviyesinden üst dallara doğru azalan kabuk pH'sı uç dallarda yeniden yüksek bulunmuş ve buna bağlı sıra dışı tür kompozisyonu ortaya çıkarılmıştır. *P. abies* dalları üzerinde yüksek kabuk pH'sına bağımlı *Lobaria* komünitelerinin geliştiği belirtilmiştir. Türlerin kendilerine özgü pH gereksinimleri olduğu ve hemen hemen endüstriyel

seviyede pH değerine sahip olduğu belirtilen asit yağmurlarının substratın pH'sını değiştirdiği durumlarda liken dağılımını etkilediği kaydedilmiştir [28].

Normal olarak yağmurların pH'sı 5,6 kadardır, çünkü CO₂ suda çözüldüğü zaman karbonat ve bikarbonat iyonları ile dengededir. Bugün ise yağmurların pH'sı 4–5 arasında, bazen daha düşüktür. Yağmura karşılık sis, normal olarak durağan atmosferik şartlarda ve çok daha yüksek iyon konsantrasyonu sonucunda oluşur. Bu durumda sisin pH'sı 2–3 olarak kaydedilmiştir. Asit yağmurları ve sisin likenler üzerinde sadece doğrudan asit etkisi değil, aynı zamanda substrat şartlarının değişimine neden olan dolaylı etkileri de mevcuttur. Örneğin hem şehirlerde ve bakır madenleri çevresinde hem de bunların uzağında dahi ağaç kabuğu asitliğinin arttığı rapor edilmiştir [29].

Kirlilik kaynağına olan uzaklık, yükselti, rüzgar yönü, hava sıcaklığı ve nem kirliliğin tesir derecesinde etkili faktörlerin başında gelmektedir. Likenlerin fizyolojik aktivitesinin su miktarına bağlı olduğu ve kükürdün daha az toksik bir forma dönüşümünün buna bağlı düzenlendiği belirtilmektedir. Öyle ki, kirlilik olan yerdeki likenlerin, eğer nem fazla ise, kirleticileri daha az toksik forma dönüştürme süreci artacağı için olumsuz etkilenmeleri ve kurumaları yavaşlayacaktır [13].

Liken gelişiminde ve yayılışında etkili “habitat” özellikleri, “makrohabitat faktörler” (güneş ışığı, rüzgar, sıcaklık, nem, atmosferik havanın kimyası) ve “mikrohabitat faktörler” (substrat tipi- ağaç, kaya, insan yapımı materyal vb., toprak yapısı ve kimyası, orman örtüsü ve atmosferik gazların konsantrasyon değişimleri) şeklinde sıralanmıştır. Kirlitici içeriği ve seviyesinde dalgalanmalar olan atmosferlerde, likenlerin kirliliğe cevabında ve hatta yaşamını sürdürebilmesinde, mikroklim ve mikrohabitat koşullarının (gölge-ışık, nem durumu gibi) önemi belirgin olarak fark edilmektedir [30].

Yükselti likenlerin yayılışında etkili olan faktörlerden biridir. SO₂ havada yayıldığı ve yükseldiği için, yerden yükseklik arttıkça likenlerin kirlilikten daha fazla etkilendiği vurgulanmıştır [17]. Kirlilik kaynağı çevresindeki likenler üzerinde yapılan bir çalışmada, likenlerin kirlilikten etkilenme derecelerini etkileyen birinci faktörün kaynağına olan uzaklık olduğu, yüksekliğin ise liken sıklığını olumlu etkilediği gösterilmiştir [31]. Buna göre, kaynağın yakın çevresinde her yükseklikte takson sayısı düşük ve birbirine yakın değerlerde olup uzaklaştıkça takson sayısı artmakta ve bu artış yükselti fazlaştıkça daha da hızlı olmaktadır. Likenlerde biriken metal içeriğinin topografyaya bağlı olmasıyla ilgili çalışmalar göstermiştir ki, yüksek ormanlarda belirgin olarak biriken H⁺, NH₄⁺, Na⁺, K⁺, SO₄⁻², NO₃⁻ gibi kimyasallar ve buna bağlı asitlik seviyesi, yükseklerdeki sis ve bulutlara maruz kalan likenlerin metal bileşiminde diğer bir belirleyicidir. Likenlerde Sezyum (¹³⁷Cs) içeriği yükseklikle birlikte artış göstermektedir. Kurşun (Pb) ise en fazla orta yükseltilerde (200–400 m) yüksek oranda görülmüştür. Cıva (Hg) içeriği 400 m altındaki tundralarda yüksek orman içindekinin hemen hemen iki katı kadardır. Cıva seviyesinin deniz kenarından uzaklaştıkça düştüğü belirtilmiştir. Coğrafi yeri itibarıyla dünyadaki “en temiz” alan olarak Antarktika gözükmektedir. Burada doğal ve yapay radyoaktivite en düşük seviyededir [3]. Ayrıca, toprak üzerinde kalın liken-karayosunu örtüsü bulunmasının Sezyum radyonüklidlerinin (¹³⁷Cs) toprak içine doğru taşınmasını engellediği belirtilmiştir [32]. Likenler yavaş büyümeleri ve uzun yaşamaları sonucu atmosferden topladıkları yüksek konsantrasyonlardaki radyonüklidler ile nükleer silah denemeleri ve nükleer kazaların neden olduğu radyonüklid kirliliğinin biyolojik monitörleri olarak önerilebilirler.

2. LİKENLERDE METAL BİRİKİMİ

2.1. Liken Tallusunda Metal Alımının Bağlı Olduğu Faktörler

Likenlerin metal içeriğinin büyük bir kısmı atmosferik kaynaklıdır [3], ancak aynı zamanda substrattan da parçacık yakaladıkları birçok çalışmada belgelenmiştir [33]. Bu parçacıklar, liken yüzeyinde veya hücreler arası boşluklarda tutularak uzun süre değişmeden depo edilebilir.

Likenler böylece gereksinimlerini aşan miktarlarda ağır metal biriktirir ve ekstraselüler kristaller veya liken asitleri ile kompleks halinde onlara tolerans gösterirler. Tutulan ve depo edilen parçacıklar içindeki metallerin toksisitesi, metallerin miktarı, kimyasal formu, farklı su, pH ve sıcaklıktaki çözünübilirlikleri gibi kimyasal ve fiziksel faktörlere göre belirlenir. Havadaki metaller liken tallusuna çözünerek veya parçacık halinde yakalanarak alınır. Çözünen metaller hücre-dışı veya hücre-içi bölgelerde yerleşme eğilimindedirler. Liken tallusu içinde metallerin yerini belirlemek amacıyla kullanılan klasik ve modern histokimyasal yöntemler karşılaştırmalı olarak rapor edilmiştir [34].

Likende metal birikimi dinamik bir süreç olup araştırmalarda metal çözeltilerine batırıldığı zaman hızla -birkaç saat içinde- tallusa alındığı görülmüştür. Transplantasyon çalışmalarında likenler bir kaç ay içinde atmosferik ağır metal değişimlerine tepki göstermişlerdir. Birçok elementin liken tallusunda kalma süresi 2-5 yıldır [33].

Likenlerin içinde dikkate değer hücrelerarası boşluklar bulunmaktadır ki toz, toprak, metal içeren parçacıkların bu boşluklarda hapsedildiğine dair kanıtlar mevcuttur [5]. EDX (Energy-Dispersive X-ray) analizi yöntemiyle, kesitlerde ve yüzeyde SEM (Scanning electron Microscope - Taramalı Elektron Mikroskobu) ile görüntülenen parçacıkların içeriği hakkında bilgiler elde edilmiştir.

Likenlerin metal içeriği türüne ve onun morfolojik yapısal özelliklerine bağlıdır. Metal zengini yüzeylere ihtiyaç duyan likenlerin çoğu *Acarospora*, *Aspicilia*, *Lecanora*, *Lecidea*, *Porpidia*, *Rhizocarpon* veya *Tremolecia* cinslerine aittir [35]. Farklı türlerin aynı kısımlarında metal miktarı çeşitlilik gösterir. Yapraksız likenlerde (*Flavoparmelia baltimorensis* ve *Xanthoparmelia conspersa*) metal miktarı dalsız likenlerdekinden (*Cladonia subtenuis*) daha çok bulunmuştur. Diğer bir örnek *Hypogymnia enteromorpha*'da *Usnea*'dan, *Parmelia sulcata*'da ise *Anaptychia ciliaris*'den daha fazladır. Yine yapraksız *Xanthoparmelia conspersa* ve *Peltigera canina* ve kabuksu *Lecanora subfusca*'da gitgide azalan sıradadır. Likenlerdeki tallus yüzeyinin karakteri (müsilaj, siller, tüyler, delikler, izidler ve pürüzler gibi) parçacık tutulmasını etkilemektedir. Örneğin *Usnea* ve *Alectoria*'nın *Umbilicaria*'dan daha fazla parçacık tutma özelliği göze çarpmaktadır [3].

Al, Fe, Mg ve Mn gibi elementler yer kabuğunda boldur. Yıkılmamış liken tallusunda toz ve topraktan dolayı metal oranı yüksektir. M. Rossbach vd. tarafından uygulanan bir yöntemle şehir merkezindeki otel havalandırmalarına yerleştirilen cihazlarla toplanan yüksek oranda kontamine olmuş toz örnekleri, uzak alanlara taşınabilen iz kontaminantlardan etkilenen liken örnekleri ile karşılaştırılmıştır [36]. *Usnea* türlerinde ve tozda element konsantrasyonları Cr, Zn ve Fe için en yüksek, Ca, Rb ve Sr gibi elementler için en düşük oranda görülmüştür.

Likenlerden alınan kesitler, genel olarak merkezi bölgelerin kenarlara göre daha fazla metal içerdiğini göstermiştir. Yine çeşitli *Parmelia* türlerinde, iç kısımların dış kısımlara göre Fe, Pb, Zn, Mn, Cr ve Al ortalama içeriği daha yüksek bulunmuştur. Bunun yaş ile bağlantısı vardır: Şöyle ki, bu saksikol (kayacıl) yapraksız likenlerde, iç kısımlar daha yaşlı, kenarları ise genç bölgelerdir. Diğer taraftan yavaş büyüyen epilitik kabuksu liken *Protoparmeliopsis muralis*'te Pb, tallus merkezine göre kenar bölgelerde daha fazla birikmiştir [3].

