

# ***Tagetes patula* L. Bitkisinin Fitoremediasyon Amaçlı Kullanım Potansiyelinin Su Kültürü Koşullarında Araştırılması**

Hatice DAĞHAN\*

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Eskişehir

\*Sorumlu yazar e-posta (Corresponding author e-mail) : hdaghan@ogu.edu.tr

Geliş tarihi (Received) : 12.05.2016

Kabul tarihi (Accepted): 09.09.2016

## **Öz**

Çeşitli kaynaklardan toprağa katılan kadmiyum (Cd) bitki büyüme ve gelişmesini azaltan ve besin zincirine katıldığı için canlılar için tehlikeli olan toksik bir metaldir. Özellikle ucuz, etkili, çevre dostu ve uygulanması kolay fitoremediasyon yöntemi kullanılarak Cd ile kirlenmiş tarım topraklarının temizlenmesi için hiperakümülatör bitkilerin araştırılması gerekmektedir. Bu amaçla *Tagetes patula* L. (Kadife çiçeği) bitkisinin Cd hiperakümülatör potansiyeli araştırılmıştır. Deneme artan dozlarda (0-5-10-20-40 µM) ve 8CdSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O formunda uygulanmış Cd'un su kültürü ortamında *Tagetes patula* L. bitkisinin Cd akümülatasyonu, bakır (Cu), demir (Fe), çinko (Zn), mangan (Mn) ve indirgenmiş glutatyon konsantrasyonuna etkileri araştırılmıştır. Bitkiler 15 gün süre ile üç paralelli olarak Hoagland besin solüsyonunda kontrollü koşullarda yetiştirilmiştir. Deneme sonunda Cd uygulamalarındaki artışla bitkilerin yeşil aksam ve kök kuru ağırlıklarındaki azalmaya rağmen Cd konsantrasyonlarında ve içeriklerinde (kontentlerinde) bir artış olmuştur. *Tagetes patula* L. bitkisi yeşil aksamında hiperakümülatör değeri (100 mg Cd kg<sup>-1</sup>) 8 katı Cd biriktirmiştir. Bu sonuç *Tagetes patula* L. bitkisinin Cd ile kirlenmiş toprakların fitoremediasyonunda kullanım potansiyelinin yüksek olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ağır metal, fitoremediasyon, indirgenmiş glutatyon, kadmiyum, *Tagetes patula* L.

## **Investigation of Phytoremediation Potential of *Tagetes patula* L. Plant in Hydroponic Culture Conditions**

### **Abstract**

Cadmium entering soil from various sources is a very serious problem for plant and animal growth and development when it participates in food chain. Particularly hyperaccumulator plants should be investigated for phytoremediation of cadmium contaminated agricultural lands so that it is a cheap, efficient and environmentally friendly method. For this purpose, Cd hyperaccumulation potential of *Tagetes patula* L. plant was investigated. The effects of increasing Cd doses (0-5-10-20-40µM) in 8CdSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O form on Cd, copper (Cu), iron (Fe), zinc (Zn), manganese (Mn) and reduced glutathione concentration were investigated in *Tagetes patula* L. plant growing in hydroponic culture media. Plants were grown under controlled conditions in Hoagland nutrient solution as 3 replications for 15 days. At the end of the experiments, despite the reduction in shoot and root dry weights with the increasing Cd treatments, Cd concentrations and contents increased. *Tagetes* plants have accumulated eight fold Cd than hyperaccumulation value (100 mg Cd kg<sup>-1</sup>) in shoots. This result indicated that *Tagetes patula* L. plant had great potential for phytoremediation to clean up Cd-contaminated soils.

**Key Words:** Heavy metal, phytoremediation, reduced glutathion, cadmium, *Tagetes patula* L.

## GİRİŞ

Ağır metaller hava, toprak ve su kirliliğine neden olan başlıca kirleticiler arasında yer alırlar. Amerikan Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Ajansı'nın 2015 yılı verilerine göre kadmiyum (Cd) insan sağlığı açısından en toksik maddeler içinde 7. sırada yer almaktadır (ATSDR, 2015). Kadmiyum, doğal olarak ya da insan faaliyetleri sonucunda toprakta bulunur. Tarımda kullanılan fosforlu gübreler, madencilik faaliyetleri, maden cevherlerinin rafine edilmesi, arıtma çamurları ve endüstriyel faaliyetler sonucu topraklar Cd ile kirlenmektedir (Namdjoyan vd., 2012; Sangwan vd., 2013; Thamayanthi vd., 2013; Dağhan vd., 2014). Bilinçsiz gübreleme, doğal veya antropojenik etkenlerle toprak pH'sının düşmesi Cd'un çözünürlüğünü arttırarak tarım ürünlerine geçişini kolaylaştırır. Ham fosfat kayası her zaman belirli bir düzeyde Cd içerir (Köleli ve Kantar, 2005). Fosfatlı gübrelerin üretilmesi işçi sağlığını olumsuz yönde etkilerken, gübre olarak kullanılması toprağın Cd ile kirlenmesine neden olur (Köleli ve Kantar, 2005; Ertem, 2011).

