



Effects of Sewage Sludge and Chemical Fertilizer Applications on Heavy Metal, Oxidative Stress and Micronutrient Contents of Garden Burnet (*Sanguisorba minor scop.bunyan 80*) in Calcareous Soils

Sibel BOYSAN CANAL^{1*}, Mehmet Ali BOZKURT¹

¹ Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, Department of Soil Science, 65090, Van, Türkiye.

Keywords:	ABSTRACT
Antioxidative enzymes Inorganic fertilizer Organic fertilizer Heavy metal Garden burnet (<i>Sanguisorba minor scop.bunyan 80</i>)	The aim of the study conducted under field conditions was to determine the effects of nitrogen fertilizer and sewage sludge separately applied for 4 years as a fixed field trial, on Garden Burnet (<i>Sanguisorba minor scop.bunyan 80</i>), heavy metal and micronutrient content of the soil and antioxidative enzyme activity in the plant. For this purpose, the study was conducted according to the randomized plots experimental design with 4 replications. The three levels of treatment sludge are as follows: SS1: 2.80 tons da ⁻¹ , SS2: 5.60 tons da ⁻¹ and SS3: 8.40 tons da ⁻¹ . As a chemical fertilizer: nitrogenous fertilizer was applied every year. The three levels of treatment nitrogenous fertilizer are as follows. N ₁ :5, N ₂ :10, and N ₃ :15 kg da ⁻¹ . However, a fixed dose of phosphorus fertilizer 8 kg P ₂ O ₅ da ⁻¹ was applied to the plots where nitrogen was given. According to the results obtained, the application of high (8.40 tons da ⁻¹) and medium (5.60 tons da ⁻¹) levels of sewage sludge has caused an increase in antioxidant enzyme activity against oxidative stress due to the increase in heavy metal content in the plant. In addition, there has been an increase in MDA level, which suggests more oxidative damage. Therefore, the application of sewage sludge at 2.80 tons da ⁻¹ on calcareous soils could be beneficial for increasing the microelement content of the Garden Burnet, and it could also serve as an alternative to nitrogen fertilizers.

Kireçli Topraklarda Arıtma Çamuru ve Kimyasal Gübre Uygulamalarının Çayır Dügmesi'nin (*Sanguisorba minor scop.bunyan 80*) Ağır Metal, Oksidatif Stres ve Mikro Besin Elementi İçeriklerine Etkisi

Anahtar Kelimeler:	ÖZET
Antioksidatif enzimler İnorganik gübre Organik gübre Ağır metal Çayır düğmesi (<i>Sanguisorba minor scop.bunyan 80</i>)	Bu çalışmanın amacı, çakılı tarla denemesi olarak yürütülen ve 4 yıl süreyle uygulanan azotlu gübre ve arıtma çamuru uygulamalarının çayır düğmesi (<i>Sanguisorba minor scop.bunyan 80</i>) bitkisinin gelişimine, bitkinin antioksidatif enzim aktivitesine, bitki ve toprağın ağır metal ve mikro besin elementi içeriğine, etkisini belirlemektir. Tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekrerrürlü yürütüldü. Arıtma çamurunun üç seviyesi sırasıyla: AÇ ₁ : 2.80 ton da ⁻¹ , AÇ ₂ : 5.60 ton da ⁻¹ ve AÇ ₃ : 8.40 ton da ⁻¹ dür. Kimyasal gübre olarak: azotlu gübre her yıl 3 dozda uygulanmıştır. Seviyeleri sırasıyla. N ₁ :5, N ₂ :10 ve N ₃ :15 kg da ⁻¹ dır. Bununla birlikte azot verilen parsellere, sabit dozda fosforlu gübre 8 kg P ₂ O ₅ da ⁻¹ uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, yüksek (8.40 ton da ⁻¹) ve orta düzeyde (5.60 ton da ⁻¹) uygulanan, arıtma çamuru bitkinin ağır metal içeriğindeki artışa bağlı olarak, oksidatif strese karşı antioksidatif enzim aktivitesinde artışa neden olmuştur. Bunun ötesinde oksidatif hasarın arttığını gösteren MDA içeriğinde artış meydana gelmiştir. Buna göre, arıtma çamurunun kireçli topraklarda 2.8 ton da ⁻¹ uygulanması çayır düğmesi bitkisinin mikro element içeriğinde artış için faydalı olabileceği gibi, azotlu gübreye alternatif olabilir.

