



Derleme/Review

Organik Kirleticilerin Bitkilerle Temizlenmesi: Alınma ve Parçalanma Mekanizmaları

Taylan KÖSESAKAL*

İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı, 34134 Süleymaniye, İstanbul

Özet

Bitkiler kullanılarak insan aktiviteleri sonucunda kirlenmiş toprak, su ve havanın temizlenmesi şeklinde tanımlanan fitoremediasyon alternatif ve çevre dostu bir teknoloji olarak umut vermektedir. Çevre kirliliğinin bir sonucu olarak canlı yaşam ortamlarında biriken organik kirleticilerin temizlenmesi toksik, mutajen ve karsinojen yapılarından dolayı büyük önem taşımaktadır. Organik kirleticiler kimyasal özelliklerine bağlı olarak rizosferde parçalanabilir ya da bitki tarafından alınarak, bitki hücrelerinde parçalanabilir, konjugasyonla ya vakuolde ya da hücre çeperi alanlarında tutulabilir veya buharlaştırılabilirler. Bu derlemede organik bileşiklerin bitkilere alınma ve bitkisel dokularda parçalanma mekanizmaları anlatılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fitoremediasyon, çevre kirliliği, organik bileşikler

Phytoremediation of Organic Pollutants: Uptake and Degradation Mechanisms

Abstract

Phytoremediation which is defined as cleaning of the contaminated soil, water and air as a result of human activities by using plants, as an environmentally friendly and alternative technology to be promising. The removal of organic pollutants accumulated in organisms habitat's as a result of environmental pollution, has a great importance because of their toxic, mutagen and carcinogen structures. Depending on their chemical properties organic pollutants may be degraded in the rhizosphere or taken up by plants, and then may be degradation in plant cells or sequestered with conjugation in vacuol or cell wall areas or volatilization. In this review, uptake of organic compounds by plants and the degradation mechanisms of them in plant tissues were discussed.

Keywords: Phytoremediation, environmental pollution, organic compounds

GİRİŞ

Endüstriyel gelişme, artan dünya nüfusu ve kentsel yaşamın beraberinde getirdiği çevre kirliliği, özellikle yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren doğal yaşamı tehdit etmektedir. Kirlilik, ekosistem üzerinde düzensizliklere ve zararlara sebep olarak, canlı yaşamını olumsuz bir şekilde etkileyebilecek olan kirleticilerin çevreye girişi ve bu alanlarda yüksek miktarlarda birikmesi şeklinde tanımlanabilir. Toplumun ekonomik büyümesi, dünya nüfusundaki artış ve buna paralel olarak endüstrileşme sürecindeki hızlı değişim ile birlikte çevreye yayılan kirleticilerin miktarı ve çeşidi her geçen gün artmaktadır. Canlı ve yaşadığı çevre üzerinde yapısal zararlar meydana getiren, organik ve inorganik yapıdaki kirleticilerin hava, su ve toprağa karışması olayına "çevre kirliliği" adı verilmektedir [1]. İnsan aktivitelerinin bir sonucu olarak çevreye bırakılan organik ve inorganik bileşiklerin büyük kısmı ciddi çevresel problemlere sebep olmaktadır. Toksik, mutajen, karsinojen ve/veya kalıcı özellikteki kirleticiler, insan sağlığını, tarımsal verimliliği ve çevreyi tehdit etmektedir. Bu kirleticilere örnek olarak toplam petrol hidrokarbonları (TPH), polisiklik aromatik hidrokarbonları (PAH), halojenli hidrokarbonları, pestisitleri, solventleri ve metalleri verebiliriz [2].

Çevre ve doğal kaynakların kirlenmeye karşı korunması, çevre kirliliğinin önlenmesi açısından kritik öneme sahip olmakla birlikte kirlenmiş alanların temizlenmesi de mevcut çevre kirliliklerinin çözümünde büyük önem taşımaktadır. Toprak ve suya karışan ve buralarda birikme yapan kirleticiler, mikrobiyal aktiviteye, toprak verimliliğine, biyolojik çeşitliliğe ve ürün kayıplarına, hatta besin zinciri yoluyla çevre ve insan sağlığı problemlerinin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Çevresel kirlilik kaynaklarının tüm dünyada artış göstermesi bunların doğal ortamdan uzaklaştırılmalarına yönelik tekniklerin geliştirilmesi zorunluluğunu da beraberinde getirmiştir. Çevresel kirliliğin ortadan kaldırılmasında canlı organizmaların (bitki, bakteri, alg v.b.) kullanılması biyoremediasyon olarak adlandırılmakta ve bu teknolojilerde temel olarak kirliliğin *in situ* temizlenmesi hedeflenmektedir. Biyoremediasyon türü olan fitoremediasyon, bitkiler kullanılarak insan aktiviteleri sonucunda kirlenmiş toprak, su ve havanın temizlenmesi olarak tanımlanmaktadır.

Bu derlemede organik kirliliğin temizlenmesinde kullanılan bir teknoloji olarak fitoremediasyon değerlendirilerek, organik bileşiklerin bitkilere alınma ve parçalanma mekanizmaları anlatılmıştır.

Fitoremediasyon

Gelişmekte olan bir teknoloji olarak fitoremediasyon, bitkiler ve onlarla ilişkili rizosferik mikroorganizmalar kullanarak toprak, sediment, yeraltı suları, yüzey suları ve hatta atmosferde bulunan kimyasal kirleticilerin, ortadan kaldırılması, parçalanması ya da biriktirilmesi sürecidir. Bitkiler petrol hidrokarbonları, pestisitler, metaller, radyonüklidler ve patlayıcılar gibi çoğu kirleticinin çevreden temizlenmesinde kullanılabilir [3]. Fitoremediasyon, organik ve inorganik kirleticilerin birçoğu için etkin bir yöntemdir. Çevrede bulunan organik kirleticilerin çoğu insan yapımıdır ve organizmalar için ksenobiyotiktir. Birçoğu toksik ve bazıları da karsinojendir. Organik kirleticiler, dökülmeler (petrol,

çözücüler), askeri aktiviteler (patlayıcı, kimyasal silahlar), tarım ilaçları (pestisit, herbisit) ve sanayi atıkları (kimyasal, petrokimyasal) ile çevreye girebilmektedir. Organik kirleticiler özelliklerine bağlı olarak bitkilerin kök bölgesinde parçalanabilir ya da bitki tarafından alınarak, bitki içinde parçalanabilir, konjugasyonla ya vakuolde ya da hücre çeperi alanlarında tutulabilir veya buharlaştırılabilir [4]. Organik kirleticilerden, trikloetilen (TCE, en sık rastlanılan yer altı suyu kirleticisi) gibi organik çözücüler [5, 6], atrazin gibi herbisitler [7], TNT gibi patlayıcılar [8], petrol, gazolin, benzen, toluen ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi petrol hidrokarbonlar [9, 10] ve poliklorlu bifeniller (PCB) [11] başarılı bir şekilde fitoremediasyonla ortamdaki kirleticilerden temizlenebilmektedir [4]. Fitoremediasyonla kirleticiler büyük ölçüde ortamdaki uzaklaştırılmasına rağmen, çoğu zaman bu işlemin altında yatan biyolojik mekanizma tamamen bilinmemektedir. Fitoremediasyon teknolojilerinin verimliliğini artırabilmek için biyolojik süreçler hakkında daha fazla bilgi edinmemiz gerekmektedir. Biyolojik süreçler; bitki-mikroorganizma etkileşimleri ve rizosferik süreçleri, bitkiye alınma, taşınma ve tolerans mekanizmalarını, iletim ve depolamadaki bitki çelatörlerini içermektedir.