Liken tallusunun metal içeriğine habitatın potansiyel katkısı dikkate alınması gereken diğer bir konudur. Likenlerin üzerinde geliştiği substrat, metalik kayalar ve metal içerikli topraklar, likenin metal içeriğinin belirlenmesinde göz önüne alınmalıdır. Aslında bir likenin metal içeriğinin büyük bir kısmı atmosferik kaynaklıdır. Liken, karayosunu ve kar örneklerinin Zn, Cu ve Cd konsantrasyonlarının, kar altındaki kriptogamlarda (liken, karayosunu gibi sporlu bitkiler) ve kar örneğinde aynı sırada olduğu, çiçekli bitkilerde ise Pb içeriğinin kar örneğinden 10 kat daha fazla olduğu tesbit edilmiştir [3]. EDX-mikroanalizi (Energy-Dispersive X-ray) ve X-ray haritalama yöntemlerini kullanarak yüzüylarca eski bakır madeni kalıntıları üzerinde gelişen *Lecidea lithophila* ve *Rhizocarpon oederi* apotesyumlarında elementlerin birikimlerini substrattaki miktarlarıyla karşılaştırmışlardır [35]. Buna göre; Al, Si ve K her iki türde de apotesyumda substrata göre çok düşük konsantrasyonlarda bulunurken C beklendiği gibi

substrattan daha fazla oranda, O, Na ve Mg ise aynı seviyede görülmüştür. *Lecidea lithophila*'da demirin (Fe) substrattakinden daha az, bakırın (Cu) ise yüksek miktarda olduğu, ayrıca vegetatif kısımların substrattan farklı olmadığı şeklinde sonuçta varılmıştır.

N.N. Kulikova vd. tarafından yapılan çalışmada, Baykal Gölü'nün kayalık kıyı bölgesinden, 2003–2007 döneminde, 1,5 m derinlikteki kayaları yoğun olarak kaplayan sucul *Verrucaria* türleri toplanmış ve kimyasal içerikleri incelenmiştir. Sudaki *Verrucaria* türlerinin kimyasal bileşiminde çoğu kez kayalarda bol olan aynı elementler (Ca> K> Fe> Al> Mg> P> S> Na> Mn> Sr> Ba) hakimdir. Dibe yakın su tabakası element yapısı ile karşılaştırıldığında, likenler suya en yavaş geçen elementlerce yoğundur; Gd> Sm> Pr> Nd> Al> La> Dy> Tb> Y> Lu> Ce> Yb> Be> Tm> Co> Nb> Mn> Zn. Kayacın bileşimi ile karşılaştırıldığında ise *Verrucaria* tallusları Hg> As> P> Zn> Li> S> U> Mo> Se> Cd> Ca> Tl> Sr> Pb> Be elementlerince zenginleşmiştir. Kaya yüzeyiyle ilişkili olarak, su likenlerinin en yoğun olarak sırasıyla As > P > Zn > Li > S > U > Mo > Se > Cd > Ca > Tl > Sr > Pb > Be biriktirdiği kaydedilmiştir [37].

Birçok likenolog atmosferdeki cıva (Hg) toksik metalini izlemek için harekete geçmiştir ki bu metal sadece sucul değil karasal ekosistemlerde de toplanmaktadır. Likenlerde Hg alımı ve parçacık formda toplanması volkanik ve jeotermal alanlarda ve maden bölgelerinde çalışılmıştır. Şehirleşmiş ve endüstriyel alanlarda da likenler havadaki Hg için etkili işaretleyicilerdir [3]. Termometre fabrikası çevresinde yapılan çalışma sonuçları, cıva karayosunu yüzeyi üzerinde bazı kimyasal bağlayıcı maddeler tarafından kuvvetli tutulan bir forma dönüştürülebilir olduğunu veya liken/yosun hücrelerine difüze olabileceğini göstermiştir [38]. Liken ve yosunların sulu çözeltilerden inorganik ve cıva -metilin artırılması için sorbent malzemesi olarak kullanılabilmesi de önerilmiştir.

2.1. Hücre-dışı Metal Alışverişi

Likenler yağmur sularından metal iyonlarını hücre-dışı olarak emme yoluyla alırken H⁺ iyonlarını veya zayıf bağlanmış metal iyonlarını bırakarak iyon değişimini gerçekleştirirler. Havadaki metal kirleticilerin biyomonitörleme uygulamasıyla ilgili olarak likenlerin bu özelliklerinden yararlanılmaktadır [3].

Ölü biyokütle, bakteriler, ipliksi mantarlar, algler ve daha yüksek bitkiler gibi çeşitli tipte organik materyaller karboksil, aldehit, hidroksil, sülfidril, fosforil veya amin gruplarına bağlı metaller içerirler. Likenlerde fotobiyotanttan ziyade mikobiyotant metal alımında aktif olup mantar hücre çeperlerindeki asetil-D-glokozaminin polimeri olan kitin maddesi bu durumdaki ana bağlayıcıdır [3]. Serbest yaşayan mantarlardan *Penicillium cyclopium* biyokütlesinde Cu ve Co metal iyonlarının Infrared Spektroskopisi (IR) ile biyosorbsiyonunu araştırılmış ve hidroksil grupları ağır metallerin bağlandığı ana grup olarak belirlenmiştir. Amid ve karboksiller ise en az bağlanan gruplar olmuştur. Cu ve Co metallerinin alımı, K⁺, Mg⁺⁺ ve Ca⁺² ile iyon-değişimi mekanizması sonucunda gerçekleşmektedir [39].

C. Branquinho ve D.H. Brown, uyguladıkları yöntemle, Pb elementinin tiolce zengin kimyasallarla muamele edildiğinde Cu gibi katyonlar ile yer değiştirerek, hücre-dışı alışveriş alanlarında dışarı bırakıldığını ve bunun membran bütünlüğündeki bozulma yüzünden belirgin hücre-içi K iyon kaybına yol açtığını göstermişlerdir [40].

Metal bağlamada pH etkisinin de olduğu görülmüştür. Örneğin bir çalışmada [41], kuru liken örnekleri farklı konsantrasyonlardaki metallerle karıştırılarak nitrik asit ve amonyum hidroksit ile pH 2–10 arasında ayarlanmıştır. Sulu asit çözeltilerinde metal iyonları hücre duvarlarına bağlanmak için H⁺ iyonları ile yarışa girmiştir. Metal bağlamanın en fazla pH 4 değerinde gerçekleştiği ve maksimum seviyeye ulaştığı belirtilmiştir.

Doğal *Hypogymnia physodes* örneklerinde sezyum (¹³⁷Cs) biyoakümülyasyonu ile kontrollü laboratuvar şartlarında zaman, sıcaklık, pH ve inhibitör (formaldehit) ilişkileri değerlendirilmiştir [42]. Bu çalışmada, sezyum alımının optimum 20°C ve 4,0-5,0 pH aralığında gerçekleştiği ve metabolik inhibitör varlığında daha düşük oranda gerçekleştiği kaydedilmiştir.

2.2. Hücre-içi Metal Alımı

Ramalina'da Cu için [43] ve *Peltigera*'da Cd için [44] yapılan deneyler, hücre-dışı metal alımının tersine, hücre-içi alımın çok daha yavaş ve az miktarda olduğunu göstermiştir.

Hücre-içi metal alımının ışıkta uyarıldığı ve metabolizmayla yakın ilişkili olduğu görülmüştür. Likenlerde karanlıkta hücre-içi Cd alımının çok hızlı şekilde azaldığı belirtilmiştir. Işıkla uyarılan Cd alımı alg hücrelerine aktif girişi ifade etmektedir fakat karanlıktaki alımda hangi simbiyontun rol aldığı ve enerji gerekip gerekmediği netleşmemiştir. Hücre-içi alım aynı zamanda türe bağlıdır. Canlı ve ısıyla öldürülmüş liken talluslarında metal alışverişi de türlere göre farklılık göstermektedir [3].

2.3. Mikobiyont ve Fotobiyontta Metallerin Yeri

TEM (Transmission Electron Microscope), SEM (Scanning Electron Microscope) ve EDX (Energy-Dispersive X-ray) ile yapılan çeşitli çalışmalarda, Cu ve Zn'nin türlere göre değişen, farklı kısımlardaki fotobiyont ve mikobiyont hücrelerinde buldukları tespit edilmiştir. Örneğin, *Peltigera* türlerindeki koyu renkli rizinler ve damarlar, metale zengin habitatlarda yüksek miktarda metal içermektedir. Rizinler, *Peltigera canina*'da, metal emilimi, biriktirme, yer değiştirme ve düzenleme görevi yaparlar. Bu likenin medulla ve rizinlerinin yüksek metal içeriği potasyumun (K) fazlaca kaybına neden olmaktadır. *Peltigera* türlerinin metal biriktirme kapasitesi, rizinlerinde (mikobiyont) Fe, Mn ve Pb için, fotobiyont kısımlarında ise Cu, Ni ve Zn için maksimum bulunmuştur [3].

X-ışını mikroanaliz uygulamaları Fe birikmesinin belli likenlerde (örneğin *Acarospora smaragdula*), üst korteksi kaplayan bir dış kabuk oluşturduğunu ve birikmenin üst korteksten alg tabakasına, medullaya ve alt kortekse doğru gitgide azaldığını göstermiştir. SEM ile EDX analizi birleştğinde elementlerin thallus içindeki yerleri hakkında görüntülü ve nicel bilgi sağlanmaktadır. *Hypogymnia physodes*'de bu yolla yapılan bir çalışma Fe ve Al'nin ilk aşamada medulla hiflerinden çok alg tabakasına ve alg hücreleri içeren soredlere bağlandığını ispatlamaktadır [45].

Doğrudan uranyumca zengin demir oksit, hidroksit ve sekonder uranil mineralleri üzerinde gelişen *Trapelia involuta*'da U, Fe ve Cu birikiminin apotesyum kenarları ve epitesyumda yoğunlaştığı ve TEM incelemesi sonucunda bu dağılımın mineral partikülleri veya organik kristallerle değil, melanin benzeri pigmentlerle ilişkili olduğu görülmüştür [46].