*Corresponding Author/Sorumlu Yazar: Sibel BOYSAN CANAL (sibelboysan@hotmail.com)

Received: 16/12/2024

Accepted: 21/01/2025

Published: 30/06/2025

How to cite:

Boysan Canal, S., Bozkurt, M.A., (2025). Effects of Sewage Sludge and Chemical Fertilizer Applications on Heavy Metal, Oxidative Stress and Micronutrient Contents of Garden Burnet (*Sanguisorba minor scop.bunyan 80*) in Calcareous Soils. *Agro-Science Journal of Iğdır University*, 3(1), 1-12.



This work is licensed (CC BY-NC-ND 4.0) under Creative Commons Attribution 4.0 International License

GİRİŞ

Tarımsal ürün üretimi yapılırken hasat ile birlikte topraktan bitki tarafından sömürülen besin elementlerinin miktarı önemli miktarda azalmaktadır. Bu eksikliği gidermek için, inorganik gübreler önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle, toprakta eksikliği görülen besin elementlerini, toprağa vermek için inorganik gübreler özel olarak üretilmektedir. Ancak inorganik gübrelerde üretim maliyetinin %80 kadarını kullanan ham maddeler oluşturmaktadır. Ham maddelerin (doğal gaz, ham fosfat, dolomit vs.) tamamına yakını dış alım yoluyla sağlanmaktadır. Bu nedenle ülkemizde inorganik gübre üretim maliyetinin yüksek olması çiftçinin alım gücünü zorlamaktadır (Kacar ve Katkat, 2014). Ayrıca inorganik gübre uygulamasının, toprak koşullarında ve insan beslenmesinde önemli yer tutarak ürün miktarında artış sağlarken, çeşitli ürünler doğal özelliklerini yitirerek kalite parametrelerinde bozulmaya neden olmaktadır (Öner ve Demirkıran, 2023). Arıtma çamuru (biyokatı), atık su arıtma tesislerinde (ASAT) aerobik ve anaerobik yöntemlerle arıtılan evsel, endüstriyel ve yağmur suyu atık sularının katı veya yarı katı yan ürünüdür (Seleiman ve ark., 2020). Tarım arazileri için makro ve mikro besin kaynağı olarak hala kullanılan arıtma çamurunun araziye uygulanması, toprağın fiziksel özelliklerini iyileştirdiği ve toprağın organik madde içeriğini artırdığı için birçok faydalı etkiye sahip olabilir (Bourrioug ve ark., 2014). Arıtma çamurunun bileşimi (kimyasal ve biyolojik) doğrudan atık suyun bileşimine bağlıdır. Arıtma çamurunda önemli miktarda besin bulunması, onu faydalı bir gübre yapar (Zhang ve ark., 2017). Önceki araştırmalar, arıtma çamuru, toprak organik maddesini, N, P içeriğini artırarak, toprağın fiziksel özelliklerini iyileştirerek (örneğin su tutma kapasitesini ve gözenekliliği artırarak ve hacim ağırlığını azaltarak) toprakların fizikokimyasal özelliklerini iyileştirdiğini göstermiştir (Çakır ve Çimrin, 2018; Zuo ve ark., 2019). Bununla birlikte, tarımda kanalizasyon çamuru kullanımı, toprağa ağır metallerin karışması riskiyle karşı karşıya bırakmaktadır. Ağır metaller biyolojik olarak ayrıştırılabilir ve parçalanabilir değildir, bu nedenle toprakta birikebilir ve besin zincirine girebilirler (Kominko ve ark., 2022). Çayır düğmesi, ülkemizin doğal mera alanlarının en çok yetiştirilen bitkisidir. Kışın hayvanların yeşil yeme ihtiyaç duydukları dönemde, erken gelişmesi büyük önem taşıyan yem bitkisidir (İpek ve Sevimay, 2002). Arıtma çamuru, özellikle mera bitkileri için, yem bitkilerinin gelişimi, ve besin elementi alımını bir miktar iyileştirebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı çakılı tarla denemesi koşullarında, kireçli topraklarda, parsellere uygulanan kentsel arıtma çamurunun ve azotlu gübrenin yem bitkisi olan çayır düğmesinin mikro element, ağır metal içeriğine ve antioksidatif enzim aktivitesine, etkilerini belirlemektir.