Kirleticinin Biyoyarlanması

Kirleticilerin ortamdaki uzaklaştırılabilmesi için öncelikle bitkiler ve ilişkili oldukları mikroorganizmaların kirleticilerle temas halinde olması ve onları etkilemesi gerekmektedir. Bu yüzden, bir kirleticinin bitki ve/veya mikroorganizmalar tarafından kullanılabilir olması (biyoyarlanması) o kirleticinin ortamdaki uzaklaştırılabilmesi için önem taşımaktadır. Kirleticinin biyoyarlanması, kirleticinin kimyasal özelliğine, toprak yapısına, çevresel koşullara ve biyolojik aktiviteye bağlıdır [4].

Bir kirleticinin, hidrofobisite ve buharlaşma (volatilite) olmak üzere iki önemli kimyasal özelliği o kirleticinin topraktaki hareketini etkilemektedir. Hidrofobisite genellikle oktanol:su oransal katsayısı ya da $\log K_{ow}$ (oktanol:su dağıtım katsayısı, kirleticinin hidrofobisitesi için ölçü birimi) olarak tanımlanır [12]. Yüksek $\log K_{ow}$ değeri yüksek hidrofobisiteye karşılık gelmektedir. PCB ler, PAH lar ve diğer hidrokarbonlar gibi son derece hidrofobik moleküller ($\log K_{ow} > 3$) toprağın organik yapısına sıkıca bağlıdır ve toprak gözeneklerindeki sularda çözünmezler. Biyoyarlanımdaki bu eksiklikleri fitoremediasyonda kullanımlarını engellediği için bu moleküller kalıcı kirleticiler olarak sınıflandırılır. Sudaki çözünürlüğü $\log K_{ow} < 3$ değerinden daha düşük organik bileşikler toprak gözeneklerindeki suda $\log K_{ow}$ değerlerinin tersi yönde çözünme eğilimi taşımaktadırlar [4].

Kirleticinin uçuculuğu, Henry kanunu (H_i) olarak tanımlanır ve bir bileşiğin suya göre havadaki dağılım eğiliminin bir ölçüsüdür [13]. $H_i > 10^{-4}$ değerinden büyük değere sahip kirleticiler toprak partikülleri arasındaki hava boşluklarında hareket etme (mobilité) eğilimi taşırken, $H_i < 10^{-6}$ olanlar çoğunlukla su içerisinde hareket eğilimindedir. H_i değeri 10^{-6} ile 10^{-4} arasında olan bileşikler ise hem havada hem de suda hareket edebilirler. Hem suda hem de havada hareket edebilen organik kirleticiler pasif olarak bitkiye difüze olabilir. Suda hareketli organikler fitodegradasyonla parçalanabilir ya da inaktif duruma getirilirken, uçucu organikler bitkiler tarafından kimyasal modifikasyona uğratılmadan hızlı bir şekilde buharlaştırılabilir [4].

Sonuç olarak, bitki tarafından kimyasal maddelerin alınımını ve dağıtımını etkileyen faktörlerden bazılarını şu şekilde sıralayabiliriz [14];

1. Bileşiğin fiziksel ve kimyasal özellikleri (Sudaki çözünürlüğü, molekül ağırlığı, oktanol:su katsayısı, buhar basıncı gibi)
2. Çevresel özellikler (sıcaklık, pH, organik yapı, toprak nem içeriği gibi)
3. Bitki özellikleri (kök sistemi ve enzim tipleri gibi).

Bitki Mikroorganizma Etkileşimleri

Rizosferik Mikroorganizmaların Rolü

Rizosfer kökün yaklaşık olarak 1 mm lik alanına kadar uzanır ve kökün etkisi altındadır. Bitkiler tarafından serbest bırakılan çeşitli yapıdaki fotosentetik kökenli organik bileşikler rizosferde bulunan heterotrofik mantar ve bakteriler tarafından karbon kaynağı olarak kullanılabilir [15]. Bitki köklerinin salgıladıkları basit şekerler, amino asitler, enzimler, alifatikler ve aromatikler gibi bileşikler rizosferdeki spesifik mikroorganizmaların büyümesini teşvik etmektedir [16]. Buna karşılık olarak bazı mikroorganizmalar ürettikleri bitki büyüme düzenleyicileri aracılığıyla kök büyümesini teşvik edebilmekte, su ve mineral madde alınımını artırmakta ve diğer NO patojenik toprak mikroorganizmalarının büyümesini inhibe etmektedir [17]. Rizosferde bitki ve mikroorganizma arasında meydana gelen etkileşimler karmaşıktır ve bazı durumlarda her iki organizma içinde karşılıklı yarara dayalı bir ilişki geliştirmiştir. Bu mutualistik ilişki bitki varlığında kirleticilerin daha hızlı bir şekilde parçalanmasından sorumludur [16]. Rizosfer remediasyonu bitki ve/veya mikroorganizmalar aracılığıyla meydana gelen aktif süreçlerin bir sonucu olabilir. Bu süreçler, kirleticinin biyoyararlanımını, alınımını ve parçalanmasını etkileyebilir. Kirletici biyoyararlanımı ise çeşitli bitkisel ve mikrobiyal aktivitelerden etkilenebilir. Bazı bakterilerin salgıladıkları biyoyüzeytemizleyiciler hidrofobik kirleticileri suda daha çözünür hale getirebilir [18]. Bitki eksudatları ya da lizatlarının içerdiği lipofilik bileşikler, kirleticilerin sudaki çözünürlüğünü artırabilir ya da biyoyüzeytemizleyici üreten mikroorganizma popülasyonlarını teşvik edebilir [19]. Bu rizosferik etkiye ek olarak, bitkiler birçok organik atığı kökleri aracılığıyla topraktan ya da sudan pasif olarak alabilirler. Rizosferde bulunan organik kirleticiler bitki kökleri tarafından salınan enzimler ya da mikrobiyal degradasyonun fitostimülasyonu (kirleticilerin, rizosferde bitki kök eksudatları ile teşvik edilen mikrobiyal aktivite sonucunda parçalanması) ile parçalanabilirler [4]. Rizosferde normal toprak ortamına oranla daha hızlı bir şekilde parçalanabilen organik bileşiklere; polisiklik aromatik hidrokarbonları, total petrol hidrokarbonlarını [20, 21], klorlu pestisitleri, poliklorlu bifeniller (PCB) gibi diğer klorlu bileşikleri [22], patlayıcıları (TNT, DNT), organofosfat insektisitleri ve yüzey aktif temizleyicilerini verebiliriz [16].

Bitkiler tarafından mikrobiyal parçalanmanın teşvik edildiği süreçler;

1. Genel rizosfer etkisi: Mikrobiyal yoğunluğu artırmak için bitkiler tarafından rizosfere salınan karbonlu bileşikler.

2. Bitki kökleri tarafından salınan sekonder bitki bileşikleri: Bu bileşikler ya organik bileşiklerin parçalanmasında yer alan mikrobiyal genleri teşvik edebilir ya da mikrobiyal parçalamayı kolaylaştırmak amacıyla ko-metabolit olarak rol oynayabilirler.
olarak gösterilebilir [4, 23].