3. BİYOİZLEMEDE KULLANILAN YÖNTEMLER

Dünyada hızla artan nüfus, sanayi, endüstri, tarım ve teknolojinin gelişmesiyle birlikte kaçınılmaz bir biçimde çevresel kirlilik meydana gelmiştir. Atmosferik kirlenmenin fark edildiği yerleşim alanlarında, kirlenici tiplerine (SO₂, radyonüklidler, ağır metaller vb.) ve değişik seviyelerine bağlı olmak üzere, bölgesel olarak uygulanan çeşitli yöntemler geliştirilmek durumunda kalmış ve bazıları günümüzde daha yaygın kullanılan yöntemler olmuştur. Biyolojik yöntemler yoluyla ölçülebilir, uzun vadeli, ucuz ve güvenilir sonuçlar alınabileceği fikrinin ortaya çıkmasından itibaren çevre kalitesinin belirlenmesinde ve izlenmesinde yapılan çalışmalar giderek çoğalmıştır. Büyük şehirlerde ve endüstriyel bölgelerde sınırlı olan hava kirliliği ölçüm istasyonları günlük partikül madde ve SO₂ konsantrasyonunu kaydetmektedir. Fakat orta derecede kirlilik olan yerlerde genellikle bulunmamaktadır. Hava kirliliğinin değerlendirilmesinde kirlenici bitki ve hayvan türlerinin seviyesini belirleme yaklaşımı alternatif olarak kullanılabilir hale gelmiştir. Epifitik vejetasyona dayalı tahminlerde, çok yavaş büyüyen ve bir o kadar da uzun yaşayan likenlerin, çevreleriyle az çok denge kurabilen komüniteler olarak, hava kirliliği seviyesinin kalitatif (nitel) ölçümünde, belli bir zaman diliminde yapılan kantitatif (nicel) kimyasal ölçümlerden çok daha iyi indikatör olabilecekleri

görülmüştür. Kalitatif yöntemler likenlerin bölgedeki tür sayısı, yayılış haritaları ile hava kirliliği (özellikle SO₂) hakkında bilgi verirken, aynı zamanda, türlerin varlığı ve sıklığının derecesinin rakamsal ifade edilmesiyle kantitatif yöntemlere dönüştürülebilir. Kantitatif yöntemler ise genellikle liken talluslarında biriken kirleticilerin (metaller ve radyoaktif maddeler) seviyesinin tespit edilmesi için element analiz cihazlarıyla ölçülmesi ve istatistiksel analizler şeklinde uygulanmaktadır.

Atmosferik kirleticiler likenler üzerinde akut morfolojik ve genellikle fizyolojik zararlar meydana getirir. Kronik zararlar ise uzun dönemde veya tekrarlanan kirliliğe maruz kalmalardan sonra gelişir ki bunlar dokulardaki hasarlardan daha çok türlerin büyümesinde yavaşlama, strese bağlı bozukluklar şeklindedir. Komünite seviyesinde duyarlı türlerin popülasyonda ortadan kaybolmasıyla sonuçlanır.

Likenle biyoizleme yöntemleri, uygulamanın amaç ve içeriğine göre farklı biçimlerde sınıflandırılabilir. L.S. Huckaby'e göre [30] kantitatif olarak havadaki kirleticilere likenin cevabının belirlenmesi ve duyarlılığının değerlendirilmesi için iki analiz yöntemine başvurulabilir: Gradient analiz çalışması ve dumanlama çalışması. Gradient analiz çalışması ile, kirliliğe maruz kalmış likenlerde kirlilik gradientine bağlı olarak görülen zararlar, tür zenginliğinde ölçülebilir çevresel etkiler ve miktarları analiz edilir. Genellikle bir kirlilik kaynağı çevresinde çalışılır. Türler en iyi kendi çevre koşullarında incelenebilir çünkü sadece hava kirliliği değil iklim ve substratla ilgili (yangın, otlayan hayvanlar gibi) özellikler de likenleri etkilemektedir. Dumanlama çalışması ile, laboratuvarında kontrollü şartlar altındaki kapalı bir sistemde kirleticilere maruz bırakılan likenlerin genellikle fizyo-kimyasal olaylarındaki ölçülebilir cevapları incelenir.

Bugüne kadar likenlerin kullanıldığı hava kalitesi izleme çalışmalarının kapsamındaki çeşitli yöntemler, esas olarak şu başlıklar altında sınıflandırılabilir:

A. Pasif biyoizleme

1. Tüm liken florasını esas alan yöntem (Genel liken çalışması ve Haritalama yöntemi)
2. Biyoindikatör türleri esas alan yöntem ve IAP yöntemi (Atmosferik Sıfık İndeksi)
3. Kantitatif laboratuvar analizleri (Çoklu-element ve Radyonüklid analizleri)

B. Aktif biyoizleme

1. Transplantasyon
2. Kontrollü dumanlama (fumigasyon)
3. Kültürleme

Hava kalitesini belirlerken, "aktif yöntemler" kontrollü şartlar altında kirleticilerin doğrudan liken üzerindeki etkilerini izleyerek, "pasif yöntemler" ise liken içinde biriken miktarlarını belirleyerek veya kirleticilerin etkisiyle değişen doğal liken florasını izleyerek sonuca varır [47].

3.1. Pasif Biyoizleme Yöntemleri

Pasif yöntemlerden ilk ikisi genel liken florasını oluşturan veya biyoindikatör olarak seçilen türlerin dağılımına dayalı kalitatif (dolaylı olarak kalitatif ifade edilebilen) bir değerlendirmedir. Diğerleri ise doğrudan seviyesi ölçülmek istenen hava kirleticilerinin liken içindeki miktarlarını ve etkilerini tespit edebilen kantitatif analizlere dayandırılabilir. Esas olarak bir bölgedeki kirliliğin değerlendirilmesi için ilk iki yöntem tek başına uygulanabileceği gibi bir basamak olarak kullanıp devamında ya da aynı zamanda kantitatif yöntemlerle birlikte uygulanabilir. Ancak daha spesifik alan ve kirletici tiplerinin seviyeleri hakkında sonuç almak için mutlaka içerik analizlerine başvuru pasif biyoizleme yönteminin kullanılması gerekmektedir. Çoklu-element analizleri bunun başında gelmektedir [30].

Örneğin, bir bölgede seçilen liken türlerinin sıklığının istatistiksel değerlendirmesinde, regresyon analizine dayalı olarak uygulanan Atmosferik Sıfık İndeksi (IAP) yöntemi ile "Kalibre Liken Biyoindikasyon Yöntemi" birlikte kullanıldığı zaman, entegre hava kirliliği

probleminin belirtileri erken fark edilebilmektedir (hava kirliliği erken uyarı sistemi) [48]. Bu iki yöntemin karşılaştırmalı uygulandığı İsviçre'deki çalışmada, çeşitli emisyon bileşenleri (SO₂, NO_x, O₃, ağır metaller, pestisitler ve diğer organik bileşikler) için en iyi biyoindikatör tür olarak çok yaygın yapraklı liken *Hypogymnia physodes* gösterilmiştir. Toplam emisyon bakımından 5 bölgeye (kritik, yüksek, orta, düşük, çok düşük hava kirliliği) paralel olarak 5 grup liken alanına ayrılmış (liken çölü, iç çabalama bölgesi, dış çabalama bölgesi, geçiş bölgesi ve normal) ve Pb, Fe, Cu, Cr, Zn, toplam S ve P elementleri kirlilik seviyesinin düşmesiyle birlikte azalarak IAP ile negatif ilişki sergilemiştir. Toplam hava kirliliğinin azalmasıyla liken içeriğinde artan tek element kalsiyum (Ca) olmuş ve artan IAP değerleri ile pozitif ilişki göstermiştir.

3.1.1. Tüm liken florasını esas alan yöntem (Genel liken çalışması ve Haritalama yöntemi)

Genel liken çalışmasında tekrarlanan çalışmalarla aynı bölgedeki tür dağılımındaki değişim izlenir. Diğerlerine göre daha kolay bir izleme yöntemi olup geniş alanlarda hava kalitesinin zamanla değişimini gösterir. Kareleme yapılarak tür dağılımı haritaları çıkarılır. Klasik tür haritaları yöntemine benzemektedir. Genellikle kortikol (kabukçul-ağaç kabuklarında yaşayan) likenler, eğer yoksa saksikol (kayacıl-kaya üzerinde yaşayan) ve terrikol (toprakçıl-toprak üzerinde yaşayan) türlerle çalışılır. Tüm floraya dayalı olduğu için uzman bir likenolog gerektirir. Bu yöntem, daha çok geniş bir bölgede hava kalitesinin izlenmesi amacı için, bir kirlilik kaynağı çevresi için, karmaşık yapıları alanlar ve ekolojik açıdan değişken yerler için uygundur. "Haritalama yöntemi" veya "yayılış haritası", birçok araştırmacıya göre, orta ve yüksek derece hava kirliliği olan alanlar için en iyi biyoizleme yöntemidir [13, 15, 30, 49] ve günümüzde de geçerliliğini sürdürmektedir.

İngiltere, Münih ve Paris'te birbirinden bağımsız olarak yapılan gözlemler sonucu 1800'lü yıllarda şehirleşmiş bölgelerde likenlerin ortadan kaybolduğu kaydedilmiştir. Ev ve işyerlerinde ısınmak için kömür yakılması şehirler üzerinde duman bulutları oluşturmuş ve bu hava kirliliği likenlerin kaybolmasına sebep olmuştur. 1900'lü yıllarda Avrupa'da şehir etkisi konusu fark edildikten sonra R. Sernander'in Stockholm'deki klasik çalışmaları takip edilmiştir [50]. Buna göre hemen hemen hiç liken bulunmayan şehir merkezi "liken çölü" olarak adlandırılmıştır. "Çabalama zonu" bazı türlerin çok az bazılarının iyi yaşadığı bölgelerdir. "Normal zon" ise türlerin kirlilikten etkilenmeden yaşadığı bölgelerdir. Bu tür zonasyon çalışmaları şehirlerin çevresinde yaygınlaşmaya başlamıştır. Haritalama çalışmaları ve kantitatif tekniklerle türlerin tespit edilmesi ve hava kirliliği ile ilgili komünitelerin belirlenmesi hızlı bir gelişme sürecine girmiştir. 1930'larda renksiz gaz "kükürt dioksit" (SO₂) artık fitotoksik bir ajan olarak iyice fark edilmiştir. 1970'lerin ortalarında deneysel çalışmalarla birçok likenin SO₂'ye duyarlılığı ilan edilmiştir. *Lobaria pulmonaria* gibi türler birçok alanda kaybolmuştur. *Lecanora conizaeoides* gibi kirliliğe tolere edebilen türlerin ise geniş bir yayılışa sahip olduğu görülmüştür [29]. D.L. Hawksworth ve F. Rose tarafından geliştirilen tür sayısı ve miktarını esas alan genel zonlar oluşturma yaklaşımının, fazla bilgi gerektirmeyen, tür zenginliğini dikkate alarak çabuk uygulanabilen bir yöntem olduğu savunulmuştur [15]. Epifitik liken türlerinden oluşan zon cetvelleri bölgede hangi derecede SO₂ kirliliğinde hangi türlerin yayılış gösterdiğini belirtmektedir (Çizelge 1). Ancak bu yöntemle ölçek oluşturulurken, başka kirlilici kaynaklarına yakın yerlerde uygulanmaması, incelenen ağaç sayısının mümkün olduğunca fazla tutulması gibi parametrelere dikkat edilmelidir.