MATERYAL VE METOT

Araştırma alanı toprağının ve arıtma çamurunun özellikleri Çizelge 1 de verilmiştir. Toprak özellikleri incelendiğinde, araştırma alanı toprağının özellikleri şu şekilde özetlenebilir pH, (suda 1:2.5), 8.50 organik madde:1.77 CaCO₃:% 16.1, yarıyışlı P: 11.1 mg kg⁻¹, DTPA ile ekstrakte edilebilir Fe: 4.02, Mn :8.49; Zn: 0.45 ve Cu: 1.25 mg kg⁻¹ dır. Deneme alanı topraklarının kireç içeriğinin yüksek düzeyde bulunması nedeniyle, sınıflandırma sisteminde kireçli Regosol FAO, (1990) olarak tespit edilmiştir.

Tablo 1. Deneme toprağı ve arıtma çamurunun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.

Deneme Toprağının Özellikleri		Arıtma Çamurunun Özellikleri	
Tekstür	Kumlu-Tın	pH	6.97
Kum (%)	68	Tuz, dS m ⁻¹	4.31
Silt (%)	14	Organik Madde, %	47.2
Kil (%)	18	Toplam N, %	2.35

Tablo 1. Deneme toprağı ve arıtma çamurunun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri (Devamı)

CaCO ₃ (%)	16.1	Toplam P, %	0.45
Tuz(EC), dS m ⁻¹	1.69	Toplam K, %	0.49
pH(1:2.5)	8.49	Toplam metal içeriğı (mg kg⁻¹)	
Organik Madde, %	1.77	Fe	9578
Toplam N, %	0.083	Mn	427
P-Olsen, mg kg ⁻¹	11.1	Zn	795
DTPA ile Ekstrakte edilebilir elementler (mg kg⁻¹)		Cu	84
Fe	4.02	Cr	129
Mn	8.49	Cd	1.37
Zn	0.45	Pb	47
Cu	1.25	DTPA ile Ekstrakte edilebilir elementler (mg kg⁻¹)	
Cr	0.12	Fe	160
Cd	0.019	Mn	20
Ni	0.43	Zn	150
Pb	0.46	Cu	15
		Cd	0.35
		Cr	0.67
		Pb	10.7

Tarla Denemesi

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesine ait araştırma alanında yürütülen çakılı tarla denemesinde tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Çayır düğmesi bitkilerine 4 yıl süresi sonunda 3 doz azotlu gübre (5, 10 ve 15 kg N da⁻¹) ve 3 doz arıtma çamuru(AÇ) (0.7, 1.4 ve 2.1 ton AÇ da⁻¹) uygulamaları yapılmıştır. 4.yıl süreyle azotlu gübre ve arıtma çamuru uygulamaları tamamlandıktan bir yıl sonra 5. yıl da deneme parsellerinden toprak ve bitki örnekleri alınarak, mikro besin elementi, ağır metal, bitkide antioksidatif enzim aktivitesi ve MDA düzeyleri belirlenmiştir.

Tarla denemesinde, parsel büyüklüğü 5m x 3.5 m=17.5 m² olarak kullanılmıştır. Bitkiler 70 cm sıra aralığında yetiştirilmiştir. Azotlu gübre amonyum sülfat formunda (21-0-0) uygulanmıştır. Azotlu gübre verilen parsellere, sabit dozda 8 kg P₂O₅ da⁻¹ düzeyinde fosforlu gübre TSP (triple süper fosfat) formunda verilmiştir. Dört yılın sonunda deneme parsellerine verilen arıtma çamuru dozları sırasıyla: AÇ₁: 2.8 ton da⁻¹, AÇ₂:5,6 ton da⁻¹, AÇ₃:8.4 ton da⁻¹ düzeyindedir.

Arıtma Çamurunun ve Toprak Örneklerinin Analize Hazırlanması:

Arıtma çamuru havada kurutulduktan sonra, toprağın 0-20 cm'lik derinliğine elle karıştırılmak suretiyle uygulanmıştır. Ayrıca, kanalizasyon çamurundaki organik madde kuru yanma yöntemiyle ölçüldü (Nelson ve Sommers, 1982). Çamurdaki toplam P, spektrofotometrik olarak ölçüldü. Çamurdaki toplam metaller, nitrik-hidroklorik sindirimle ekstraksiyonun ardından alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılarak belirlendi (Khan ve Frankland, 1983). Toprak örnekleri 0-20 cm derinlikten alınarak, 2 mm lik elekten geçirilerek hava kuru olacak şekilde analize hazır hale

getirilmiştir. Toprakta tekstür analizi Bouyoucous hidrometre yöntemine göre (Bouyoucous 1951), toprak reaksiyonu (pH) Jackson (1958) tarafından bildirilen 1:2.5 toprak su karışımında ölçülmüştür. Kireç, Hızalan & Ünal (1966) tarafından belirtildiği gibi, Scheibler kalsimetresi kullanılarak saptanmıştır. Toprak organik maddesi Walkley Black yöntemine göre belirlenmiştir (Walkley, 1947). Toplam azot Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiştir (Kacar, 1994). Değişebilir potasyum, kalsiyum, magnezyum, Jackson (1958) tarafından bildirildiği şekilde 1 N amonyum asetat ile çalkalanarak atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile belirlenmiştir. Ekstrakte edilebilir Fe, Zn, Cu, Mn, Cd, Pb ve Ni miktarları DTPA yöntemi ile belirlenmiştir (Lindsay & Norvell 1978).