Organik Bileşiklerin Bitki Hücrelerine Alınma ve Taşınma Mekanizmaları

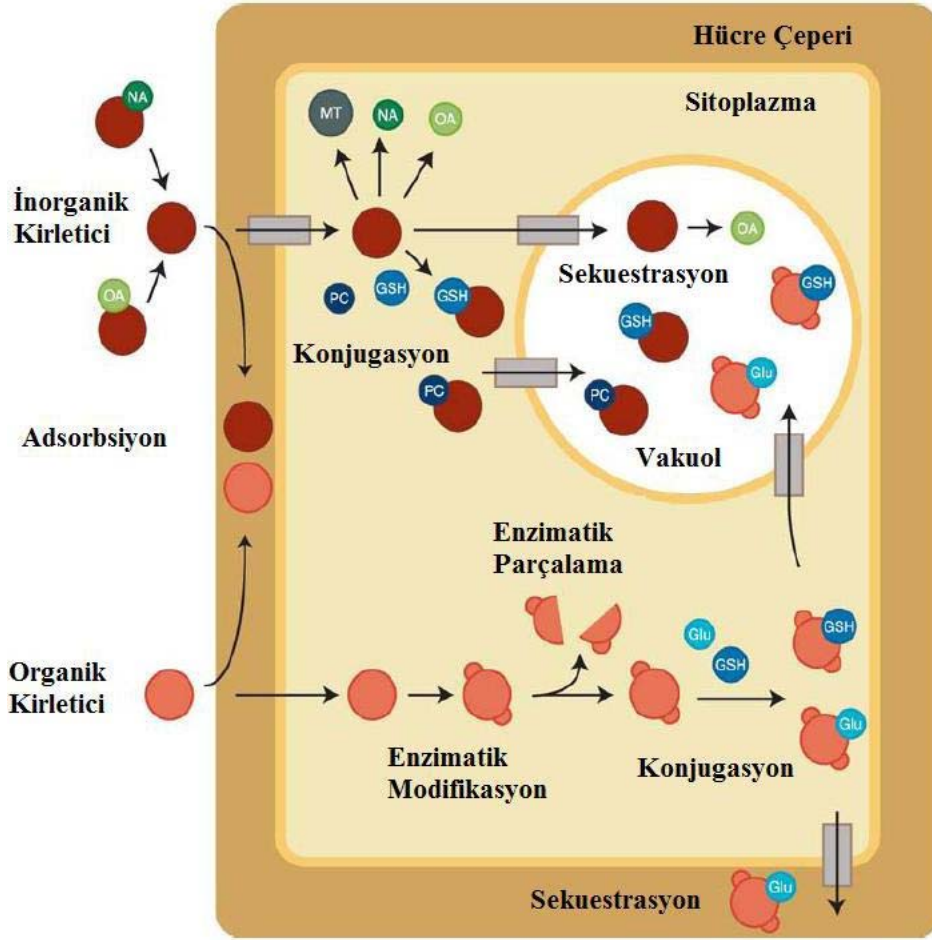
Kirleticilerin Bitkiye Alınımı

Kirleticilerin bitki kökleri tarafından alınımı organik ve inorganik bileşikler için farklılıklar göstermektedir. Organik kirleticiler genellikle insan yapımı olduğundan dolayı bitkiler için ksenobiyotiktir ve bunun sonucu olarak bu bileşiklerin bitki zarlarında taşıyıcıları yoktur. Bu yüzden organik kirleticiler kimyasal özelliklerine bağlı olarak basit difüzyonla bitkiye girme eğilimindedir. Organik kirleticilerin bitkiye alınımında en önemli özelliklerinden birisi daha önceden de bahsedildiği gibi hidrofobitesidir [12, 24]. $\log K_{ow}$ değeri 0,5 ile 3 arasında olan organik bileşikler, yeterli hidrofobiktirler, zarların lipid bilayerlerinden direkt olarak geçebilirler ve suda çözünmediklerinden dolayı da hücre içine girebilirler. $\log K_{ow} < 0,5$ olan organik bileşikler oldukça hidrofildirler, hücre zarlarından geçemezler ve bu yüzden bitkiye alınamazlar. $\log K_{ow} > 3$ olan organik bileşikler oldukça hidrofobiktirler, bitkinin periferinde hücre çeperi ile zarına yapışmış durumdadır ve hücre sıvısına giremezler. Organik bileşiklerin bitkiye alınımı ve hareketi biyolojik süreçten çok fiziksel olduğu için bitki türlerindeki alınımı tahmin edilebilmekte ve modellemesi kolaylıkla yapılabilmektedir [13].

Çelat Oluşumu ve Taşınma

Bitkiler, kirleticinin çözünürlüğünü ve bitkiye alınımını etkileyen bileşikler köklerinden serbest bırakabilir. Bitki dokuları içindeki çelatör bileşikler, organik ve inorganik bileşiklerin taşınımı, etkisizleştirilmesi ve toleransında rol oynayabilir [25]. Fitosideroforlar (çimenlerdeki demir ve belki de diğer metallerin alınımını kolaylaştıran çelatörler) biyosentetik olarak nikotianaminden (NA) sentezlenmişlerdir [26]. NA da metallerin taşınımında rol alabilir [27]. Organik asitler (sitrat, malat, histidin) sadece metallerin köklere alınımını kolaylaştırmakla kalmayıp aynı zamanda metallerin taşınım, etkisizleştirme ve toleransında da rol oynamaktadır [28]. Metaller tıolce zengin peptidler, glutatyon (GSH) ve fitokelatin (PCs) ya da sistein (Cys)' ce zengin metalohiyonin proteinler (MT) le de bağlı olabilir [29]. Köklerdeki çelatlı metaller vakuolde depolanabilir ya da ksilem aracılığıyla gövdeye taşınabilir. Organik bileşikler ise konjuge olabilir, depo edilebilir ya da enzimatik olarak parçalanabilirler [4]. Bu süreçler Şekil 1 de şematize edilmiştir.

Kökten gövdeye taşınım ilk olarak kök simplastından, ksilem apoplastına membran taşınımı gerektirmektedir. Kök endodermisindeki Kaspary şeridi (hücre çeperinde bulunan geçirgen olmayan suberin tabaka) toprak çözeltisinden ya da kök apoplastından kök ksilemine suda çözülmüş maddelerin geçişini engellemektedir [30]. Organik kirleticiler kök simplastı ve ksilem apoplastı arasındaki zardan basit difüzyonla geçer [4].