Bir lokalitede epifitiklerin zengin oluşu oradaki havanın temiz olduğuna işaret etmektedir fakat bunun tersi geçerli olmayabilecektir [16]. O.L. Gilbert haritalama için tek tek türler yerine gruplamalar kullanmanın daha doğru bir resim ortaya çıkaracağını düşünmüştür [13]. Liken türlerinin bölgede dağılımı gruplar (kirlilik zonlarına göre) değişik renkler ile gösterilerek haritalanabilmektedir. V. Wirth ise likenlerin hava kirliliğine duyarlılığının ölçümünde uygulanan yöntemlerin, sadece floristik olarak türlerde değişimlerin izlenmesi yoluyla değil, aynı zamanda liken komünitelerinin de gözlemleneceği fitososyolojik bir yaklaşımla ele alınmasını önermektedir [51].

3.1.2. Biyoindikatör türleri esas alan yöntem ve IAP (Atmosferik Safalık İndeksi)

İndikatör türlerle çalışma, hava kirliliğine duyarlılığı bilinen bir veya birkaç liken türünün gelişimi ve diğer parametrelerinin kantitatif yöntemle incelenmesidir.

Bu yöntemin avantajları; türü tayin edilen birkaç indikatör likenin (özellikle dalsı ve yapraksılar) belirlenmesi ve arazide sadece bu türlerin zamana bağlı gelişiminin takip edilmesidir. Ayrıca bu türler hava kirliliği probleminde en etkili sonucu verecektir. İleri teknoloji ve komplike analizler gerektirmeyen, pahalı olmayan, az personelle ve kısa zamanda yapılabilen ve genelden daha güvenilir sonuçlar veren bir yöntemdir. Diğer taraftan o bölgede hangi türlerin duyarlı indikatör türler olabileceğinin iyi belirlenmesi gerekir. Bu amaçla kirliliğe duyarlı türlerin doğru seçilmesi için gradient analiz çalışmaları ve dumanlama uygulamaları yapılmaktadır. Liken komünitelerinde zamana göre kirliliğe bağlı değişimi kesin ve hassas olarak tespit etmek amacıyla, ölçümlere dayalı bir yöntem de uygulanabilir. Böylece kantitatif analizlerle türlerin modifikasyona cevabı izlenebilir. Kantitatif analiz çalışmalarında türlere sıklık derecelerine göre değerler verilerek tablo oluşturulur. Bu değerler daha sonra % oranlara çevrilebilir. Ancak yorucu olması, yıl içinde sürekli ve mevsimsel veriler için uzman çalışanlara ihtiyaç duyulması ve sonuçların diğer birçok faktörden etkilenmesi olasılığı bu yöntemin bazı dezavantajlarıdır [30].

LeBlanc ve De Sloover tarafından kurulan Atmosferik Safalık İndeksi (IAP=Index of Atmospheric Purity), örnek alandaki liken oluşumuna ve sıklığına dayalı olup ekolojik esaslı bir indekstir [16]. IAP çalışmalarının güvenilirliği, arazide kaydedilen kirliliğe duyarlı türlerin oranı ile artar. Duyarlı türlerin oranı ne kadar düşükse, alanda o kadar daha fazla ağaç incelenmelidir. Fakat bir arazide toplam tür sayısı düşük ise, daha fazla sayıda ağaç incelenerek telafi edilemez. Tüm alanların IAP değerleri çalışma alanının bir taslak haritası üzerine çizilerek gösterilir [49]. Değerler genellikle IAP aralığına göre gruplandırılır. Tamamlanmış IAP haritası, varsa o bölgenin emisyon noktaları ve hava kalitesi verileri ile karşılaştırılabilir. IAP bölgeleri başta tür zenginliğini yansıtır ve eğer çalışma alanının içinde aynı ağaç türleri incelenmişse oldukça faydalıdır [3]. Türlerin lokalitelere göre yayılışları ve sıklık derecesi hakkında rakamsal değerler elde edilebilir. Bu tür çalışmalarda oluşturulan kirliliğe bağlı liken dağılımını gösteren haritalar ve Atmosferik Safalık İndeksi (IAP) haritaları kullanılır [48].

Kirlilik seviyelerine göre ayrılan her bir zondaki liken türleri biyoindikatör role sahiptir ve doğal olarak bölgeden bölgeye farklılıklar gösterebilir. Bununla birlikte bazı genellemeler yapmak da mümkündür. Şöyle ki, daha duyarlı olmalarından dolayı, özellikle ve çoğunlukla epifitik likenler indikatör olarak kullanılır. “Epifit çözü” diye nitelendirilen endüstriyel bir alanda saksikol türlerin de indikatör olarak göz önüne alınıp alınamayacağı sorgulanmıştır [52]. Buna göre, saksikol gelişen türlerin kortikol türlerden daha az duyarlı olduğu, her iki ortamda da gelişen *Lecanora dispersa* ve *Xanthoria parietina* türlerinin yayılış haritalarıyla tespit edilmiştir. Saksikol ve varsa epifitik türlerin birlikte yer aldığı bir sıralama ile zonlar oluşturulmuştur. Sonuçta kortikol ve saksikol likenlerin dağılım haritalarının çok benzerlik gösterdiği ve böylece bölgedeki kirlilik kaynaklarını ortaya çıkardığı belirtilmiştir. Diğer bir çalışmada [17] *Flavoparmelia caperata* ve *Punctelia rudecta* türleri biyoindikatör olarak kullanılmış ve yayılış haritaları gösterilmiştir. Farklı çalışmalarda indikatör liken türleri de farklılıklar göstermektedir.

Başka bir çalışmada, atmosferik dioksin ve furan (PCDD / Fs) toksik organik bileşiklerine karşı biyomonitör performansı bakımından karşılaştırılan iki liken türü -*Xanthoria parietina* ve *Ramalina canariensis*- önemli ölçüde farklı sonuçlar vermiştir. Daha fazla klorlu PCDD / Fs ve metaller *X. parietina* tarafından *R. canariensis*'e göre daha iyi yakalanmış ve biriktirilmiştir [53].

IAP liken indeksi (türün örnek alandaki sıklığı) ile kükürt dioksit (SO₂) kirlenmesi ilişkisine dayanarak İtalya'da yapılan bir çalışmada, *Flavoparmelia caperata* liken türü en iyi indikatör, buna karşın *Leprocaulon microscopicum*, *Lepraria incana* ve *Haematomma ochroleucum* türleri ise (muhtemelen su geçirmeyen kabuksu yapılarından dolayı) hava kirliliğine en toleranslılar olarak rapor edilmiştir [54].

Nispeten daha geniş yüzeye sahip olan *Usnea*, *Ramalina* gibi dalsılara ve *Parmelia*, *Lobaria*

gibi yapraksılara ait bazı liken türleri en duyarlı türler arasında önde gelmektedir. Özellikle liken florası tamamlanmış veya tama yakın tür listeleri ve yayılışları belirlenmiş olan bazı ülkelerde indikatör türlerin duyarlılık-sıralamalı cetvelleri oluşturulabilmektedir.

3.1.3. Kantitatif laboratuvar analizleri (Çoklu-element ve radyonüklid analizleri)

Bir bölgede yayılış gösteren likenlerden biyomonitör olarak seçilen türlerde yapılan analizler belirli bir zaman aralığında meydana gelen atmosferik element birikimini ölçmek ve izlemek için kullanılır. Liken örneklerinde biriken konsantrasyonların havadaki kirletici oranlarını gösterdiği kabul edilir. Örnekler, analiz öncesinde yıkanıp üzerindeki tozdan ve diğer maddelerden arındırıldığı temizlik aşamasından sonra kontaminasyondan korunarak “öğütme” ve asitte “çözündürme” işlemlerinden geçirilir. Böylece analitik ölçüm yapılacak Atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAS) veya kütle spektrometresi (MS) gibi cihazlar için hazır hale getirilir. Bu tür likenle hava kalitesi izleme araştırmalarında, uluslararası referans materyali olarak International Atomic Energy Agency (IAEA) tarafından geliştirilen IAEA-336 likeni (*Evernia prunastri*) sıklıkla kullanılmaktadır [55]. Çevre kirliliği çalışmaları için kullanılan çoklu-element referans materyalinin nasıl hazırlanması gerektiği M.C. Freitas vd. tarafından açıklanmıştır [56].

Türler bölgeden bölgeye değişen yayılışlarına bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte, genellikle epifitik, yapraksı ve dalsı geniş yüzeyleri olan *Cladonia rangiformis*, *Hypogymnia physodes*, *Flavoparmelia caperata*, *Physcia adscendens*, *Ramalina ecklonii* ve şehirlerde yayılış göstermesi nedeniyle *Xanthoria parietina* gibi likenler biyomonitörleme çalışmalarında [57-62] sık tercih edilen türler arasındadır (Şekil 1). Çoklu-element analizleri ile ölçülen element seviyelerinin çalışılan bölgedeki mekansal dağılımları, coğrafi bilgi sistemi kullanan ArcGIS, Grass GIS, Surfer gibi bilgisayar yazılımları ile hazırlanan haritalar üzerinde gösterilebilmekte ve bu haritalar son yıllardaki çalışmalarda sıklıkla yer almaktadır [59, 63-65].