Diğer yandan bitki tarafından alınan Cd bitkide birçok fizyolojik, biyokimyasal ve strüktürel değişime neden olabilir (Thamayanthi vd., 2013; Mansour vd., 2015). Kadmiyum akümüasyonu mineral besin elementleri alımını değiştirir, bitkinin su dengesi ile etkileşime girerek stomaların açılmasını engeller, Calvin döngüsü enzimlerini, fotosentezi ve karbonhidrat metabolizmasını bozar, antioksidan metabolizmasını değiştirir ve ürün verimini düşürür (Nazar vd., 2012). Ayrıca Cd toksisitesinin bitki besin elementlerinin alınabilirliği, yarayırlılığı ile etkileşimi olduğu ve hatta bazı besin elementlerinin Cd'un toksik stresine karşı bitkiyi koruyucu bir role sahip olduğunu göstermiştir (Nazar vd., 2012; Thamayanthi vd., 2013).

Topraklardan bitkilere oradan da besin zinciri yoluyla insan ve hayvanlara geçen Cd canlılar için oldukça tehlikeli ve toksik etkili bir elementtir. İtai itai hastalığı Cd zehirlenmesine bağlı olduğu saptanan ilk hastalıktır. Bu hastalık, Japonya'nın Toyama bölgesinde ilk kez 1950 yılında Zn madeni atıkları ile kirlenmiş nehir sularıyla sulanan çeltik tarlalarında yetişen Cd içeriği yüksek pirinçle beslenen insanlarda görülmüştür (Ertem, 2011). Canlı sağlığını ciddi anlamda tehdit eden Cd ile kirlenmiş tarım topraklarının arıtımında fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılabilir. Ancak bu yöntemlerden özellikle fiziksel ve kimyasal yöntemler uygulanmalarındaki zorluklar, pahalı ve uzun süren yöntemler olmaları nedeniyle tercih edilmemektedir.

Biyolojik yöntemlerden biri olan fitoremediasyon toprak kirliliğine neden olan metalin, bitki kökleri yolu ile alınarak bitkinin yeşil aksamına taşınması ve biriktirilmesidir. Bu yöntem diğer yöntemlere göre ucuz, etkili, çevre dostu ve kolay uygulanabilir bir yöntemdir (Lal vd., 2008; Lin vd., 2010; Sheoran vd., 1990; Dağhan vd., 2012; Thamayanthi vd., 2013; Eren ve Dağhan, 2014). Fitoremediasyon yönteminde kullanılacak bitkinin; hasat edilebilir aksamında yüksek oranda metal biriktirmesi, biriken ağır metale tolerans göstermesi, hızlı büyüeyebilen, derin köklü ve kolayca hasat edilebilir olması gerekmektedir (Dağhan, 2004; Dağhan, 2007; Dağhan vd., 2012). Doğada hiperakümülatör adı verilen yeşil aksamında normal bitkiden daha fazla metal akümüle eden bitkiler bulunmaktadır. Bu bitkilerin ağır metale göre akümüstasyon kapasiteleri farklıdır. Genel olarak bu bitkiler yeşil aksamlarında kuru kütle esasına göre 10 000 mg kg<sup>-1</sup> Zn ve Mn, 1000 mg kg<sup>-1</sup> Co, Cu, Ni, As ve Se, 100 mg kg<sup>-1</sup> Cd biriktirebilmektedirler (Rungruang vd., 2011). Diğer metallerin akümüstasyon miktarı ile kıyaslandığında Cd'un 100 mg kg<sup>-1</sup> derişiminde biriktirmeleri bu elementin toksik etkisinin ne kadar fazla olduğunu göstermektedir. Bu nedenle Cd ile kirlenmiş toprakların temizlenmesinde iklim, toprak seçiciliği olmayan, hızlı büyüeyen, bol yeşil aksama sahip ve yüksek miktarda Cd' u yeşil aksamında biriktirebilen ve besin zincirine dâhil olmayacak (besin olarak tüketilmeyen) hiperakümülatör bitkilerin araştırılması gerekmektedir.