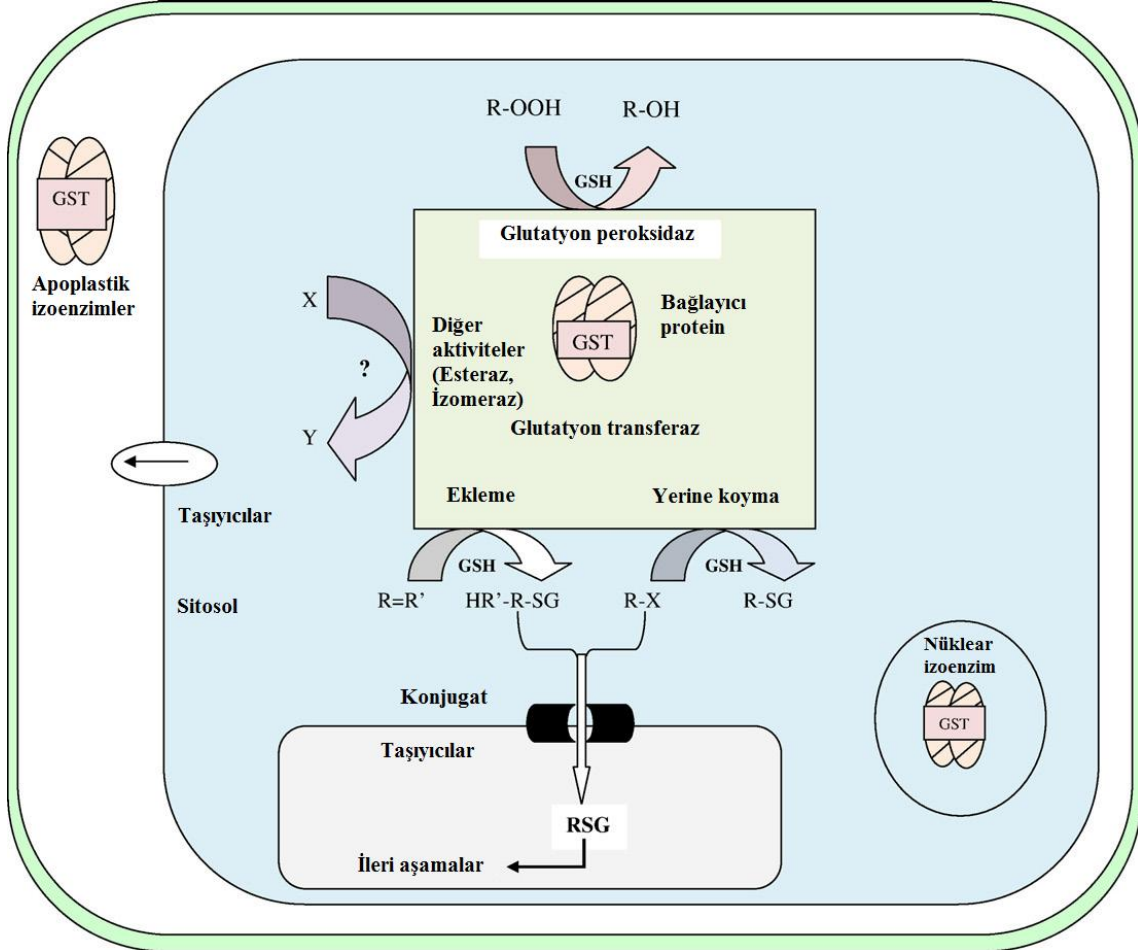


Şekil 1. Bitki hücrelerinde inorganik ve organik kirlenicilerin tolerans mekanizmaları. Detoksifikasyon genellikle konjugasyonu takiben apoplast ve vakuolde kirlenicinin daha az zararlı hale getirildiği aktif sekuestrasyonu içerir. Çelatörler GSH: glutatyon, Glu: glukoz, MT: metalohiyoninler, NA: nikotianamin, OA: organik asitler, PC: fitokelatınler kısaltmaları olarak aktif taşıyıcılar ise kutu içindeki ok işaretleriyle gösterilmiştir [4].

Yaprak ksileminden yaprak hücrelerine madde alınımı bir diğer membran taşıma basamağını içermektedir. İnorganik bileşikler spesifik membran taşıyıcı proteinler tarafından alınırlar. Organik bileşikler gövde ksileminden yaprak simplastına basit difüzyonla geçerler. Kirleniciler yaprak simplastına girdikten sonra belli doku ya da hücre alanlarına taşınabilir. Toksik kirleniciler genellikle temel hücre süreçleri ile daha az zararlı olabildikleri yerlerde etkisiz hale getirilirler. Kirleniciler hücre düzeyinde genellikle vakuol ya da hücre çeperinde biriktirilirken [31], doku seviyesinde ise epidermis ve trikomlarda biriktirebilirler [32].

Kirlenicilerin dokularda etkisiz hale getirilmeleri genellikle çelatörler ya da konjugat formlarıyla bağlanmaları ile olur (Şekil 1). GSH ile konjugasyon organik kirlenicilerin toleransı ve etkisizleştirilmesinde de rol oynamaktadır. Farklı substrat spesifitesindeki GSTs (GSH-S-transferazlar) ailesi GSH nin sitosolde organik bileşiklerle konjugasyonuna aracılık etmektedir [33]. Glutatyon S-konjugatları vakuol ya da apoplasta (ATP-bağlı membran pompalarıyla) aktif olarak taşınırlar [34, 35, 36]. Bitkilerde organik bileşikler için alternatif

bir konjugasyon-sekuestrasyon mekanizması, organik bileşiklerin glukoz ya da malonil-gruplarıyla birleşmesini ve bunu takiben oluşan konjugatların vakuol ya da apoplasta taşınımını içermektedir [37]. Bu konjugasyon aşamaları glukoziltransferazlar ya da maloniltransferazlar tarafından organize edilir [4, 31], (Şekil 2).



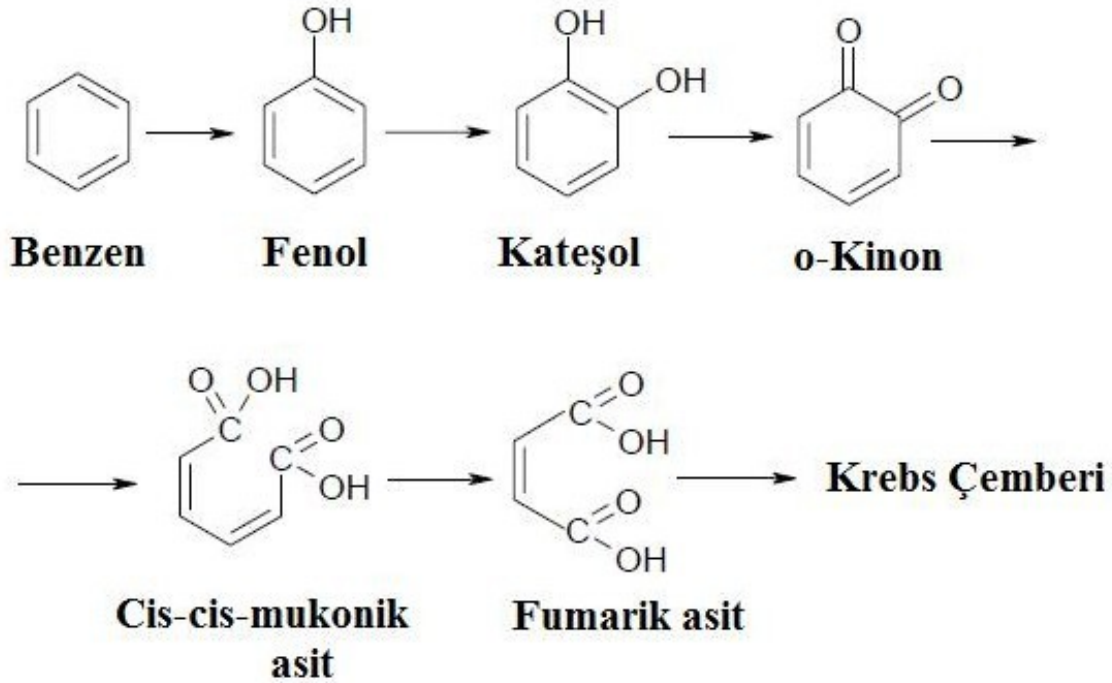
Şekil 2. GSTs lerin ksenobiyotik detoksifikasyonu ve endojen metabolizmadaki rolünün şematik gösterimi [38].

Organik bileşiğin konjuge olabilmesi için kimyasal modifikasyona gereksinim vardır. Kimyasal modifikasyonla organik bileşikte konjugasyon için uygun yan gruplar oluşturulur. Bu modifikasyon reaksiyonları oksitleyici ya da indirgeyici olabilir. Örnek olarak, sitokrom P450 mono-oksijenaz oksidatif bir transformasyonu katalizler. Bunu da atrazin gibi organik bir moleküldeki oksijenin bir oksijen atomu arasına girip hidroksil yan grubu oluşturarak yapar [37]. Nitroredüktazlar indirgeyici transformasyon yapan enzimlere örnek olarak verilebilir. Bu enzim grubu ise TNT gibi organik bileşiklerdeki nitro gruplarını amino gruplarına dönüştürmektedir [39]. Organik kirleticilerin modifikasyonlarına aracılık eden diğer enzimlere örnek olarak dioksijenazları, peroksidazları, peroksijenazları ve karboksilesterazları verebiliriz [31]. Böylece organik kirleticilerin akümüasyonu, kimyasal modifikasyon, konjugasyon ve etkisizleştirme (sekuestrasyon) olmak üzere üç aşamadan

oluşmaktadır (Şekil 1). Enzimler ve taşıyıcıların bazı doğal fonksiyonları; flavonoidler, alkaloidler, bitki hormonları ve abiyotik streslere karşı savunma gibi doğal bitkisel bileşiklerin biyosentezini ve taşınımını içermektedir [40].

Organik Bileşiklerin Parçalanması

Parçalama ile fitoremediasyon sadece organik bileşikler için geçerlidir. İnorganik elementler parçalanamazlar ve sadece ya stabilize edilebilirler ya taşınırlar ya da depo edilirler. Fitodegradasyonda bitki enzimleri organik kirleticiler üzerinde etkindirler ve onları katabolize ederek ya tamamen inorganik bileşiklere mineralize eder (CO_2 , H_2O ve Cl_2 gibi) ya da kısmen degrade ederek bitki içinde depo edilebilecekleri ara bir forma dönüştürürler [41], (Şekil 3). Organik bileşiklerin enzimatik parçalanması kök, gövde ve yaprak gibi bitkisel dokularda meydana gelebileceği gibi bazı durumlarda bitkinin içerdiği endofitik mikroorganizmalar tarafından da yapılabilir [42, 43].