Bitki Örneklerinin Mikro Element ve Ağır Metal Analizi

Hasat edilen bitki örnekleri, 70°C etüvde kurutulduktan sonra, değirmende öğütülmüştür. Kuru öğütülen bitki örnekleri yaş yakma işlemi uygulanmıştır. Bitki örneklerinde mikro element (Fe, Mn, Zn ve Cu) ve ağır metal analizi (Cd, Pb, Ni ve Cr), konsantrasyonları yaş olarak yakılan bitki örneklerinden elde edilen çözeltinin atomik absorpsiyon spektrofotometresinde (AAS) okutulması ile belirlenmiştir (İbrikçi ve ark., 1994).

Bitki Örneklerinde Enzim Analizleri

Enzimatik ölçümler 0-4°C'de gerçekleştirildi. Taze bitki örnekleri (1 g) 1mM EDTA-Na ve 100 mM KH₂PO₄ içeren 5 mlt 100 mM potasyum fosfat tamponunda (pH 7.6) homojenize edildi. Elde edilen homojenatlarda Glutasyon peroksidaz (GPX) enzim analizi, Randox-Ransel enzim kiti ile 340 nm'de spektrofotometre (Shimadzu UV/VIS-1201) kullanılarak ölçülmüştür. Bu enzim aktivitesi, nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın (NADPH) oksidasyonu sırasında reaksiyondaki değişimin belirlenmesi esasıyla analiz edilmiştir (Fhole & Günzler, 1984). Glutasyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2) aktivitesi, 200 mL ekstrakte eklendikten sonra 340 nm'de 3 dakika boyunca NADPH₂ oksidasyon yöntemi ile belirlendi. (Beutler, 1984). Glutasyon-S-transferaz (GST):glutasyonun 1-kloro-2 ile konjugasyonunu (birleşme) takip ederek spektrofotometrik olarak 25 °C'de ölçüldü, 340 nm'de 4-dinitrobenzen (CDNB) (Mannervik & Guthenberg, 1981).

Lipit Peroksidasyon Tayini

Lipit peroksidasyon, MDA (malondialdehit) birikiminden tespit edilmiştir. MDA aktivitesi (Hodges ve ark. 1999) tarafından bildirilen yöntemine göre yapılmıştır. 0.5 g bitki örneği %0.1 lik TCA (trikloro asetik asit) ile homojenize edilmiştir. Berrak kısımdan 1 mlt alınarak, üzerine 4 mlt %20'lik TCA ile % 0.5'lik TBA (tiobarbütirik asit) karışımından konulmuştur. 95 °C'de 30 dakika su banyosunda bekletilen örnekler, hızla buz banyosunda soğutulup, 15.000 rpm'de 10 dakika santrüfjü edildikten sonra berrak kısımdan alınan örnekler spektrofotometrede 532 nm ve 600 nm dalga boyunda okunarak MDA belirlemesi yapılmıştır.

İstatistik Analizler

Yürütülen tarla denemesi tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Elde edilen tüm bulgulara ait istatistiksel analizleri SPSS 13.0 paket programı ile yapılan uygulamaların önemlilik düzeyleri belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için tek yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırması ile $p < 0.05$ seviyesinde belirlenmiştir. (Düzgüneş ve ark. 1987).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bitkide ve Toprakta Mikro Besin Elementi İçeriği