*Tagetes patula* (Kadife çiçeği) bitkisi estetik olarak güzel bir görünüme sahip, toprak ve iklim seçiciliği az olan, farklı iklim ve toprak koşullarına adapte olmuş (Liu vd., 2011) ve çok kolay yetiştirilebilen tek yıllık çiçek türlerinden biridir (Liu vd., 2011; Priyanka vd., 2013). Bu özelliklerinin yanı sıra Liu vd., 2011 ve Priyanka vd., (2013)'nin bildirdiğine göre bu bitki tarımsal üretim için de faydalı bir bitki olarak kullanılmaktadır. Köklerinden salgıladıkları alfa-tertienil kök uru ve lezyon nematodlarının kontrolünde oldukça etkili bir nematisittir. Allelopatik etki nedeniyle *Tagetes patula*, ürünleri nematodlara karşı koruyabilmek için tamamlayıcı ya da refakatçi bitki olarak bitkisel üretim sisteminde kullanılır (Liu vd., 2011; Priyanka vd., 2013). Besin olarak tüketilen bitkiler, akümüle ettikleri ağır metalin besin zincirine katılma olasılığından dolayı ağır metallerle kirlenmiş toprakların fitoremediasyonu için uygun değildirler (Lin vd., 2010). Dolayısıyla *Tagetes patula* bitkisi tek yıllık bir süs bitkisi olması, yenilen bir

bitki olmaması ile Cd'un olası toksik etkisi minimize edildiği için kirlenmiş topraklarda yetiştirilmesi uygun bir bitkidir (Lal vd., 2008; Lin vd., 2010; Liu vd., 2011).

Bu çalışma ile *Tagetes patula* L. bitkisinin su kültürü koşulunda artan dozlarda Cd uygulamalarına tolerans ve birikim düzeyi ile fitoremediasyon potansiyeli araştırılmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

Denemede *Tagetes patula* L. (Kadife çiçeği) tohumları bitki materyali olarak kullanılmıştır. *Tagetes patula* L. bitkisinin tohumları, torf:perlit karışımı (1:1) ortamında kontrollü koşullarda çimlendirilmiş ve bitkiler 2-3 yapraklı hale gelip hafif köklendikten sonra besin çözeltisine aktarılmıştır. Besin çözeltisinin kompozisyonu; 1 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 3 mM  $\text{KNO}_3$ , 0.25 mM  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 2 mM  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 mM FeEDTA,  $1 \times 10^{-3}$  mM  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $1 \times 10^{-3}$  mM  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $0.25 \times 10^{-3}$  mM  $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $0.25 \times 10^{-3}$  mM  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ ,  $2.5 \times 10^{-2}$  mM KCl,  $1.25 \times 10^{-2}$  mM  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ve pH 5,2'dir.

Her uygulama 3 paralel olarak yapılmış ve Cd besin çözeltisine  $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  formunda 0, 5, 10, 20 ve 40  $\mu\text{M}$  dozlarında uygulanmıştır. Besin çözeltisi her 2-3 günde bir değiştirilmiştir. Bitkiler besin çözeltisi ortamında ve kontrollü koşullarda (16/8 saat ışık/karanlıkta, 25/20 °C sıcaklık ve % 60-70 nem, ışık yoğunluğu 10 klux) 15 gün süre yetiştirilmiştir. Denemeler süresince ağır metal toksisitesi karşısında bitkilerin uğradıkları morfolojik değişimler gözlenmiştir.

## Bitki Örneklerinin Hasadı ve Analizleri

Su kültüründe 15 gün süre ile yetiştirilen bitki örnekleri yeşil aksam ve kök olarak hasat edilmiştir. Kök ve yeşil aksam örnekleri saf suyla yıkandıktan sonra kurutma dolabında 65 °C'de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuş ve bitkilerin kuru ağırlıkları alınarak agat taşlı bitki öğütme değirmeninde öğütülmüştür. Öğütülen bitki örnekleri  $\text{HNO}_3$  ile mikro dalga fırında çözünürleştirilerek toplam element konsantrasyonu (Cd, Cu, Fe, Mn, Zn,) ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry; Varian Series-II)'de belirlenmiştir. Üç paralelli yapılan metal analizlerinin doğruluğu, metal içeriği belli standart sertifikalı bir bitki (Virginia Tobacco Leaves (CTA-VTL-2)) örneğinin aynı yöntemle analiz edilmesi ile kontrol edilmiştir.