Şekil 3. Bitki hücrelerinde benzenin oksidatif parçalanması [44].

Bitkisel dokularda akümülyasyondan sorumlu olan aynı sınıfa ait enzimlerden bazıları fitodegradasyonda da görev almaktadır. Modifiye edici bu enzimler organik bileşiklerde yan gruplar oluşturarak bileşiğin çözünürlüğünü artırmakta ve konjugasyona olanak sağlayarak fitodegradasyonun ilk aşamalarında önemli bir rol oynamaktadırlar. Fitodegradasyonda rol alan enzim sınıflarına örnek olarak, dehalogenazları, mono- ve dioksijenazları, peroksidazları, peroksijenazları, karboksilesterazları, lakkazları, nitrilazları, fosfatazları ve nitroredüktazları verebiliriz [45], (Tablo 1).

Tablo 1. Organik bileşiklerin parçalanmasında rol alan bitkisel ve mikrobiyal enzimler. Bakteriler (B), mantarlar (M) olarak kısaltılmıştır [46].

Enzim Ailesi	Katalitik olay	Örnekler
Alınım, taşınma, etkisizleştirme ve parçalamadan sorumlu çeşitli bitkisel enzimler	Genel Alınım ve parçalama	Bütün bitkiler
Dehalogenaz	Halojenli alifatik ve aromatik hidrokarbonlardan klorin ve florin hidrolizi	<i>Xanthobacter autotrophicus</i> (B) <i>Populus</i> spp. <i>Sphingobium chlorophenolicum</i> (B)
Lakkaz	Çeşitli aromatik bileşiklerin parçalanması	<i>Medicago sativa</i> <i>Trametes versicolor</i> (M) <i>Corioloropsis polyzona</i> (M)
Dioksigenaz	Çeşitli aromatik bileşiklerin parçalanması	<i>Pseudomonas</i> sp. (B) <i>Mycobacterium</i> sp. (B)
Peroksidaz	Çeşitli aromatik bileşiklerin parçalanması; alifatik hidrokarbonların indirgeyici dehalojenasyonu	<i>Armoracia rusticana</i> <i>Phanerochaete chrysosporidium</i> (M) <i>Phanerochaete laevis</i> (M) <i>Medicago sativa</i>
Nitrilaz	Aromatik ve alifatik nitrillerden siyanür gruplarının ayrılması	<i>Salix</i> spp. <i>Aspergillus niger</i> (M)
Nitroredüktaz	Nitroaromatik bileşiklerin nitro gruplarına indirgenmesi; Halka yapısından N nin kaldırılması	<i>Comamonas</i> sp. (B) <i>Pseudomonas putida</i> (B) <i>Populus</i> spp.
Fosfataz	Organofosfatlardan fosfat gruplarının ayrılması	<i>Spirodela polyrhiza</i>
Sitokrom P450 mono-oksijenaz	Aromatik ve alifatik hidrokarbonların hidroksilasyonu	Aerobik bakterilerin çoğu, mantarların ve bitkilerin hepsi

Ksenobiyotiklerin Metabolizması

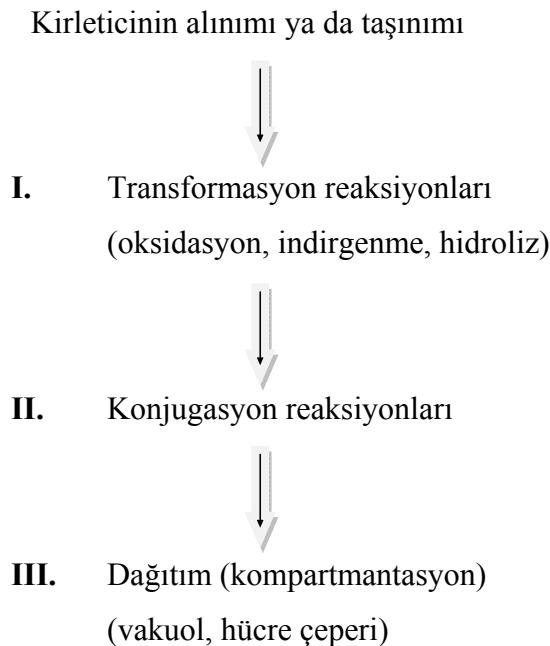
Organik kirleticilerin birçoğunun hidrofobisitesi oldukça yüksektir. PAH lar, PCB ler ve dioksinler gibi çoğu organik bileşiğin log K_{ow} değerleri 4 ün üzerindedir. Sudaki çözünürlüklerinin düşük olması ve yüksek kimyasal stabiliteyi bu kirleticilerin çevrede neden uzun süre bozulmadan kaldıklarını açıklamaktadır. Kalıcı organik kirleticilerin toprak, sediment ya da atıklarda artan miktarlarda birikimi uzun vadede büyük riskler yaratmaktadır. Kalıcı organik bileşiklerin biyoremediasyon ya da fitoremediasyonunu sınırlayan en önemli faktör bu bileşiklerin düşük biyoyararlanım kapasiteleridir [47, 48].

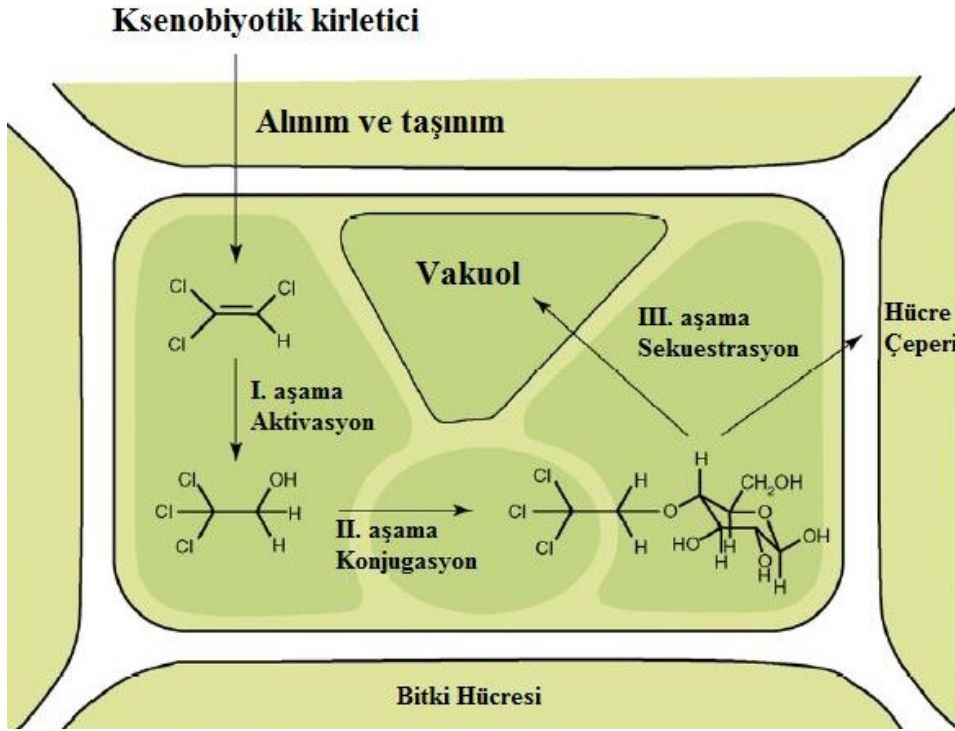
Yüksek bitkiler yaşadıkları çevrede bulunan kirleticilerin ve insan yapımı kimyasalların (ksenobiyotikler) potansiyel fitotoksik etkilerinden kendilerini korumak için iyi çalışan bir sisteme sahiptir. Bitki hücrelerindeki ksenobiyotik metabolizması birbirinden farklı aşamaları içermektedir.