Yürütülen tarla denemesinden, alınan bitki örneklerinde yapılan analiz sonuçları (Çizelge 2) de verilmiştir. Çayır düğmesi bitkisinin Fe içeriği en düşük değeri kontrol uygulamasında 142 mg kg^{-1} tespit edilmiştir. Bitki Fe içeriği kontrol uygulaması ile AÇ₁ uygulaması (139 mg kg^{-1}), AÇ₂ uygulaması ve azotlu gübre uygulamaları aynı grupta yer almıştır. Ancak en yüksek Fe değeri (AÇ₃) uygulamasında 217 mg kg^{-1} olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). Çayır düğmesi bitkisinin en küçük Zn değeri kontrol uygulamasında 5.80 mg kg^{-1} olarak belirlenmiştir. Kontrol uygulamasını, sırasıyla AÇ₁ uygulaması, AÇ₂ uygulaması ve en yüksek Zn değeri ile (AÇ₃) uygulamasında 11.08 mg kg^{-1} belirlenmiştir (Çizelge2). Bitkide Cu içeriği en düşük 3.13 mg kg^{-1} değeri ile kontrol uygulamasında belirlenmiştir. Kontrol uygulamasını, sırasıyla AÇ₁ uygulaması, AÇ₂ uygulaması takip etmektedir. En yüksek Cu değeri 6.78 mg kg^{-1} ile AÇ₃ uygulamasında bulunmuştur. Çayır düğmesi bitkisinin Mn içeriği 32 mg kg^{-1} ile en küçük değeri kontrol uygulamasında belirlenmiştir. Kontrol uygulamasını AÇ₁ uygulaması ve AÇ₂ uygulaması takip etmektedir. En yüksek Mn miktarı 50 mg kg^{-1} ile AÇ₃ uygulamasında belirlenmiştir. Sonuç olarak, artan düzeylerde uygulanan arıtma çamuru ise, çayır düğmesi bitkisinin Zn ve Mn içeriğinde, kontrol'e göre, önemli artışa neden olmuştur. Azotlu gübrenin bitki mikro besin elementi üzerine önemli sinerjik bir etki bulunamamıştır (Çizelge 2.).

Yürütülen tarla denemesinden, alınan toprak örneklerinde yapılan analizler sonucu, toprak Fe içeriği en düşük 4.53 mg kg^{-1} değeri ile kontrol uygulamasında tespit edilmiştir. Kontrol uygulamasını, AÇ₁ uygulaması ve AÇ₂ uygulaması takip etmektedir. En yüksek Fe değeri 10.78 mg kg^{-1} ile AÇ₃ uygulamasında tespit edilmiştir (Çizelge 2). Toprak Zn içeriği, en düşük değeri 0.26 mg kg^{-1} ile kontrol uygulamasında belirlenmiştir. Kontrol uygulamasını, sırasıyla AÇ₁ uygulaması, AÇ₂ uygulaması takip etmektedir. Toprak Zn içeriği en yüksek 11.10 mg kg^{-1} değeri ile AÇ₃ uygulamasında tespit edilmiştir. Toprak Cu içeriği, en düşük 0.94 mg kg^{-1} değeri ile kontrol uygulamasında tespit edilmiştir. Kontrol uygulamasını, AÇ₁ uygulaması ve AÇ₂ uygulaması takip etmektedir. En yüksek Cu içeriği 2.27 mg kg^{-1} değeri ile AÇ₃ uygulamasında tespit edilmiştir. Toprak Mn içeriği, en düşük 10.68 mg kg^{-1} değeri ile kontrol uygulamasında tespit edilmiştir. Kontrol uygulamasını, AÇ₁ uygulaması, AÇ₂ uygulaması takip etmektedir. En yüksek Mn içeriği 16.30 mg kg^{-1} değeri ile AÇ₃ uygulamasında tespit edilmiştir. Sonuç olarak, toprakta artan düzeylerde uygulanan arıtma çamuru, Fe, Cu, Zn ve Mn içeriğini, kontrol'e göre önemli düzeyde artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Azotlu gübrenin toprak mikro besin elementi üzerine önemli sinerjik bir etki bulunamamıştır.