## Bitki Örneklerinde İndirgenmiş Glutasyon (-SH) Analizi

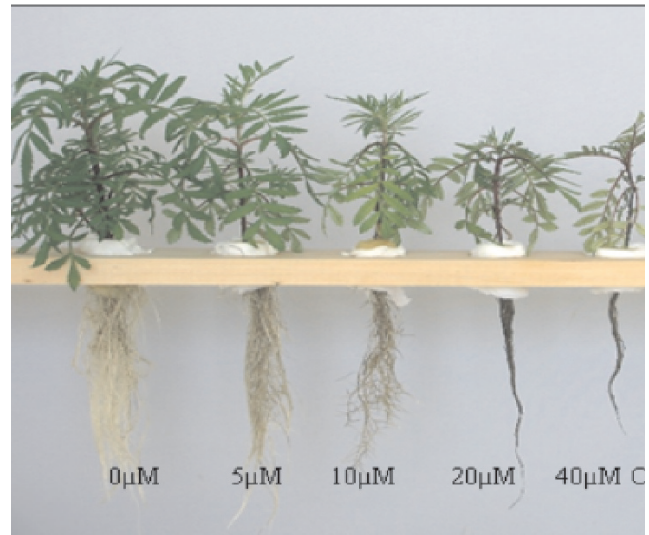
Total SH-grupları Çakmak ve Marschner (1992)'ye göre yapılmıştır. Yaklaşık olarak 0,5 g yaş bitki örneği (yaprak ve kök) 5 mL % 5 meta-fosforik asitle ekstrakte edilerek, 400 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj tüpünün üstünde kalan çözülden 0,5mL çözelti alınarak üzerine fosfat tamponu (pH 7,4) içinde hazırlanmış 0,5 mL DTNB (5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoik asit) ilave edilmiştir. Standart olarak 0–100  $\mu\text{g L}^{-1}$  aralığında redükte glutasyon % 5'lik metafosforik asit (m/v) içinde hazırlanmıştır. Örnekler ve glutasyon ile hazırlanan standartların –SH konsantrasyonları 20 dakika sonra 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede belirlenmiştir.

## İstatistiksel Analizler

Su kültürü sonucunda elde edilen veriler MSTAT-C programı kullanılarak değerlendirilmiş ve ortalamalar arasındaki fark LSD testi uygulanarak gruplandırılmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

Deneme boyunca Cd'un bitkiler üzerindeki etkileri gözlenmiştir. Kontrol bitkilerinin kök ve yeşil aksamı sağlıklı, bol biyomaslı olarak gelişim göstermiştir. Kadmiyum uygulamasındaki artışla birlikte yeşil aksam ve kök büyümesi azalmış, alt yapraklarda başlayan hafif sararma doz artışı ile artmıştır ve hafif kurumalar gözlenmiştir. Denemenin başlangıcında 5  $\mu\text{M}$  Cd uygulanmış bitkilerin yapraklarında çok hafif kloroz, ancak 10-20 ve 40  $\mu\text{M}$  Cd uygulanmış



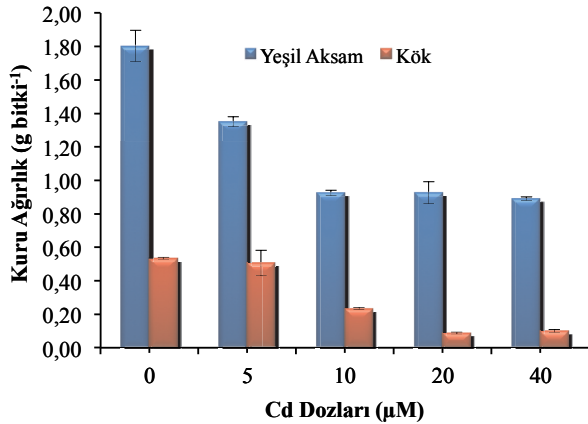
**Şekil 1.** Artan dozlarda Cd uygulamasının *Tagetes patula* L. bitkisinin büyümesi üzerine etkileri

**Figure 1.** The effects of increasing Cd treatments on growth of *Tagetes patula* L. plant

bitkilerde orta ve şiddetli kloroz ve nekrozlar gözlenmiştir. Kontrol bitkisinin kökleri beyaz ve iyi gelişmişken 5 µM Cd uygulamasında başlayan hafif kahverengileşme 40 µM dozunda koyu kahverengine dönüşmüş ve büyüme şiddetli bir şekilde azalmıştır (Şekil 1).

Kadmiyum bitki bünyesinde azot ve karbonhidrat metabolizmalarını değiştirmesi nedeniyle birçok fizyolojik değişikliğe neden olmaktadır. Fotosentezi engellemekte, stomaların kapanmasına ve klorofil biyosentezinin bozulmasına, serbest radikallerin oluşmasına neden olmaktadır (Sheoran vd., 1990; Zengin ve Munzuroğlu, 2005; Mansour vd., 2015). Aşırı Cd dozlarının klorofil biyosentezini bozmasının en önemli nedeni klorofil biyosentezinde görev yapan protoklorofil reduktaz ile aminolevulinik asit sentezini engellemesidir (Zengin ve Munzuroğlu, 2005).

Artan dozlarda Cd uygulamalarının *Tagetes patula* L. bitkisinin yeşil aksam ve kök kuru kütleleri üzerine etkileri Şekil 2 ve Tablo 1-2'de verilmiştir. Kadmiyum dozlarındaki artışla birlikte yeşil aksam ve kök kuru ağırlıklarında azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,01$ ).