I. aşama reaksiyonlarında lipofilik substratlardaki fonksiyonel gruplar (-OH, -NH₂, -SH) indirgeyici, yükseltgeyici ya da hidrolitik enzimler tarafından tanınırlar. Hidrolitik reaksiyonlar (esterazlar ya da amidazlar tarafından katalize edilirler) oldukça sıktır. I. aşamadaki en yoğun ilgiyi oksidasyon reaksiyonları (epoksidasyon, O- ya da N-dealkilasyonu, aril- ya da alkil-hidroksilasyonu, N- ya da S-oksidasyonu) almaktadır. Çünkü bu reaksiyonlar sitokrom P450 mono-oksigenazlar tarafından katalize edilmektedir [48]. Sitokrom P450 mono-oksigenazlar (hidroksilazlar), doğal steroidler, yağ asitleri ve ksenobiyotikler gibi farklı substratlara oksijen girişini katalize ederler. Sitokrom P450 ler bitkilerde, flavonoidler ve alkaloidler gibi sekonder metabolitlerin ve hormonların biyosentezinde görev almalarının yanında herbisitler ve diğer ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda da rol oynamaktadırlar. Bitkiler çeşitli stres koşullarında sekonder metabolitleri üretebilmektedirler. Böylece, bitki P450 enzimlerinin rizosferdeki ksenobiyotik degradasyonunu; sekonder bitki metabolitlerinin üretimini teşvik ederek ya da kirleticiyi direkt olarak detoksifiye ederek etkileyebildiğini söyleyebiliriz [49]. Bu aşamada genellikle organik kirleticilerin daha az toksik metabolitleri üretilir [38].

II. aşama reaksiyonları çeşitli tranferazlara dayalı olarak işler. Burada baskın olarak glukozil ya da diğer glukozil yapıları I. aşamadaki fonksiyonel gruplarla birleştirilirler. Çeşitli aminoasitler, malonik asit ya da glutatyon kalıntıları bu aşamada transfer olur ve bunun sonucu olarak metabolitlerin kompleks bir karışımı meydana gelir [48]. Bu aşamada hidrofilik bileşikler oluşturulur [38].

III. aşama ise, temel olarak glukoz ya da glutatyon konjugasyonundan kökenlenen herbisit ya da diğer ksenobiyotik metabolitlerinin çözünmeyen bağlı kalıntılar olarak ya ekstrasellular matrikste ya da hücre çeperinde depo edilmelerini, ya da suda çözünebilir metabolitler olarak vakuolde biriktirilmelerini içermektedir [48]. Ksenobiyotiklerin bitki hücrelerindeki metabolizmasını III aşamada (Şekil 4) özetleyebiliriz [50].





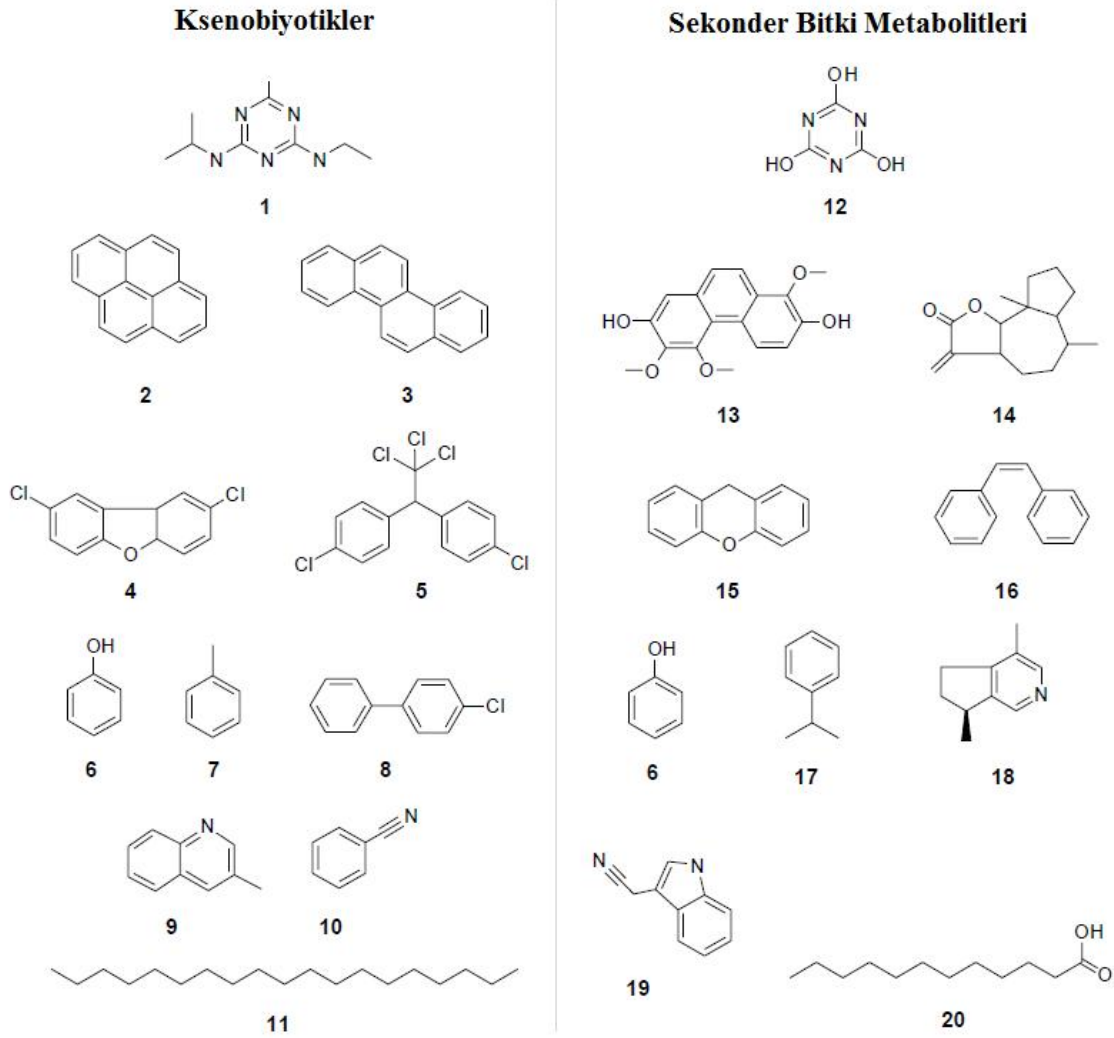
Şekil 4. Trikloroetilen (TCE) in bitki dokularındaki metabolizması. I. aşama, TCE nin trikloroetanoale oksidasyonu ile aktivasyonu; II. aşama, bitkisel bir molekül ile konjugasyonu; III. aşama, konjugasyon sonrası oluşan bileşiğin hücre çeperi ya da vakuol içerisinde etkisizleştirilmesi [51].

Biyoremediasyon ve fitoremediasyon çalışmalarından neden başarılı sonuçlar alındığının anlaşılabilmesi için sekonder bitki metabolitlerinin de iyi bir şekilde anlaşılması gerekmektedir.

Ksenobiyotiklerin Remediasyonunda Sekonder Metabolitlerin Rolü

Bitkiler tarafından üretilen toplamda 500 000' in üzerinde sekonder metabolit bulunduğu belirtilmekte ve bunların 100 000'den daha fazlasının düşük molekül ağırlıklı olduğu tahmin edilmektedir [52]. Sekonder metabolitler geleneksel olarak bitkilerin temel metabolik süreçlerinde gereksinim duyulmayan bileşikler olarak görülmüşlerdir [53]. Bitkisel kökenli birçok kimyasalın, ksenobiyotiklerin parçalanabilmesi için mikroorganizmaları teşvik ettikleri bilinmektedir [54, 55]. Özellikle bitkilerde sistemik edinilmiş bağışıklığı (SAR) [56] teşvik eden salisilatın bir PAH bileşiği olan naftalenin mikrobiyal parçalanmasında etkili olduğu gösterilmiştir [57]. Chen ve Aitken (1999) [58] salisilatın floranten, piren, benz[a]antrasen, krizen ve benz[a]piren gibi PAH bileşiklerinin *Pseudomonas saccharophila* P15 ile parçalanmasını büyük ölçüde etkilediğini göstermiştir. Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler PCB parçalanması ile salisilat arasında da bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Ayrıca flavonoidlerin de PCB parçalayan bazı mikroorganizmaların büyümesini desteklediği ve PCB metabolizmasını etkileyebildiği belirtilmektedir. Diğer taraftan terpenoid bileşiklerinin PCB biyodegradasyonunda mikroorganizmaları teşvik ettiği de gösterilmiştir.