Yürütülen tarla denemesinde, mikro besin elementleri toprak pH' sına karşı duyarlıdır. Toprak pH'sı 7 nin üzerinde olduğunda Cu toprak komponentleri ile daha sıkı bağ oluşturmaktadır. Bu da bitki alımına engel olur. Yüksek pH' ya sahip topraklarda, demir noksanlığına bağlı demir kloroz oluşumunun nedeni, bikarbonat (HCO_3^-) iyon miktarının yüksek olmasıdır. Buna ek olarak rizosfer pH seviyesinin yüksekliğidir. Çinko için, Zn^{+2} 'nin Ca karbonatlarla güç çözünür bileşikler oluşturmasıdır. Toprak ve rizosfer pH'sını asit yöne doğru değiştiren uygulamalar bitkilerde Fe, Cu, Zn ve Mn alımını artırmaktadır (Kacar, 2019). Kireç içeren, topraklara uygulanan arıtma çamuru toprağın fiziksel ve kimyasal özelliklerin üzerinde önemli etkiye sahiptir. Özellikle arıtma çamuru uygulaması, pH seviyesinde düşüşe neden olmaktadır. Bununla birlikte arıtma çamuru toprağın organik madde içeriğinde önemli düzeyde artışa neden olmaktadır (Çakır & Çimrin, 2018; Zhang ve ark., 2018). Bu çalışmada, arıtma çamurunun artan seviyede uygulanması pH seviyesinin düşmesinin sonucunda, Fe, Zn, Cu ve Mn yarıyışlılığında artışa neden olmuştur (Çizelge 2). Bununla birlikte arıtma çamuru organik madde içeriğinin düşük olduğu topraklara uygulanması inorganik gübrelere göre, toprağın bazı fiziksel ve inorganik özelliklerinde değişime neden olmaktadır (Çakır & Çimrin, 2020; Zafar ve ark., 2020). Toprakta katyon değişimdeki artış ve şellasyonla birlikte, organik maddenin başlıca besin elementi içeriği, bitkide makro ve mikro elementlerin yarıyışlılığında artışa

neden olmaktadır (Eid ve ark., 2017). Benzer olarak yem bitkisi olan sorgum (*sorgum bicolar*) ile yürütülen çalışmada, kontrol ile karşılaştırıldığında artan düzeylerde uygulanan arıtma çamurunun bitkinin Fe, Zn, Cu ve Mn içeriğinde artışa neden olduğu belirlenmiştir (Eid ve ark., 2021). Kullanılan arıtma çamurunun mikro besin element kapsamı da önemlidir. Bitkinin mikro element içeriğini artırabilir. Benzer olarak (Orman ve ark., 2014) artan düzeylerde 20, 40, 60 ve 80 t ha⁻¹ uygulanan arıtma çamuru yonca (*Medicago sativa*) bitkisinde Fe, Zn, Cu ve Mn içeriğinde önemli artışlara neden olmuştur. Ancak kimyasal gübre uygulaması, bitkide ve toprakta tek yönlü olarak eksik olan azot ve fosfor içeriğinde artışa neden olmaktadır. Çayır düğmesi ile yapılan benzer çalışmada, azotlu gübre uygulaması ile arıtma çamurunun çayır düğmesi bitkisinin büyüme ve gelişmesini artırmada aynı etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Akdeniz ve ark., 2022). Bu çalışmada, kireçli topraklarda yetişen çayır düğmesi yem bitkisinin, mikro besin elementi içeriğini arıtma çamuru uygulaması önemli düzeyde artırmıştır. Aynı zamanda, arıtma çamurunun azotlu gübrelemeye göre daha etkili olduğu söylenebilir.