**Şekil 2.** Artan dozlarda Cd uygulamalarının *Tagetes patula* L. bitkisinin kuru kütleleri üzerine etkileri

**Figure 2.** The effects of increasing Cd treatments on dry weights of *Tagetes patula* L. plant

**Çizelge 1.** Artan dozlarda Cd uygulamalarının *Tagetes patula* L. bitkisinin yeşil aksam (YA) kuru kütle, Cd, Cu, Fe, Mn ve Zn konsantrasyonları, Cd içeriği ve -SH konsantrasyonları üzerine etkileri

**Table 1.** The effects of increasing Cd treatments on dry weights, Cd, Cu, Fe, Mn and Zn concentrations, Cd content and -SH concentrations of *Tagetes patula* L. plant shoots

Cd µM	Kuru Kütle g bitki <sup>-1</sup>	Cd mg kg <sup>-1</sup>	Cu mg kg <sup>-1</sup>	Cd µg bitki <sup>-1</sup>	Fe mg kg <sup>-1</sup>	Mn mg kg <sup>-1</sup>	Zn mg kg <sup>-1</sup>	-SH µg mL <sup>-1</sup> *
0	1,803a	0,67e	48,54a	1,199 e	492a	274a	72,23 a	1419 e
5	1,350b	854d	17,96b	1153 d	112c	123c	64,35 b	11258 c
10	0,925c	1522c	14,28d	1408 c	160b	167 b	65,96 b	13179 b
20	0,927c	1676b	15,93c	1553 b	128c	171b	53,26 c	10248 d
40	0,890c	3633a	14,56cd	3233 a	75,58d	116 c	44,38 d	18413 a
LSD %5	0,111**	18,89**	1,53**	88,68**	30,03**	34,77**	3,76**	909,92**

\*YA: Yaş Ağırlık \*\*  $p < 0,01$

En yüksek yeşil aksam kuru kütle 1,803 g bitki<sup>-1</sup> ile kontrol bitkisinde en düşük kütle ise 0,89 g bitki<sup>-1</sup> ile 40 µM Cd uygulamasında tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Köklerde ise, en fazla kuru ağırlık 0,533 g bitki<sup>-1</sup> ile kontrol bitkisinde ve en az kuru ağırlık 0,100 g bitki<sup>-1</sup> ile 40 µM Cd uygulamasında elde edilmiştir (Çizelge 2). Benzer sonuçlar Liu vd., (2011) tarafından da elde edilmiştir.

Organik kirleticilerin aksine Cd gibi inorganik kirleticiler doğada bozulmaya uğramazlar ve kalıcıdır. Bu nedenle de ağır metal akümüle edebilen bitkiler tarafından alınarak topraktan taşınabilirler. Yüksek bitkiler Cd stresine karşı oldukça hassastırlar. Yapılan araştırmalar toprakta bulunan yüksek konsantrasyonlardaki Cd'un bitkilerin büyüme, gelişme ve metabolizmasını olumsuz etkilediğini, tohumun çimlenmesini engellediğini göstermiştir (Benavides vd., 2005, Hall, 2002; Mishra vd., 2006; Mohan ve Hosetti, 1997). Kadmiyum stresi sonucunda bitki biyomasında azalmalar farklı süs bitkileri ile (*Krizantem*, *Gladiolus* ve *Tagetes* (Lal vd., 2008; *Tagetes patula* L. (Liu vd., 2011); *Tagetes erecta* L. (Thamayanth vd., 2013; Mansour vd., 2015) yapılan birçok araştırmada da görülmüştür.

Kadmiyum uygulamalarındaki artışla kuru ağırlıklardaki azalmanın aksine bitkilerin kök ve yeşil aksam Cd konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli bir artış görülmüştür ( $p < 0,01$ ). En yüksek Cd konsantrasyonu yeşil aksamda 3633 mg kg<sup>-1</sup> ve kökte ise 22942 mg kg<sup>-1</sup> ile 40 µM Cd uygulama dozunda elde edilmiştir (Şekil 3, Çizelge 1, 2).