Sekonder bitki metabolitlerinin varlığında parçalanan substratların çeşitliliği kirleticiler ile sekonder bitki metabolitlerinin benzer iskelet özellikleri göz önünde bulundurularak açıklanabilir [49] (Şekil 5).



Şekil 5. Ksenobiyotiklerle sekonder bitki metabolitlerinin yapısal olarak benzerlikleri. (1) Atrazin; (2) Piren, (3) Krizen; (4) 3,8-Diklodibenzo-p-dioksin; (5) p,p-Diklorodifenil-trikloroetan (DDT); (6) Fenol; (7) Toluen; (8) 4-Klorobifenil (PCB); (9) 3-Metilkuinolin; (10) Benzonitril; (11) n-Nonadekan; (12) Siyanürik Asit; (13) Konfusarin; (14) Pseudoguaianolide; (15) Ksanton; (16) Stilben; (17) Kumen; (18) Aktinidin; (19) İndol-3-asetonitril; (20) Farnesol. [49].

SONUÇ

Moleküler biyolojideki gelişmelerin ışığında çeşitli bitki, bakteri ve hayvanlardan izole edilen genlerin çalışmanın amacına göre organik bileşiklerin parçalanmasına yönelik fitoremediasyon çalışmalarında kullanılabileceğini söyleyebiliriz. Bu amaçla, bitkilere ksenobiyotikleri bağlayan ya da taşıyan spesifik protein ya da peptidlerin tranformasyonu, bitki biyoparçalayıcı enzimlerinin aktivite ve kalitesinin artırılması ya da rizosfere salınan bileşiklerle mikroorganizma performansının artırılması gibi çalışmalar yapılabilir [16]. Özellikle ksenobiyotiklerin parçalanmasındaki enzimatik mekanizmanın tamamıyla bilinmesi hangi genler üzerinde çalışmaların yapılacağını da belirleyecektir. Ayrıca ksenobiyotiklerin bitkilerdeki toleransı ve detoksifikasyonunu içeren enzimatik süreçlerin anlaşılmasının organik bileşiklerin fitoremediasyonu için kullanılacak bitki türlerinde yapılacak genetik değişikliklere önemli derecede destek vereceği de söylenebilir. Diğer taraftan genetiği değiştirilmiş bitkilerin mikrobiyal enzimleri salgılaması sağlanarak bitkilerin organik bileşiklerin fitoremediasyonundaki etkinlikleri de artırılabilir [59].

Organik kirleticilerin bitki hücrelerindeki temel detoksifikasyon mekanizması hakkında elde edilen veriler, yakın zamanda transgenik bitkilerle yapılacak fitoremediasyon çalışmalarının yönünün belirlenmesini ve daha etkili fitoremediasyon çalışmalarının yapılmasını sağlayacaktır. Sonuç olarak yapılan çalışmalar etkili sonuçlar verdikçe çevre dostu ve uygun maliyetli bir teknoloji olan fitoremediasyonun kullanımı daha da yaygınlaşabilecektir.

KAYNAKLAR

- [1] Kösesakal, T. (2011). Tatlı Su Eğreltisi *Azolla filiculoides* Lam. Kullanılarak Petrol Hidrokarbonlarının Fitoremediasyonu. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [2] Greenberg, B.M., Huang, X.-D., Gerhardt, K., Glick, B.R., Gurska, J., Wang, W., Lampi, M., Khalid, A., Isherwood, D., Chang, P., Wang, H., Wu, S.S., YU, X.-M., Dixon, D.G., Gerwing, P. (2007). *Field and laboratory tests of a multi-process phytoremediation system for decontamination of petroleum and salt impacted soils*, In: Proceedings of the Ninth International In Situ and On-Site Remediation Symposium. Gavaskar, A.R. and Silver C.F., eds., Batelle Press, Columbus, OH.
- [3] Chappell, J., (1997). *Phytoremediation of TCE using Populus*, Status Report prepared for the U.S. EPA Technology Innovation Office under a National Network of Environmental Management Studies Fellowship Compiled June-August 1997, Available on-line at: <http://www.clu-in.org/download/studentpapers/phytotce.pdf>.
- [4] Pilon-Smits, E. (2005). Phytoremediation, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 56, 15-39.
- [5] Newman, L.A., Strand, S.E., Choe, N., Duffy, J., Ekuan, G., Ruszaj, M., Shurtleff, B.B., Wilmoth, J., Heilman, P., Gordon, M.P. (1997). Uptake and biotransformation of trichloroethylene by hybrid poplars. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 1062-1067.
- [6] Shang, T.Q., Newman, L.A., Gordon, M.P. (2003). *Fate of trichloroethylene in terrestrial plants*. In *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*, ed. SC McCutcheon, JL Schnoor, Wiley, New York.

- [7] Burken, J.G., Schnoor, J.L. (1997). Uptake and metabolism of atrazine by poplar trees. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 1399-1406.
- [8] Hughes, J.B., Shanks, J., Vanderford, M., Lauritzen, J., Bhadra, R. (1997). Transformation of TNT by aquatic plants and plant tissue cultures. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 266-271.
- [9] Aprill, W., Sims, R.C. (1990). Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere*, 20, 253-265.
- [10] Olson, P.E., Reardon, K.F., Pilon-Smits, E.A.H., (2003). *Ecology of rhizosphere bioremediation*. In *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*, ed. SC McCutcheon, JL Schnoor, Wiley, New York.
- [11] Harms, H., Bokern, M., Kolb, M., Bock, C. (2003). *Transformation of organic contaminants by different plant systems*, In *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*, ed. SC McCutcheon, JL Schnoor, Wiley, New York.
- [12] Trapp, S., McFarlane, C. (1995). *Plant Contamination: Modeling and Simulation of Organic Processes*, Lewis, Boca Raton, FL.
- [13] Davis, L.C., Erickson, L.E., Narayanan, N., Zhang, Q. (2003). *Modeling and design of phytoremediation*, In *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*, ed. SC, McCutcheon, JL Schnoor, Wiley, New York.
- [14] Susarla, S., Medina, V.F., McCutcheon, S.C. (2002). Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. *Ecol. Eng.*, 18, 647-658.
- [15] Bowen, G.C., Rovira, A.D. (1991). *The rhizosphere—the hidden half of the hidden half*. In *Plant Roots-The Hidden Half*, eds. YWaisel, A Eshel, U Kaffkafi, Marcel Dekker, New York.
- [16] Macek, T., Macková, M., Kás, J. (2000). Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. *Biotechnol. Adv.*, 18, 23-34.
- [17] Kapulnik, Y. (1996). *Plant growth promotion by rhizosphere bacteria*, In *Plant Roots—The Hidden Half*, ed. YWaisel, A Eshel, U Kaffkafi, Marcel Dekker, New York.
- [18] Volkering, F., Breure, A.M., Rulkens, W.H. (1998). Microbiological aspects of surfactant use for biological soil remediation. *Biodegrad.*, 8, 401-417.
- [19] Siciliano, S.D., Germida, J.J. (1998). Mechanisms of phytoremediation: biochemical and ecological interactions between plants and bacteria. *Environ. Rev.*, 6, 65-79.
- [20] Nichols, T.D., Wolf, D.C., Rogers, H.B., Beyrouthy, C.A., Reynolds, C.M. (1997). Rhizosphere microbial populations in contaminated soils. *Wat. Air Soil Pollut.*, 95, 165-178.
- [21] Pradhan, S.P., Conrad, J.R., Paterek, J.R., Srivastava, V.J. (1998). Potential of phytoremediation for treatment of PAHs in soil at MGP Sites. *Soil and Sediment Contam. Int. J.*, 7, 467-480.
- [22] Macková, M., Macek, M., Kucerová, T., Burkhard, J., Triska, J., Demnerová, K. (1998). Plant tissue cultures in model studies of transformation of polychlorinated biphenyls. *Chem. Pap.*, 52, 599-600.
- [23] Leigh, M.B., Fletcher, J.S., Fu, X., Schmitz, F.J. (2002). Root turnover: an important source of microbial substances in rhizosphere remediation of recalcitrant contaminants. *Environ. Sci. Technol.*, 36, 1579-1583.