Bitkide ve Toprakta Ağır Metal İçeriği

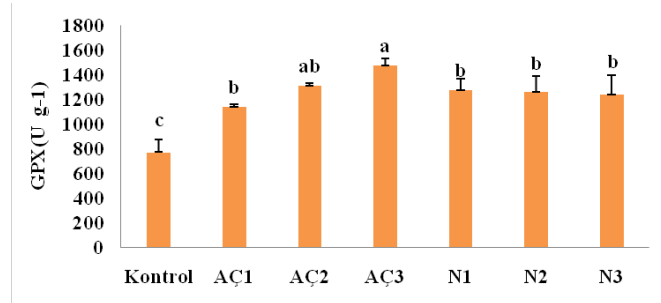
Yürütülen tarla denemesinden, alınan bitki örneklerinde yapılan analizler sonucu, Çayır düğmesi bitkisinin Cd içeriği en düşük 0.01 mg kg⁻¹ değeri ile kontrol uygulamasında tespit edilmiştir. Kontrol uygulamasını, sırasıyla AÇ₁ uygulaması, AÇ₂ uygulaması takip etmektedir. En yüksek değer 0.14 mg kg⁻¹ AÇ₃ uygulamasında belirlenmiştir (Çizelge 3). Çayır düğmesi bitkisinin Pb içeriği en düşük 1.67 mg kg⁻¹ değeri ile kontrol uygulamasında tespit edilmiştir. Kontrol uygulamasını sırasıyla, AÇ₂ uygulaması, AÇ₁ uygulaması, N₃ uygulaması takip etmektedir. N₁ ve N₂ ve kontrol aynı alt grupta yer almaktadır. En yüksek Pb içeriği 2.72 mg kg⁻¹ değeri ile AÇ₃ uygulamasında belirlenmiştir. Bitki Cr içeriği, en düşük 0.01 mg kg⁻¹ değeri ile kontrol uygulamasında belirlenmiştir. Bitki Cr içeriği bakımından, kontrol uygulamasını, sırasıyla AÇ₁ uygulaması, AÇ₂ uygulaması takip etmektedir. En yüksek Cr içeriği 1.37 mg kg⁻¹ değeri ile AÇ₃ uygulamasında belirlenmiştir. N₁, N₂ ve N₃ ve kontrol aynı alt grupta yer almaktadır. Çayır düğmesi bitkisinin Ni içeriği, en düşük 1.38 mg kg⁻¹ değeri ile kontrol uygulamasında belirlenmiştir. Kontrol uygulamasını, sırasıyla, AÇ₂ uygulaması ve AÇ₁ uygulaması takip etmektedir. En yüksek Ni miktarı AÇ₃ uygulamasında belirlenmiştir. N₁, N₂ ve N₃ ve kontrol aynı alt grupta yer almaktadır. Sonuç olarak, kontrole göre, artan düzeylerde uygulanan arıtma çamuru, çayır düğmesi bitkisinin Cd, Pb, Cr ve Ni içeriğinde artışa neden olmuştur. Özellikle AÇ₃ düzeyinde bitkide Cd, Pb, Cr ve Ni içeriğinde önemli artışa neden olmuştur. Benzer olarak yem bitkisi olan sorgum (*sorgum bicolar*) ile yürütülen çalışmada, kontrol uygulamasına göre, yüksek düzeyde uygulanan arıtma çamuru dozları bitkinin Cr ve Pb içeriğini toksik seviyelere çıkarırken, düşük ve orta düzeydeki arıtma çamuru uygulamaları Cr ve Pb içeriğini toksik olmayan seviyelere düşürmüştür (Eid ve ark., 2021). Toprağa artan dozlarda uygulanan arıtma çamuru, toprağın Cd içeriğini Kontrol, AÇ₁, AÇ₂ ve AÇ₃ uygulamaları ile sırasıyla, (en düşük) 0.01 mg kg⁻¹, 0.03 mg kg⁻¹, 0.04 mg kg⁻¹ ve (en yüksek) 0.06 mg kg⁻¹ doğrusal olarak artırmıştır. Azotlu gübre düzeyleri kontrol ile aynı grupta yer almaktadır. Arıtma çamuru uygulaması sonucu, belirlenen Pb miktarları sırası ile en düşük kontrol uygulamasında (0.72 mg kg⁻¹) en düşük düzeyde bulunmuştur. Sırası ile AÇ₁ uygulamasında (0.88 mg kg⁻¹), AÇ₂ uygulamasında (1.99 mg kg⁻¹) ve en yüksek AÇ₃ uygulamasında (1.44 mg kg⁻¹) belirlenmiştir. Azotlu gübre düzeyleri kontrol ile aynı grupta yer almaktadır. Topraktaki Cr içeriği incelendiğinde, en düşük Cr içeriği kontrol uygulamasında (0.03 mg kg⁻¹) en yüksek Cr içeriği AÇ₃ uygulamasında (0.06 mg kg⁻¹) tespit edilmiştir. Arıtma çamuru ve azotlu gübre uygulamaları sonucu toprak Ni içeriği değerleri sırasıyla, 0.57 mg kg⁻¹ (kontrol, en düşük), 0.77 mg kg⁻¹ (AÇ₁), 0.86 mg kg⁻¹ (AÇ₂) ve 1.04 mg kg⁻¹ (AÇ₃, en yüksek) olmuştur. N₁, N₂ ve N₃ ve kontrol aynı alt grupta yer almaktadır. Sonuç olarak, toprak ağır metal içeriğinde, kontrole göre, artan düzeyde uygulanan arıtma çamuru DTPA-Cd, Pb, Cr ve Ni içeriğinde kontrole ve azotlu gübre düzeylerine göre, önemli artışa neden olmuştur (Çizelge 3). Benzer olarak Eid ve ark., (2017) yürüttükleri çalışmada artan düzeylerdeki arıtma çamurunun toprakta Cr, Fe, Ni and Zn