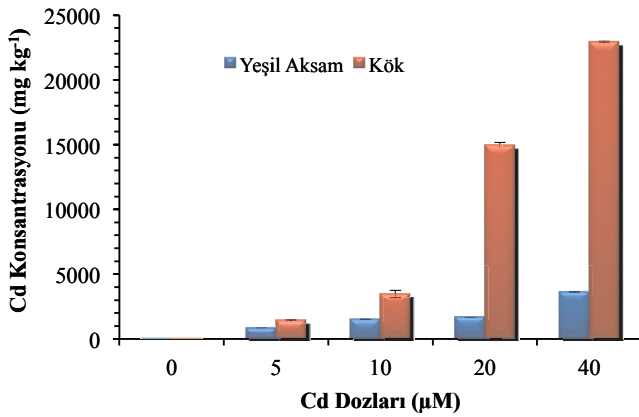
Liu vd., (2011) benzer bir çalışmada 14 gün süre ile 10-25-50 µM CdCl<sub>2</sub> uyguladıkları *Tagetes patula* bitkisinden en fazla Cd konsantrasyonunu yeşil aksamda 450 mg kg<sup>-1</sup> ve kökte ise 3500 mg kg<sup>-1</sup> elde etmişlerdir. Bu çalışmada ise, CdSO<sub>4</sub> formunda en yüksek Cd (40 µM) dozunda Liu vd., (2011)'nin

**Çizelge 2.** Artan dozlarda Cd uygulamalarının *Tagetes patula* L. bitkisinin kök kuru ağırlığı, Cd, Cu, Fe, Mn ve Zn konsantrasyonları, Cd içeriği ve -SH konsantrasyonları üzerine etkileri

**Table 2.** The effects of increasing Cd treatments on dry weights, Cd, Cu, Fe, Mn and Zn concentrations, Cd content and -SH concentrations of *Tagetes patula* L. plant roots

Cd µM	Kuru Kütle g bitki <sup>-1</sup>	Cd mg kg <sup>-1</sup>	Cu mg kg <sup>-1</sup>	Cd µg bitki <sup>-1</sup>	Fe mg kg <sup>-1</sup>	Mn mg kg <sup>-1</sup>	Zn mg kg <sup>-1</sup>	-SH µg mL <sup>-1</sup> *
0	0,533 a	8,57 e	155 b	4,57 d	3229 e	198 a	114	1475 d
5	0,507 a	1436 d	119 c	725 c	4576 d	24,91 b	55,9	2747 c
10	0,233 b	3472 c	167 b	810 c	6523 c	26,81 b	143,95	1208 d
20	0,087 c	14942 b	248 a	1295 b	12784 b	25,00 b	169,3	6604 b
40	0,100 c	22942 a	243 a	2294 a	13605 a	21,42 b	129,63	23089 a
LSD %5	0,072**	369,749**	18,98**	244,76**	802,45**	8,57**	öd	986,18**

\*YA: Yaş Ağırlık \*\* p<0,01 öd: önemli değil



**Şekil 3.** Artan dozlarda Cd uygulamalarının *Tagetes patula* L. bitkisinin kuru kütlesi üzerine etkileri

**Figure 3.** The effects of increasing Cd treatments on dry weights of *Tagetes patula* L. plant

çalışmasından daha fazla Cd akümüasyonu elde edilmiştir. Bitkilerin Cd akümüasyonunun ve içeriğinin, Cd dozlarındaki artışla arttığı sonucunu Lin vd., 2010, Rungruang vd., (2011) tarafından yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir.

Kabata-Pendias (2011), bitki dokularındaki normal Cd değerinin 0,05-0,2 mg kg<sup>-1</sup> ve toksik Cd değerinin ise 5-30 mg kg<sup>-1</sup> olduğunu bildirmiştir. Kadmiyum hiperakümülatörü bitkiler ise bünyelerinde 100 mg kg<sup>-1</sup> Cd biriktirebilmektedirler (Rungruang vd., 2011). *Tagetes patula* L. bitkisi en düşük Cd dozu (5 µM) uygulamasında bile kökte 1436 mg kg<sup>-1</sup> (14 kat) ve yeşil aksamında 854 mg kg<sup>-1</sup> (8 kat) Cd biriktirerek toksik değer ve hiperakümülatör bitkilerin Cd akümüasyon değerinden fazla Cd biriktirmiştir. Fitoremediasyon yönteminde kullanılacak bitkinin özellikle yeşil aksamında yüksek oranda ağır metal biriktirmesi gerekmektedir. Bu durumda *Tagetes* bitkisi hiperakümülatör bitkilerin Cd birikim düzeyinin 8 ile

36 katı fazla oranında dokularında Cd biriktirdiğinden Cd ile kirlenmiş toprakların temizlenmesinde önerilebilecektir. Benzer şekilde Liu vd., (2011) *Tagetes patula* bitkisinin yeşil aksamında 4501 mg kg<sup>-1</sup> Cd biriktirdiğini ve bu değer in standart Cd akümüasyon değerinden (100 mg Cd kg<sup>-1</sup>) daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada bitkilerin konsantrasyonlarının kuru ağırlıkla çarpımları sonucu bitki başına biriktirdikleri Cd içerikleri de hesaplanmıştır. Sonuçlar kuru ağırlıklardaki azalmaya rağmen bitkilerin yeşil aksam ve kök Cd içeriklerinde önemli bir artış olduğunu göstermiştir (Çizelge 1, 2). Yeşil aksamda en yüksek Cd içeriği 3233 µg bitki<sup>-1</sup> ve kökte ise 2294 µg bitki<sup>-1</sup> ile 40 µM Cd dozunda sağlanmıştır.