- [24] Briggs, G.G., Bromilow, R.H., Evans, A.A. (1982). Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionized chemicals by barley. *Pestic. Sci.*, 13, 405-504.
- [25] Ross, S.M. (1994). *Toxic metals in soil-plant systems*, Chichester, Wiley, England.
- [26] Higuchi, K., Suzuki, K., Nakanishi, H., Yamaguchi, H., Nishizawa, N.K., Mori, S. (1999). Cloning of nicotianamine synthase genes, novel genes involved in the biosynthesis of phytosiderophores. *Plant Physiol.*, 119, 471-480.
- [27] Stephan, U.W., Schmidke, I., Stephan, V.W., Scholz, G. (1996). The nicotianamine molecule is made-to-measure for complexation of metal micronutrients in plants. *Biomaterials*, 9, 84-90.
- [28] Küpper, H., Mijovilovich, A., Meyer-Klaucke, W., Kroneck, M.H. (2004). Tissue- and qge-dependent differences in the complexation of cadmium and zinc in the cadmium/zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* (Ganges Ecotype) revealed by x-ray absorption spectroscopy. *Plant Physiol.*, 134, 748-757.
- [29] Cobbett, C.S., Goldsbrough, P.B. (2000). *Mechanisms of metal resistance: phytochelatins and metallothioneins*, In *Phytoremediation of Toxic Metals. Using Plants to Clean up the Environment*, ed. I Raskin, BD Ensley, Wiley, New York.
- [30] Taiz, L., Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. Sunderland, MA: Sinauer.
- [31] Burken, J.G. (2003). *Uptake and metabolism of organic compounds: green-liver model*. In *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*, ed. SC McCutcheon, JL Schnoor, Wiley, New York.
- [32] Hale, K.L., McGrath, S., Lombi, E., Stack, S., Terry, N, Pickering, I.J., George, G.N., Pilon-Smits, E.A.H. (2001). Molybdenum sequestration in *Brassica*: a role for anthocyanins?. *Plant Physiology*, 126, 1391-1402.
- [33] Neuefeind, T., Reinemer, P., Bieseler, B. (1997). Plant glutathione S-transferases and herbicide detoxification. *Biologic. Chem.*, 378, 199-205.
- [34] Sandermann, H. (1994). Higher plant metabolism of xenobiotics: the “green liver” concept. *Pharmacogenetics*, 4, 225-241.
- [35] Marrs, K.A., Alfenito, M.R., Lloyd, A.M., Walbot, V.A. (1995). Glutathione s-transferase involved in vacuolar transfer encoded by the maize gene Bronze-2. *Nat.*, 375, 397-400.
- [36] Wolf, A.E., Dietz, K.J., Schroder, P. (1996). Degradation of glutathione s-conjugates by a carboxypeptidase in the plant vacuole. *FEBS Letters*, 384, 31-34.
- [37] Coleman, J.O.D., Blake-Kalff, M.M.A., Davies, T.G.E. (1997). Detoxification of xenobiotics by plants: chemical modification and vacuolar compartmentation. *Trends Plant Sci.*, 2, 144-51.
- [38] Abhilash, P.C., Jamil, S., Singh, N. (2009). Transgenic plants for enhanced biodegradation and phytoremediation of organic xenobiotics. *Biotechnol. Adv.*, 27, 474-488.
- [39] McCutcheon, S.C., Medina, V.F., Larson, S.L. (2003). *Proof of phytoremediation for explosives in water and soil*, In *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*, ed. SC McCutcheon, JL Schnoor, Wiley, New York.
- [40] Marrs, K.A. (1996). The functions and regulation of glutathione s-transferases in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 47, 127-158.

- [41] McCutcheon, S.C., Schnoor, J.L. (2003). *Overview of Phytotransformation and Control of Wastes*, Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants, S. McCutcheon and J. Schnoor (eds.), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ.
- [42] Barac, T., Taghavi, S., Borremans, B., Provoost, A., Oeyen, L., Colpaert, J.V., Vangronsveld, J., van der Lelie, D. (2004). Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants. *Nat. Biotechnol.*, 22 (5), 583-588.
- [43] McGuinness, M., Dowling, D. (2009). Plant-Associated Bacterial Degradation of Toxic Organic Compounds in Soil. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 6, 2226-2247.
- [44] Kvesitadze, E., Sadunishvili, T., Kvesitadze, G. (2009). Mechanisms of Organic Contaminants Uptake and Degradation in Plants. *World Acad. Sci. Eng. Technol.*, 55, 458-468.
- [45] Wolfe, N.L., Hoehamer, C.F. (2003). *Enzymes used by plants and microorganisms to detoxify organic compounds*, In Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants, ed. SC McCutcheon, JL Schnoor, Wiley, New York.
- [46] 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.
- [47] Campanella, B., Paul, R. (2000). Presence, in the rhizosphere and leaf extracts of zucchini (*Cucurbita pepo* L.) and melon (*Cucumis melo* L.) of molecules capable of increasing the apparent aqueous solubility of hydrophobic pollutants. *Int. J. Phytoremediat.*, 2, 145-158.
- [48] Schwitzguébel, J.-P. (2001). Hype or Hope: The Potential of Phytoremediation as an Emerging Green Technology. *Remediat.*, 11 (4) 63-78.
- [49] Andrew, C.S., David E.C., Ian P.T. (2003). Secondary plant metabolites in phytoremediation and biotransformation. *Trends in Biotechnol.* 21(3), 123-130.
- [50] Tront, J.M. (2004). *Plant Activity and Organic Contaminant Processing by Aquatic Plants*, Thesis (PhD), School of Civil and Environmental Engineering, Georgia Institute of Technology.
- [51] Van Aken, B. (2008). Transgenic plants for phytoremediation: helping nature to clean up environmental pollution. *Trends in Biotechnol.*, 26 (5), 225-227.
- [52] Hadacek, F. (2002). Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.*, 21, 273-322.
- [53] Dixon, R. (2001). Natural products and plant disease resistance. *Nat.*, 411, 843-847.
- [54] Miya, R.K., Firestone, M.K. (2001). Enhanced phenanthrene biodegradation in soil by slender oat root exudates and root debris. *J. Environ. Qual.*, 30, 1911-1918.
- [55] Isidorov, V., Jdanova, M. (2002). Volatile organic compounds from leaves litter. *Chemosphere*, 48, 975-979.
- [56] Meyer, D.G., Capieau, K., Audenaert, K., Buchala, A., Métraux, J.P., Höfte, M. (1999). Nanogram amounts of salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* TNSK2 activate the systemic acquired resistance pathway in bean. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 12, 450-458.
- [57] Yen, K-M., Gunsalus, I.C. (1982). Plasmid gene organization: naphthalene/salicylate oxidation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 79, 874-878.

- [58] Chen, S.-H., Aitken, M.D. (1999). Salicylate Stimulates the Degradation of High-Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by *Pseudomonas saccharophila* P15. *Environ. Sci. Technol.*, 33, 435-439.
- [59] Van Aken B., Correa P.A., Schnoor J.L. (2010). Phytoremediation of Polychlorinated Biphenyls: New Trends and Promises. *Environ. Sci. Technol.*, 44, 2767–2776.