Şekil 1. Orta derece veya daha fazla hava kirliliğinde yaşayabilen kozmopolit yayılışlı liken türü, *Xanthoria parietina* (Fotoğraf G. ÇOBANOĞLU)

Radyonüklidlerle ilgili çalışmalar genellikle sezyum ve uranyum konsantrasyonlarının Gama Işını Spektrometresiyle (GRS) ölçülmesi yoluyla yapılmaktadır. Çernobil nükleer kazasının ardından etkilerini değerlendirmek amacıyla birçok çalışma yapılmıştır [66-72]. Bu çalışmalardan likenlerin radyoaktif kirlenmenin kalıcı etkilerini gösteren önemli biyoindikatör rolleri olabileceği sonucu çıkmıştır. Türkiye’de ilk yapılan radyoaktif izleme çalışmasında [73], kazadan önce ve sonra çeşitli liken örneklerinde yapılan ölçümler (Sezyum radyonüklidleri, ¹³⁴Cs ve

¹³⁷Cs), özellikle Doğu Karadeniz Bölgesinde daha yüksek seviyede olmak üzere tüm örneklerde radyoaktif kirlenmenin büyük miktarlarda olduğunu göstermiştir. Salzburg’da yapılan güncel bir çalışmada, *Cladonia fimbriata*, *Cladonia squamosa*, *Pseudevernia furfuracea*, *Hypogymnia physodes* likenlerinde ve bazı karayosunu türlerinde Gama Spektrometresi ile sezyum (¹³⁷Cs) radyonüklidi ölçülmüş ve kazadan 20 yıl sonra bile oranların oldukça yüksek çıktığı belirtilmiştir [74]. Balkan ülkelerinde çevresel uranyum seviyesinin tespiti amacıyla yapılan bir çalışmada ise *Pseudevernia furfuracea*, *Evernia prunastri*, *Ramalina fastigiata* ve *Cetraria islandica* liken örneklerinde ölçümler yapılmıştır, bunlardan Yunanistan’dan toplanan *Evernia* örneklerinde çok yüksek konsantrasyon göstermiştir, ancak Balkanlarda yaygın bir kontaminasyonun söz konusu olmadığı sonucuna varılmıştır [75].

3.2. Aktif Biyoizleme Yöntemleri

Aktif biyoizleme; doğal ortamından alınan likenlerin kirliliğinden şüphe edilen bölgeye taşınan likenlerle (likenin verdiği cevap ile) hava kalitesinin izlenmesidir [30]. Bazı durumlarda aktif izleme doğada uygulanabilir ya da kirlilik kaynağı kontrollü dumanlama uygulanarak oluşturulabilir [47]. Mutlaka dikkatli bir şekilde planlanmalı ve tekrarlanmalıdır.

3.2.1. Transplantasyon

Transplantasyon doğadaki yerinden likeni alıp hava kirliliği izlenecek bölgede gerekli yere taşımaktır. Hava kirliliğinden çoktan etkilenmeye başlamış bir bölgede çalışılır. Transplant örneklerinin kirliliğe maruz bölgede belirlenen yerlere naylon file çanta içinde asılarak (yerden yaklaşık 4 m yukarı) uygulanılan şekli “çanta tekniği” adıyla anılmaktadır.

Rusya’da bir bakır madeni etrafında *Hypogymnia physodes* ile transplantasyon metodolojisi ve kaynağa olan uzaklık etkisi incelenmiştir [76]. Partikül kaynakları; maden eritme ocağı ve dönüştürücü, flotasyon atıkları, metalurjik çürüfler, lokal yol tozları, toprak üstü ve çevredeki havada asılı partiküller olarak belirlenmiş ve hangisinin daha etkin olduğu araştırılmıştır. Buna göre, maden eritme ocağının (Cu ve Fe en yüksek) transplatlarda en etkin kaynak (<10 km) olduğu sonucuna varılmıştır. Daha küçük garantülü olduğundan atmosferde daha uzun kalan ve Pb ve Zn bakımından daha yüksek olan partikül maddeler ise dönüştürücüden toz olarak çok daha geniş bir çevreye yayılmıştır. Madenin 30 km kadar uzaklığa etki alanı olduğu tespit edilmiştir.

Liken *Usnea barbata*’nın transplant olarak kullanıldığı başka bir çalışmada, 1 ay ve 1 yılın sonunda analiz edilen örneklerde, doğal örneklere göre, 26 element arasında Al, Ca, Co, Cr, Ni, V, W daha düşük konsantrasyonlarda, K, Mg ve Na düzeyleri ise daha fazla bulunmuştur. Bu likenin seçilen alanda arka plandaki atmosferik element seviyesini yansıtabilme yeteneğini ortaya koymuştur [77].

3.2.2. Kontrollü dumanlama

Dumanlama (fumigasyon) çalışması, kontrollü şartlar altındaki kapalı bir sistemde (içinde hava sirkülasyonu olan) kirleticilere maruz bırakılan likenlerin ölçülebilir cevabını gösterir. Örneğin, sürekli karıştırılan tank reaktörler, üstü açık kabin, bölmeli kabinler, minyatür küvet kabinler gibi kapalı ve kontrollü sistemler kullanılır.

Ölçülen en yaygın cevaplar fizyolojik olaylardan seçilir. Örneğin, kirliliğe duyarlılık sırasıyla; nitrogenaz aktivitesi, K+ çıkışı/toplam, elektrolit akışı, fotosentez, solunum ve pigment durumu v.b. [30].

3.2.3. Kültürleme

Bu yöntem, kültürü yapılan türlerin daha hızlı çoğaltılarak kontrollü şartlarda kirlilik etkilerinin gözlenmesi amacı için tasarlanmıştır. Ancak, likenlerden izole edilen mikobiyont ve fotobiyontların, laboratuvar ortamındaki kültür çalışmalarında istenen başarı elde edilemediğinden (belirli bir aşamadan fazla büyüme ve gelişme göstermedikleri için) kirliliğin izlenmesinde henüz aktif olarak uygulanamamaktadır.

Kültür basamakları önce alg ve mantar ortağının ayrı ayrı kültürleri, daha sonra bunların buluşturulması ile yeni liken biriminin sentezi ve gelişimi şeklindedir [78]. Mikobiyont üreme yapısından, sporundan veya tallus parçasından türetilmektedir [79]. Liken tallusunun ve izole edilen simbiyontların (algler ve mantarlar) *in vitro* kültür yöntemleri, özellikle likenlerden ilaç etken madde eldesi için v.b. günümüz bilimsel gereklerine göre geliştirilerek daha iyi seviyede performans sağlanabilmesi mümkündür.

3.3. Türkiye’de yapılan çalışmalar

Türk araştırmacıların ilk olarak 1971’de [80] başlayıp 90’lı yıllarda yavaş yavaş artan ve 2000’li yıllarda oldukça hızlanan taksonomik-floristik çalışmaları ile Türkiye’nin farklı bölgelerinin likenleri belirlenmeye başlamıştır. Bununla birlikte 90’lı yıllarda, bazı bölgelerdeki hava kirliliği (SO₂) seviyesi ile liken tür dağılımı arasındaki ilişkinin değerlendirildiği ilk çalışmalar ve tezler de ortaya çıkmaya başlamıştır [81-84]. Daha sonra likenlerde atmosfer kaynaklı element birikimi ile ilgili biyoizleme çalışmaları günümüze kadar gitgide artmıştır [58-60, 62, 64, 85-89]. Farklı bölgelerde hava kalitesini değerlendirmek amacıyla yapılan pek çok çalışma vardır. Bunlardan bazıları şöyle sıralanabilir: Yenisoy-Karakaş doktora tezinde Batı Anadolu bölgesinde [85], Uğur vd. Yatağan çevresinde [86], Çiçek ve Koparal Eskisehir bölgesinde [87], Aslan vd. Erzurum’da [88], Mendil ve Tüzen [89] ile Demirbaş [90] Trabzon çevresinde, Aslan vd. Giresun ve Ordu illerinde [91], Çayır vd. Çanakkale ve Balıkesir illerinde [92], Yıldız vd. Ankara’da [93], Duman-Cansaran Karabük’de [94], Kınalıoğlu vd. Samsun [95] şehrinde çeşitli hava kirlleticilerinin likenlerdeki birikimleri üzerindedir.

Türkiye’de, radyoaktif kirleticileri izleme çalışmaları da yapılmıştır ve bunlardan ilki Topçuoğlu vd.’nin Çernobil kazasının etkilerini belirlemek amacıyla liken örneklerinde radyosezyum düzeyini ölçtükleri çalışmadır [73]. Daha sonra Yazıcı vd., Doğu Karadeniz bölgesinde Trabzon ve Rize illerinden kazasından 20 yıl sonra toplanan liken örneklerinde, radyoaktif kontaminasyon seviyesini tekrar ölçerek önceki çalışmalarla karşılaştırmışlardır [96].

Liken yapısının biyolojik etkileri üzerine yapılan bazı çalışmalar da vardır. Örneğin kuru likenlerin sulu çözeltilislerinde ağır metal bağlama özelliği [41], liken-karayosunu türlerinin element birikimlerinin karşılaştırıldığı çalışmalar [58] bunlar arasında sayılabilir.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Hava kirliliğine (SO₂) karşı özellikle belirli liken türlerinin farklı derecelerde duyarlı olduğunun anlaşılmasından sonra, doğrudan canlı hücreler ile hava kirliliğinin biyolojik olarak ölçülmesi konusunda çalışmalar ve uygulama alanları giderek artmıştır. Geliştirilen çeşitli yöntemler ile biyolojik yoldan (likenler gibi hava kirliliği biyoindikatörleri kullanılarak) ölçüm yapılması sağlanmıştır. Bu biyolojik yöntemlerin uygulanmasında tam bir standart olmamasına rağmen doğru seçim yapıldığında, genellikle büyük şehirler ve endüstriyel bölgeler ile sınırlı olan hava kirliliği ölçüm istasyonlarına alternatif olarak kullanılabilceği görülmüştür. Sadece kükürt dioksit değil, çeşitli kirleticilerinin atmosferdeki konsantrasyonları (iz elementler, ağır metaller, radyonüklidler ve organiklere kadar), biyomonitör likenler üzerinde yapılan analizler ile belirlenebilmekte ve böylece biyolojik yoldan hava kalitesinin periyodik takibi yapılabilmektedir.