Artan dozlarda Cd uygulamalarının yeşil aksam ve kökün Cu, Fe, Mn ve Zn konsantrasyonları üzerine etkileri köklerin Zn konsantrasyonu dışında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,01) (Çizelge 1). Kadmiyum uygulamalarında yeşil aksamın Cu, Fe, Mn ve Zn konsantrasyonları kontrol bitkisine göre azalma göstermiştir. Köklerde ise en yüksek Cu (243 mg kg<sup>-1</sup>) ve Fe (13605 mg kg<sup>-1</sup>) 40 µM Cd uygulamasında ve en yüksek Mn konsantrasyonu ise (198 mg kg<sup>-1</sup>) kontrol bitkisinde tespit edilmiştir (Çizelge 2). Thamayanthi vd., (2013)'nin yaptıkları çalışma, sonuçlarımızı desteklemektedir. Araştırmacılar artan dozlarda (0-20-40-60-80 ve 100 mg kg<sup>-1</sup>) Cd uyguladıkları saksılarda Marigold (*Tagetes erecta* L.) bitkisinin Cd alımı ve Cd'un bitkinin besin elementi (N, P, K, Fe, Mn, Cu, Zn) içeriğine etkilerini araştırmışlardır. Toplam 60 günlük saksı denemesi sonunda Cd dozundaki artışla bitkilerin büyümelerinde ve besin elementi içeriklerinde azalmalar olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada Cd uygulaması ile *Tagetes erecta* L. bitkisinin Cu içeriğinin azaldığını bildirmişlerdir.

Yeşil aksam –SH konsantrasyonu Cd uygulanmış dozlarda (5-10-20 ve 40 µM) kontrole (0 µM) oranla önemli bir düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu sonuç Cd'un diğer elementlerle olan rekabetinden kaynaklı olabilir. Ağır metaller, kuraklık, tuzluluk, hava kirliliği gibi stres koşullarında bitkilerde hücrelere zarar veren serbest oksijen radikalleri sentezlenmektedir. Bitkiler sentezlenen bu radikallerin zararını önlemek ve onları zararsız bileşiklere dönüştürmek için antioksidatif savunma mekanizmasına sahiptirler. Bu antioksidantların başında süper oksit dismütaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR) vb. gelmektedir (Cakmak ve Marschner, 1992). Ayrıca SH-bileşikleri (glutatyon), stres durumunda oluşan serbest radikallerle reaksiyona girerek enzimlerin SH (sulfidril) gruplarının okside olmasını önler.

## SONUÇLAR

Bu çalışmada *Tagetes patula* bitkisinin yeşil aksamında Cd akümülyasyon değeri olan 100 mg Cd kg<sup>-1</sup> konsantrasyonundan 36 kat fazla (3633 mg Cd kg<sup>-1</sup>) Cd biriktirebildiği tespit edilmiştir. Bu sonuç *Tagetes patula* bitkisinin Cd ile kirlenmiş toprakların fitoremediasyonunda kullanım potansiyelinin yüksek olduğunu göstermektedir. Diğer yandan *Tagetes patula* bitkisi tek yıllık bir süs bitkisi olması, yenilen bir bitki olmaması ile Cd'un gıda zincirine katılarak toksik etki göstermesi önlenmiş olur. *Tagetes* bitkisinin yeşil aksamında yüksek oranda Cd biriktirebilen akümülyatör bir bitki olması, toprak ve iklim seçiciliğinin olmaması, köklerinden nemotodlara karşı bitkileri koruyan nematisit salgılamaları gibi özelliklerinden dolayı tarımsal üretim için de yetiştirilebilmektedir. Yukarıda değinilen nedenlerden ve elde edilen sonuçlar *Tagetes patula* L bitkisinin hem kirlenmiş toprakların temizlenmesinde kullanım potansiyelinin olduğu hem de tarımsal üretimde refakatçi bitki olarak tercih edilebileceğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

ATSDR (2015). Priority List of Hazardous Substances. Agency for Toxic Substances and Diseases. Available: [http://www.atsdr.cdc.gov/spl/resources/atsdr\\_2015\\_spl\\_detail\\_data\\_table.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/spl/resources/atsdr_2015_spl_detail_data_table.pdf)

Benavides M P, Gallego S M, and Tomaro M L (2005). Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17: 21-34.

Cakmak I, Marschner H (1992). Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, 98: 1222-1227.

Dağhan H (2004). Phytoextraction of heavy metal from contaminated soils using genetically modified plants. RWTH-Aachen Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Institut für Umweltforschung (Biology V), Doktor Arbeit, Aachen-Germany.

Dağhan H (2007). Fitoremediasyon: bitki kullanılarak kirlenmiş alanların temizlenmesi. GAP V. Tarım Kongresi Bildiri Kitabı, 362-367, 17-19 Ekim, Şanlıurfa.

Dağhan H, Köleli N, Uygur V, Arslan M, Önder D, Gökşun V, Ağca N (2012). Kadmiyum ile kirlenmiş toprakların fitoekstraksiyonla arıtımında transgenik tütün bitkisinin kullanımının araştırılması. *Toprak Su Dergisi*, 1:1-6.

Dağhan H, Arslan M, Uygur V, Köleli N, Eren A (2014). The cadmium phytoextraction efficiency of ScMTIII gene bearing transgenic tobacco plant. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 24(3):1974-1978.

Eren A, Dağhan H (2014). Transgenic tobacco-bearing p-cV-ChMTIII GFP gene accumulated more lead compared to wild type. *Polish Journal of Environmental Studies*, 23(2):569-571.

Ertem M (2011). İtai İtai hastalığı. Erişim: <http://www.cevresagliligi.org/cevresagliligi/kutuphane/ii-ulusal-cevre-hekimligi-kongresi/itai-itai-hastal.html>

Hall J L (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53:1-11.

Kabata-Pendias A, (2011). Trace elements in soils and plants, 4th ed. CRC Press, Boca Raton, London, FL.

Köleli N, Kantar Ç (2005). Fosfat kayası, fosforik asit ve fosforlu gübrelerdeki toksik ağır metal (Cd, Pb, Ni, As) konsantrasyonu. *Ekoloji Dergisi*, 14(55):1-5.

Lal K, Minhas P S, Chaturvedi S R K, Yadav R K (2008). Extraction of cadmium and tolerance of three annual cut flowers on Cd-contaminated soils. *Bioresource Technology*, 99:1006-1011.

Lin C C, Lai H Y, Chen Z S (2010). Bioavailability assessment and accumulation by five garden flower species grown in artificially cadmium-contaminated soils. *International Journal of Phytoremediation*, 12:1-14.

Liu Y T, Chen Z-S, Hong C Y (2011). Cadmium-induced physiological response and antioxidant enzyme changes in the novel cadmium accumulator, *Tagetes patula*. *Journal of Hazardous Materials*, 189 724-731.

Mansour H A, El-Maadawy E I, Ahmed H A H, Othman E Z (2015). Effect of different chemical additives on growth and flowering of African Marigold (*Tagetes erecta* L.) grown under cadmium stress. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants* 7(1): 29-38.

Mishra S, Srivastava S, Tripathi R D, Govindarajan R, Kuriakose S V, Prasad M N V (2006). Phytochelatin synthesis and responses of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monneri* L., *Plant Physiology and Biochemistry*, 44:25-37.

Namdjoyan S, Namdjoyan S, Kermanian H (2012). Induction of phytochelatin and responses of antioxidants under cadmium stress in safflower (*Carthamus tinctorius*) seedlings. *Turkish Journal of Botany*, 36:495-502.

Nazar R, Iqbal N, Masood A, Khan M I R, Syeed S, Khan N A (2012). Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American Journal of Plant Sciences*, 3, 1476-1489. Available: <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2012.310178>

Priyanka D, Shalini T, Navneet V K (2013). A brief study on Marigold (*Tagetes Species*): a review. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(1):43-48.

Rungruang N, Babel S, Parkpian P (2011). Screening of potential hyperaccumulator for cadmium from contaminated soil. *Desalination and Water Treatment*, 32(1-3):19-26.

Sangwan P, Mor V, Sakshi, Soni R, Dhankhar R (2013). Toxicity of cadmium in plants. *International Journal of Current Research*, 5(9):2714-2717.

Sheoran I S, Singal H R, Singh R (1990). Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L.). *Photosynthesis Research*, 23:345-351.

Thamayanthi D, Sharavanan P S, Jayaprasad B (2013). Phytoremediating capability biochemical changes and nutrient status of marigold (*Tagetes erecta* L.), plant under cadmium stress. *International Journal of Research in Plant Science*, 3(4): 57-63.

Zengin K F, Munzuroğlu Ö (2005). Fasulye fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L. Strike) klorofil ve karotenoid miktarı üzerine bazı ağır metallerin ( $Ni^{+2}$ ,  $Co^{+2}$ ,  $Cr^{+3}$ ,  $Zn^{+2}$ ) Etkileri. *F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(1):164-172.