Burada konu edilen hava kalitesinin likenlerle izlenmesi üzerine yapılan çalışmalardan

çıkarılabilecek önemli bazı sonuçlar şöyle sıralanabilir:

1. Likenin atmosferden elementleri tutma oranında biyolojik yapısal özellikleri önemli derecede etkilidir.

2. Çalışılan bölgeye en uygun biyoizleme yöntem(ler)inin seçilerek uygulanması doğru sonuçlara ulaşmada oldukça önemlidir.

3. Bir bölgedeki analiz için seçilen likenlerin atmosferik kirletici konsantrasyonlarını birebir yansıtması beklenirken, aslında, türün etkilendiği çeşitli mikrohabitat, substrat veya iklimsel faktörlere bağlı olan etkiler ve anlık antropolojik etmenler göz ardı edilmiş olur. Bu bakımdan çok sayıda örnekten elde edilen element ortalama oranları daha güvenilir sonuçlar verebilir. Bu çalışmaların sonuç değerlendirilmesinde likenlerin duyarlılığını etkileyen faktörler de bir bütün olarak ele alınmalıdır.

4. Kantitatif analiz örneklerinin toplandığı alanlardaki değişkenlerin sabit tutulmasında zorluk çekilebileceği için kalitatif gözlemler de gereklidir. Örneğin bir alandaki liken tür çeşitliliğinin tanımlanması ve liken florasındaki değişiklerin uzun yıllar boyu takip edilmesi, kirlilik seviyesini belirlemede destekleyici veriler sağlayacaktır.

5. Biyoyararlanım, birikim, toksisite ve ağır metal detoksifikasyonu için likenlerdeki düzenleyici mekanizmaların dikkatli şekilde çalışması gereklidir.

Genotoksisite testlerinin kullanımı, hava kirleticilerinin izlenmesinde biyomonitör olarak likenlerin daha etkin kullanılmasını geliştirebilir. Tür içi genetik çeşitlilik analizleri, türlerin farklı çevresel ve deneysel koşullara verecekleri yanıtları açıklığa kavuşturacak ve aynı zamanda tek bir türde tallus metal içeriği değişkenliğinin daha iyi anlaşılmasına da katkıda bulunacaktır [33].

Solunum, fotosentez ve nitrojen fiksasyonu gibi fizyo-biyolojik olaylar, metal merkezinde çeşitli oksidatif metaloproteinler veya metaloenzimlere bağlı gerçekleşir. Örneğin, sitokromlar ve hemoglobinde demir, aminoksidaz ve süperoksit dismutazda bakır, fotosistem II de mangan, nitrogenazda molibden, vitamin B12 koenziminde kobalt, bakteri dehidrogenazlarında nikel gibi. Oksidasyon durumu ayrıca elementlerin toksisitesini yönetmektedir. Diğer taraftan, metallerin vücuttan idrar, safra pankreatik ve ince bağırsak boşaltımı yollarıyla, ter, tükürük ve gözyaşı salgılarıyla atıldığı bilinmektedir. Çoğu metal için en iyi tanımlanan idrar yoludur, diğerleri hakkında ise kesin bilgiler azdır. Metallerin birçoğu için kandaki (tüm kan, plazma, serum) ve üredeki konsantrasyonlar maruz kalınanı yansıtır. Vücuttaki yeri veya yarılanma sürelerine bağlı olarak atılması bu parametrelerle belirlenebilir ki örneğin Pb, Cd gibi bazı ağır metaller bazı dokularda yıllarca kalabilmektedir [97].

Vejetasyonda hava kirliliğinden zarar gören bir canlı grubunun tür sayısındaki azalma mutlaka başka canlı gruplarını da etkileyecektir. Besin zincirindeki halkalardan birinin kirlilikten zarar görmesi ona bağlı diğerlerini etkileyerek (örneğin ondan beslenen veya yuva olarak yararlanan hayvanları, sonra da bununla beslenen diğer hayvanları) sonunda insanlara kadar ulaşacaktır. Böylece kirlilik, hem doğrudan insana hem de doğal dengenin bozulmasıyla dolaylı olarak yine insana zarar verecektir. Bu bakımdan, kirliliğin vejetasyona olan etkilerinin seviyesini kalitatif ve kantitatif olarak belirleme yaklaşımıyla geliştirilen yöntemler, kirliliğe karşı erken uyarı sistemi olarak kullanılabilir.

Batı Avrupa'da küresel ısınmaya cevap olarak epifitik likenlerde artış gözlenirken buna karşılık terrikollerde ise azalma kaydedilmiştir. Kirliliğin etkisindeki bölgelerde ormanlara oranla daha hızlı bir değişimle, *Trentepohlia* alg bileşenli ve güney yayıllı liken türlerinde bolca artış rapor edilmiştir [98]. İsviçre'de sıcaklık artışlarının belirginleştiği, SO₂'in azalmasına karşılık NH₃'ün arttığı yıllarda (1989-1995) yapılan çalışmada [99], liken florasında 22 yılda meydana gelen değişimler incelenmiş ve sub-tropikal türlerde büyük yükseliş olurken (%83), arktik-alpin/boreal türlerde ise %50 oranda düşüş görüldüğü tespit edilmiştir. Liken florasındaki uzun vadeli değişiklerin izlenmesi, ileriki yıllarda iklimsel verilerin birleştirildiği yöntemler uygulandığında, sadece bölgenin hava kalitesi için değil, küresel ısınmaya karşı doğanın cevabının da takip edildiği çok değerli deliller ortaya koyacaktır.

Biyolojik izleme doğa-çevre-insan ilişkilerinde stratejik bir öneme sahiptir. Pahalı ve anlık ölçümlere alternatif veya destekleyici olarak biyolojik izleyicilerin kullanımının daha fazla hayata geçirilmesi, şehirselleşen ve endüstriyel alan planlamalarında ve hızla gelişen teknolojinin olumsuz etkileri karşısında özellikle canlı sağlığını tehdit eden konularda önlemler alınmasında önemli katkılar sunacaktır.

Türkiye çiçekli bitkiler ve diğer bitki ve mantar gruplarında olduğu gibi likenler bakımından da oldukça zengin bir biyoçeşitlilik göstermektedir. Günümüze kadar yaklaşık 1500 kadar liken türü yayınlanmış olsa da henüz liken florası tümüyle tamamlanmamıştır. Oldukça hızlı ilerleyen liken flora çalışmalarının yanında, hava kirliliği veya kalitesinin likenlerle izlenmesi konusunda yapılan çalışmalar da çoğalmaya başlamıştır. Özellikle şehirlerin hava kalitesi hakkında element ve ağır metal, radyonüklid ve kükürt dioksit düzeyleri bakımından likenlerden yararlanılarak yapılan araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır. Bu çalışmalar tekrarlanmak suretiyle zaman içindeki değişimlerin de tespit edilmesi mümkün olabilecektir. Bu tür çalışmaların hızlanması için öncelikle Türkiye’de flora çalışmalarının tamamlanması gerekmektedir. Böylece liken türleri belirlenen bölgelerde likenle biyoizleme yöntemlerinin daha etkin olarak uygulandığı çalışmalar yapılabilecektir.

Bu çalışma 1970’li yıllarda başlayan ilk çalışmalardan günümüze kadar uzanan yaklaşık 45 yıllık bir yelpazede biyoizleme konusunda likenlerin rolünü ele alan kapsamlı ilk Türkçe derleme olup bu konuda gelecekte yapılacak çalışmalar için bir başvuru kaynağı niteliği taşımaktadır.

REFERENCES / KAYNAKLAR

- [1] Ahmadjian V., “Algal/Fungal Symbiosis, Progress in Phycological Research”, Elsevier Biomedical Press, Vol. 1, 1982, 79-233.
- [2] Sevgi O., Tecimen H.B., “Bazı Liken Terimlerinin Türkçe Karşılıkları”, *Liken Araştırmaları Derneği (LİKAD) Bülteni*, 1, 11-15, 2012.
- [3] Garty J., “Biomonitoring Atmospheric Heavy Metals with Lichens: Theory and Application”, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 20(4), 309-371, 2001.
- [4] Wolterbeek B., “Biomonitoring of Trace Element Air Pollution: Principles, Possibilities and Perspectives”, *Environmental Pollution*, Vol.120, No.1, 11–21, 2002.
- [5] Nash III T.H., “*Lichen Biology*”, Cambridge University Press, Cambridge, London, 2008.
- [6] Winner W.E., Atkinson C.J., Nash T.H., “Comparisons of SO₂ Absorption Capacities of Mosses, Lichens, and Vascular Plants in Diverse Habitats. Lichens, Bryophytes and Air Quality”, *Bibliotheca Lichenologica*, 30, 217-230, 1988.
- [7] Shukla V., Upreti D.K., Bajpai R., “*Lichens to Biomonitor the Environment*”, ISBN 978-81-322-1502-8 ISBN 978-81-322-1503-5, DOI 10.1007/978-81-322-1503-5, Springer, New Delhi, Heidelberg, New York, Dordrecht, London, 2014.
- [8] Markert B., Oehlmann J., Roth M., “General Aspects of Heavy Metal Monitoring by Plants and Animals. In: Environmental Biomonitoring — Exposure Assessment and Specimen Banking”, 18–29, Subramanian K.S., Iyengar G.V., Eds., ACS Symposium Series 654, American Chemical Society, Washington D.C., 1997.
- [9] Seaward M.R.D., “Use and Abuse of Heavy Metal Bioassays in Environmental Monitoring”, *Science of the Total Environment*, 176, 129-134, 1995.
- [10] Hutchinson J., Maynard D., Geiser L., “Air Quality and Lichens- A Literature Review Emphasizing The Pacific Northwest, USA”, USDA Forest Service, <http://gis.nacse.org/lichenair/index.php?page=literature>, 1996.
- [11] Poikolainen J., “Mosses Epiphytic Lichens and Tree Bark as Biomonitors for Air Pollutants – Specifically for Heavy Metals in Regional Surveys”, Academic Dissertation, University of Oulu, Faculty of Science, Department of Biology, Finland, 2004.
- [12] Henderson A., “Literature on Air Pollution and Lichens XLIX”, *Lichenologist*, 32(1), 89-

- 102, 2000.
- [13] Gilbert O.L., "Further Studies on The Effect of Sulphur Dioxide on Lichens and Bryophytes", *New Phytologist*, 69(3), 605-34, 1970.
- [14] Gilbert O.L., "Lichens As Indicators of Air Pollution in the Tyne Valley. In: Ecology and The Industrial Society", G.T. Goodman et al. (Ed.), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 35-47, 1965.
- [15] Hawksworth D.L., Rose F., "Qualitative Scale for Estimating Sulphur Dioxide Air Pollution in England and Wales Using Epiphytic Lichens", *Nature*, 227, 145-148, 1970.
- [16] LeBlanc F.S.C., De Sloover J., "Relation Between Industrialization and the Distribution and Growth of Epiphytic Lichens and Mosses in Montreal", *Canadian Journal of Botany*, 48, 1485-1496, 1970.
- [17] Showman, R.E., 1975. Lichens As Indicators Air Quality Around A Coal-Fired Power Generating Plant. *The Bryologist* 78(1), 1-6.
- [18] Türk R., Wirth V. "The pH Dependence of SO₂ Damage to Lichens", *Oecologia*, 19, 285-291, 1975.
- [19] Öztürk Ş., "Hemerobik Elemanlar Olarak Likenler", *Türk Liken Topluluğu Bülteni*, 3, 4-6, 2006.
- [20] Zedda L., "The Epiphytic Lichens on *Quercus* in Sardinia (Italy) and Their Value As Ecological Indicators", *Englera*, 24, 1-468, 2002.
- [21] Cislaghi C., Nimis P.L., "Lichens, Air Pollution and Lung Cancer", *Nature*, 387, 463-464, 1997.
- [22] Hauck M., Hesse, V., Jung, R., Zoller, T., Runge, M., 2001. Long-distance Transported Sulphur As A Limiting Factor For The Abundance of *Lecanora conizaeoides* in Montane Spruce Forests. *Lichenologist*, 33(3), 267-269.
- [23] Hauck M., Otto P.I., Dittrich S., Jacob M., Bade C., Dörfler I., Leuschner C., "Small Increase in Substratum pH Causes the Dieback of One of Europe's Most Common Lichens, *Lecanora conizaeoides*", *Annals of Botany*, 108, 359-366, 2011.
- [24] Van Herk C.M., "Bark pH and Susceptibility To Toxic Air Pollutants As Independent Causes of Changes in Epiphytic Lichen Composition in Space and Time", *Lichenologist*, 33(5), 419-441, 2001.
- [25] Van Herk C.M., Mathijssen-Spiekman E.A.M., de Zwart D., "Long Distance Nitrogen Air Pollution Effects on Lichens in Europe", *Lichenologist*, 35(4), 347-359, 2003.
- [26] Gauslaa Y., "The Ecology of *Lobarion pulmonariae* and *Parmelion caperatae* in *Quercus* Dominated Forests in South-West Norway", *Lichenologist*, 17, 117-140, 1985.
- [27] Seaward M.R.D., "Lichens As Monitors of Recent Changes in Air Pollution", *Plants Today*, March-April, 64-69, 1989.
- [28] Kermit T., Gauslaa Y., "The Vertical Gradient of Bark pH of Twigs and Macrolichens in A *Picea abies* Canopy Not Affected by Acid Rain", *Lichenologist*, 33(4), 353-359, 2001.
- [29] Nash III T.H., Gries C., "Lichens As Indicators of Air Pollution. In: Hutzinger, O. (ed.) The Handbook of Environmental Chemistry, Vol.4, Part C, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1-29, 1991.
- [30] Huckaby L.S., "Lichens As Bioindicators of Air Quality", Huckaby L.S. (Ed.), USDA Forest Service General Technical, RM-224, U.S.A. 1993.
- [31] Oksanen J., Laara E., Zobel K., "Statistical Analysis of Bioindicator Value of Epiphytic Lichens", *Lichenologist*, 23(2), 167-180, 1991.
- [32] Ramzaev V., Mishine A., Golikov V., Brown J.E., "Per Strand Surface Ground Contamination and Soil Vertical Distribution of ¹³⁷Cs Around Two Underground Nuclear Explosion Sites in The Asian Arctic, Russia", *Journal of Environmental Radioactivity*, 92, 123-143, 2007.
- [33] Backor M., Loppi S., "Interactions of Lichens with Heavy Metals", *Biologia Plantarum*, 53(2), 214-222, 2009.

- [34] Rinino S., Bombardi V., Giordani P., Tretiach M., Crisafulli P., Monaci F., Modenesi P., “New Histochemical Techniques For The Localization of Metal Ions in The Lichen Thallus”, *The Lichenologist*, 37(5), 463-466, 2005.
- [35] Backor M., Fahselt D., “Using EDX-Microanalysis and X-ray Mapping To Demonstrate Metal Uptake by Lichens”, *Biologia, Bratislava*, 59(1), 39-45, 2004.
- [36] Rossbach M., Jayasekera R., Kniewald G., Thang N.H., “Large Scale Air Monitoring: Lichen vs. Air Particulate Matter Analysis”, *The Science of the Total Environment*, 232, 59-66, 1999.
- [37] Kulikova N.N., Suturin A.N., Saibatalova E.V., Boiko S.M., Vodneva E.N., Timoshkin O.A., Lishtva A.V., “Geologic and Biogeochemical Role of Crustose Aquatic Lichens in Lake Baikal”, *Geochemistry International*, 4(1), 66–75, 2011.
- [38] Balarama Krishna M.V., Karunasagar D., Arunachalam J., “Sorptions Characteristics of Inorganic, Methyl and Elemental Mercury on Lichens and Mosses: Implication in Biogeochemical Cycling of Mercury”, *Journal of Atmospheric Chemistry*, 49, 317–328, 2004.
- [39] Tsekova K., Christova D., Ianis M., “Heavy Metal Biosorption Sites in *Penicillium cyclopium*”, *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 10(3), 117-121, 2006.
- [40] Branquinho C., Brown D.H., “A Method For Studying the Cellular Location of Lead in Lichens”, *Lichenologist*, 26, 83-89, 1994.
- [41] Akçin G., Saltabaş O., Yeşilçimen F., “Biosorption of Heavy Metal From Aqueous Solution by Dried Lichens”, *International Journal of Chemistry*, 11(3), 141-146, 2001.
- [42] Pipiška M., Koëiová M., Horník M., Augustin J., Lesný J., “Influence of Time, Temperature, pH and Inhibitors on Bioaccumulation of Radiocaesium - ¹³⁷Cs by Lichen *Hypogymnia physodes*”, *Nukleonika*, 50(1), 29-37, 2005.
- [43] Branquinho C., Catarino F., Brown D.H., Pereira M.J., Soares A., “Improving The Use of Lichens As Biomonitors of Atmospheric Metal Pollution”, *The Science of the Total Environment*, 232, 67-77, 1999.
- [44] Brown D.H., Beckett R.P., “Uptake and Effect of Cations on Lichen Metabolism”, *Lichenologist*, 16, 173–188, 1984.
- [45] Farkas E., Pátkai T., “Lichens As Indicators of Air Pollution in The Budapest Agglomeration II. Energy dispersive X-ray Microanalysis of *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. Thalli”, *Acta Botanica Hungarica*, 35, 55–71, 1989.
- [46] Kasama T., Murakami T., Ohnuki T., “Accumulation Mechanisms of Uranium, Copper and Iron by Lichen *Trapelia involuta*”, *Biomining (BIO2001): Formation, Diversity, Evolution and Application, Proceedings of the 8 th International Symposium on Biomining*, Tokai Univ. Press, Kanagawa, 298 – 301, 2003.
- [47] Hoodaji M., Ataabadi M., Najafi P., “Biomonitoring of Airborne Heavy Metal Contamination, Air Pollution - Monitoring, Modelling, Health and Control”, Dr. Mukesh Khare (Ed.), ISBN: 978-953-51-0381-3, 2012.
- [48] Herzig R., Liebendörfer L., Urech M., Ammann K., Cuecheva M., Landolt W., “Passive Biomonitoring with Lichens As A Part of An Integrated Biological Measuring System For Monitoring Air Pollution in Switzerland”, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 35, 43-57, 1989.
- [49] Showman R.E., “Mapping Air Quality with Lichens, the North American Experience. Lichens, Bryophytes and Air Quality”, *Bibliotheca Lichenologica*, 30, 91-107, 1988.
- [50] Sernander R., “*Stockholm's Nature*”, Almquist and Wiksells, Uppsala, Stockholm, 1926.
- [51] Wirth V., “*Phytosociological Approaches to Air Pollution Monitoring with Lichens*. In: Nash T.H. III (ed.) *Lichens, Bryophytes and Air Quality*”, *Bibliotheca Lichenologica*, 30, 91-107, J. Cramer, Berlin-Stuttgart, 1988.
- [52] Van der Gucht K., Hoffmann M., “The Impact of Air Pollution on The Occurrence of

- Corticolous and Saxicolous Lichens in The Industrial Area North of Ghent (Belgium)", *Bryology and Lichenology in Belgium*, 12, 111-126, 1990.
- [53] Augusto S., Ma'Guas M., Branquinho, C., "Understanding The performance of Different Lichen Species As Biomonitors of Atmospheric Dioxins and Furans: Potential For Intercalibration", *Ecotoxicology*, 18, 1036-1042, 2009.
- [54] Nimis P.L., Castello M., Perotti M., "Lichens As Biomonitors of Sulphur Dioxide Pollution in La Spezia (Northern Italy)", *Lichenologist*, 22(3), 333-344, 1990.
- [55] Conti M.E., Cecchetti G., "Biological Monitoring: Lichens As Bioindicators of Air Pollution Assessment- A Review", *Environmental Pollution*, 114, 471-492, 2001.
- [56] Freitas M.C., Catarino F.M., Branquinho C., Maguas C., "Preparation of A Lichen Reference Material", *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, Vol. 169, No. 1, 47-55, 1993.
- [57] Bargagli R., Monaci F., Borghini F., Bravi F., Agnorelli C., "Mosses and lichens As Biomonitors of Trace Metals. A comparison Study on *Hypnum cupressiforme* and *Parmelia caperata* in A Former Mining District in Italy", *Environmental Pollution*, 116, 279-287, 2002.
- [58] Coşkun M., Steinnes E., Coşkun M., Çayır A., "Comparison of Epigeic Moss (*Hypnum cupressiforme*) and Lichen (*Cladonia rangiformis*) As Biomonitor Species of atmospheric Metal Deposition", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82, 1-5, 2009.
- [59] Doğrul Demiray A., Yolcubal İ., Akyol N.H., Çobanoğlu G., "Biomonitoring of Airborne Metals Using The Lichen *Xanthoria parietina* in Kocaeli Province, Turkey", *Ecological Indicators*, 18, 632-643, 2012.
- [60] İçel Y., Çobanoğlu G., "Biomonitoring of Atmospheric Heavy Metal Pollution Using Lichens and Mosses in The City of Istanbul, Turkey", *Fresenius Environmental Bulletin*, 18(11), 2066-2071, 2009.
- [61] Mikhailova I.N., Scheidegger C., "Early Development of *Hypogymnia physodes* Nyl. in Response To Emissions From A Copper Smelter", *Lichenologist*, 33(6), 527-538, 2001.
- [62] Yenisoy-Karakas S., Tuncel S.G., "Geographic Patterns of Elemental Deposition in The Aegean Region of Turkey Indicated By The Lichen, *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr.", *Science of the Total Environment*, 329, 43-60, 2004.
- [63] Bustamante E.N., Monge-Nájera J., Méndez-Estrada V.G., "Use of A Geographic Information System and Lichens To Map Air Pollution in A Tropical City: San José, Costa Rica", *Rev. Biol. Trop.*, 61 (2), 557-563, 2013.
- [64] Ölgen M.K., Gür F., "Yatağan Termik Santrali Çevresinden Toplanan Likenlerde (*Xanthoria parietina*) Saptanan Ağır Metal Kirliliğinin Coğrafi Dağılışı", *Türk Coğrafya Dergisi*, 57, 43-54, 2012.
- [65] Paolia L., Munzib S., Guttováč A., Senkoc D., Sardellad G., Loppia S., "Lichens As Suitable Indicators of The Biological Effects of Atmospheric Pollutants Around A Municipal Solid Waste Incinerator (S Italy)", *Ecological Indicators*, 52, 362-370, 2015.
- [66] White R.G., Holleman F., Allaye-Chan C., "Radiocesium Concentrations in The Lichen-Reindeer/Caribou Food Chain: Before and After Chernobyl", *Rangifer*, 1, 24-29, 1986.
- [67] Gaare E., "The Chernobyl Accident: Can Lichens Be Used To Characterize A Radiocesium Contaminated Range?", *Rangifer*, 7(2), 46-50, 1987.
- [68] Feige G.B., Jahnke S., Niemann L., "Tschernobyl Belastet uns Weiter", *Essener Universitäts Berichte*, 2, 8-14, 1988.
- [69] Feige G.B., Niemann L., Jahnke S., "Lichens and Mosses Silent Chronists of The Chernobyl Accident. Contributions To Lichenology. In Honour of A. Hessen", *Bibliotheca Lichenologica*, 38, 63-77, 1990.
- [70] Taylor H.W., Svoboda J., Henry G.H.R., Wein R.W., "Post-Chernobyl ¹³⁴Cs and ¹³⁷Cs Levels at Some Localities in Northern Canada", *Arctic*, 41(4), 293-296, 1988.

- [71] Başkaran M., Kelley J.J., Naidu A.S., Holleman D.F., “Environmental Radiocesium in Subarctic and Arctic Alaska Following Chernobyl”, *Arctic*, 4(4), 346-350, 1991.
- [72] Biazrov G., “The Radionuclides in Lichen Thalli in Chernobyl and East Ural Areas After Nuclear Accidents”, *Phyton*, 34(1), 85-94, 1994.
- [73] Topçuoğlu S., Zeybek U., Küçükcezzar R., Güngör N., Bayülgen N., Cevher E., Güvener B., John V., Güven K.C.,” The Influence of Chernobyl on The Radiocesium Contamination in Lichens in Turkey”, *Toxicological and Environmental Chemistry*, 35, 161-165, 1992.
- [74] Iurian A.R., Hofmann W., Lettner H., Türk R., Cosma C., “Long Term Study Of Cs-137 Concentrations In Lichens And Mosses”, *Romanian Journal of Physics*, 56(7-8), 983-992, 2011.
- [75] Loppi S., Riccobono F., Zhang Z.H., Savic S., Ivanov D., Pirintsos S.A., “Lichens As Biomonitors of Uranium in The Balkan Area, *Environmental Pollution*, 125, 277-280, 2003.
- [76] Williamson B.J., Purvis O.W., Mikhailova I.N., Spiro B., Udachin V., “The lichen Transplant Methodology In The Source Apportionment of Metal Deposition Around A Copper Smelter in The Former Mining Town of Karabash, Russia”, *Environmental Monitoring and Assessment*, 141, 227-236, 2008.
- [77] Conti M.E., Finoia M.G., Bocca B., Mele G., Alimonti A., Pino A., “Atmospheric Background Trace Elements Deposition in Tierra del Fuego Region (Patagonia, Argentina), Using Transplanted *Usnea barbata* lichens”, *Environmental Monitoring and Assessment*, 184, 527-538, 2012.
- [78] Toma N., Ghetea L., Nitu R., Corol D.I., “Progress and Perspectives in The Biotechnology of Lichens”, *Roum. Biotechnol. Lett.*, 6(1), 1-15, 2001.
- [79] Yamamoto Y., Kinoshita Y., Thor G.R., Hasumi M., Kinoshita K., Koyoma K., Takahashi K., Yoshimura I., “Isofuranonaphthoquinone Derivatives From Cultures of The Lichen *Arthonia cinnabarina* (DC.) Wallr.”, *Phytochemistry*, 60, 741-745, 2002.
- [80] Karamanoğlu K., “Türkiye’ nin Önemli Liken Türleri”, *Ankara Eczacılık Fak. Mec.* 1, 53-57, 1971.
- [81] Öztürk Ş., Güvenç Ş., Aslan A., “Distrubution of Epiphytic Lichens and Sulphur Dioxide (SO₂) Pollution in The City of Bursa”, *Turk J. Bot.*, 21, 211-215, 1997.
- [82] Şenkardeşler A., “İzmir İli Hava Kirliliğinin Epifitik Biyoindikatör Likenleri”, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1999.
- [83] Sommerfeldt M., John V., “Evaluation of a Method for the Reassessment of Air Quality by Lichen Mapping in the City of İzmir, Turkey”, *Turk J. Bot.*, 25, 45-55, 2001.
- [84] Yazıcı K., Aslan A., “Distribution of Epiphytic Lichens and Air Pollution in The City of Trabzon, Turkey”, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 77, 838-845, 2006.
- [85] Yenisoy-Karakaş S., “Biomonitoring of Atmospheric Pollutants at Western Anatolia”, Doctor of Philosophy, The Middle East Technical University The Graduate School of Natural and Applied Sciences, 2000.
- [86] Çiçek A., Koparal S., “The Assessment of Air Quality and Identification of Pollutant Sources in the Eskisehir Region Turkey Using *Xanthoria parietina* (L.) Th.Fr. (1860)”, *Fresenius Environmental Bulletin*, 12(1), 24-28, 2003.
- [87] Uğur A., Özden B., Saç M.M. , Yener G., “Biomonitoring of Po and Pb Using Lichens and Mosses Around a Uraniferous Coal-Fired Power Plant in Western Turkey”, *Atmospheric Environment*, 37, 2237-2245, 2003.
- [88] Aslan A., Budak G., Karabulut A., “The Amounts Fe, Ba, Sr, K, Ca and Ti in Some Lichens Growing in Erzurum Province (Turkey)”, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 88, 423-431, 2004.
- [89] Mendil D., Tuzen M., Yazıcı K., Soylak M., “Heavy Metals in Lichens From Roadsides and An Industrial Zone in Trabzon, Turkey”, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 74, 190-

- 194, 2005.
- [90] Demirbaş A., “Trace Element Concentrations in Ashes from Various Types of Lichen Biomass Species”, *Energy Sources*, 26, 499–506, 2004.
- [91] Aslan A., Budak G., Tıraşoğlu E., Karabulut A., “Determination of Elements in Some Lichens Growing in Giresun and Ordu Province (Turkey) Using Energy Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry”, *Journal of Quantitative Spectroscopy Radiative Transfer*, 97, 10–19, 2006.
- [92] Çayır A., Coşkun M., Coşkun M., “Determination of Atmospheric Heavy Metal Pollution in Canakkale and Balıkesir Provinces Using Lichen (*Cladonia rangiformis*) As A Bioindicator”, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 79, 367–370, 2007.
- [93] Yıldız A., Aksoy A., Tuğ G.N., İşlek C., Demirezen D., “Biomonitoring of Heavy Metals by *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf in Ankara (Turkey)”, *J Atmos Chem*, 60, 71–81, 2008.
- [94] Duman-Cansaran D., Atakol O., Atasoy İ., Kahya D., Aras S., Beyaztaş T., “Heavy Metal Accumulation in *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf from the Karabük Iron-Steel Factory in Karabük, Turkey”, *Z. Naturforsch.* 9/10, 64c, 717–723, 2009.
- [95] Kınalıoğlu K., Bayrak Özbucak T., Kutbay G.H., Hüseyinova R., Bilgin A., Demirayak A., “Biomonitoring of Trace Elements with Lichens in Samsun City, Turkey”, *Ekoloji*, 19, 75: 64–70, 2010.
- [96] Yazıcı K., Ertugrul B., Damla N., Apaydın G., “Radioactive Contamination in Lichens Collected from Trabzon and Rize in the Eastern Black Sea Region, Turkey, and a Comparison with that of 1995”, *Bull Environ Contam Toxicol.*, 80, 475–479, 2008.
- [97] Nieboer E., Fletcher G.G., Thomassen Y., “Relevance of Reactivity Determinants To Exposure Assessment and Biological Monitoring of The Elements”, *J. Environ. Monit.*, 1, 1–14, 1999.
- [98] Aptroot A., Van Herk C.M., “Further Evidence of The Effects of Global Warming on Lichens, Particularly Those with *Trentepohlia* phycobionts”, *Environmental Pollution*, 146, 293-298, 2007.
- [99] Van Herk C.M., Aptroot A., Van Dobben H.F., “Long-term Monitoring in The Netherlands Suggests That Lichens Respond To Global Warming”, *Lichenologist*, 34(2), 141-154, 2002.