içeriğinde artışa neden olmuştur. Bitki köklerinde artan arıtma çamuru uygulaması ile Ni, Zn, Pb artış gösterdiği bulunmuştur. Arıtma çamuru uygulamasından sonra, toprağa eklenen metal iyonları organik maddenin ayrışmasıyla kontrol edilir. Buna ek olarak, topraktaki ağır metallerin biyoyararlanımı, organik madde'nin mevcut olduğu formla yakından ilişkilidir (Zafar ve ark., 2020). Ağır metallerin hareketliliğini önemli ölçüde etkileyen başlıca diğer toprak unsurlar pH ve toprağın kireç içeriğidir (Bozkurt, 2003; Eid ve ark., 2017). Organik madde'nin çözünmeyen formunda bulunması, metallerin biyoyararlanımını azaltır. Ancak, ağır metallerin yayılabilirliği, çözünür organik madde nedeniyle çözünür metal organik komplekslerinin oluşumu yoluyla artar (Zafar ve ark., 2020). Bu çalışmada olduğu gibi organik madde içeriği yüksek arıtma çamurunun toprağa ilave edilmesi toprak pH seviyesinde düşüşe neden olmaktadır. Bu düşüşün sebebi organik karbon açısından zengin olan arıtma çamurunun mineralizasyon sürecinde hümitik asitlerin serbest hale geçmesi sonucudur (Singh & Agrawal, 2010a; Sharma ve ark., 2017). Hümitik asit, sahip olduğu karboksil ve fenol grupları sayesinde toprakta doğal şellasyonu sağlamaktadır. Bu özelliği ile ağır metallerin çevredeki hareketliliğini düzenler (Wisniewska ve ark. 2016; Canal ve ark., 2022; Canal ve ark, 2023). Bu çalışmada artan düzeyde arıtma çamuru uygulaması, artan düzeyde uygulanan azotlu gübre düzeylerine göre, toprak DTPA-Cd, Pb, Cr ve Ni içeriğini daha fazla artırdığı tespit edilmiştir (Çizelge 3). Kireç içeriği yüksek bu topraklarda, arıtma çamuru uygulamalar, azotlu gübreye göre, toprak ve bitkideki ağır metal konsantrasyonundaki bu artışa neden olsa da toprağa aynı zamanda ilave edilen organik madde ilavesi ile tamponlama kapasitesindeki artışla bitkinin büyüme ve gelişiminin artırmasına neden olur.

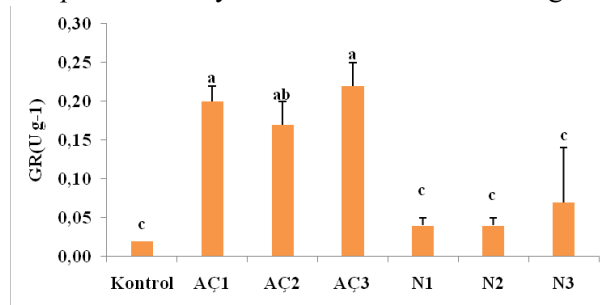
Bitkide antioksidatif enzimler ve MDA aktivitesi

Yapılan bu çalışmada, çayır düğmesi bitkisinin artan oranlarda uygulanan arıtma çamuru ile antioksidatif enzimlerden GPX, GR, GST aktivitesinde azotlu gübre düzeylerine ve kontrole göre önemli artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1. 2. 3). GPX enzim aktivitesi kontrol uygulamasına göre, arıtma çamuru uygulamalarında önemli artış bulunmuştur. Sırasıyla AÇ₁ % 1.48, AÇ₂ % 1.70 ve AÇ₃ % 1.91 oranında, artış meydana gelmiştir. En yüksek GPX enzim aktivitesi 1480 U g⁻¹ değeri ile AÇ₃ uygulamasından elde edilmiştir. En düşük GPX enzim aktivitesi 774 U g⁻¹ değeri ile kontrol uygulamasında bulunmuştur. N₁, N₂ ve N₃ ve kontrol aynı alt grupta yer almaktadır (Şekil 1). GR aktivitesi, kontrol uygulamasına göre, arıtma çamuru uygulamalarında artış meydana gelmiştir. Sırasıyla; AÇ₁ %10, AÇ₂ %8.5 ve AÇ₃ %11 oranında, artış meydana gelmiştir. En yüksek 0.22 U g⁻¹ değeri ile GR enzim aktivitesi AÇ₃ uygulamasında bulunmuştur. En düşük GR aktivitesi 0.02 U g⁻¹ değeri ile kontrolde bulunmuştur. N₁, N₂ ve N₃ kontrol aynı alt grupta yer almaktadır (Şekil 2). GST enzim aktivitesi kontrol uygulamasına göre, AÇ₂ ile %1.16 AÇ₃ ile %1.39 oranında, artış meydana gelmiştir. En yüksek GST enzim aktivitesi 0.43 U g⁻¹ değeri ile AÇ₃ uygulamasında bulunmuştur. En düşük GST aktivitesi 0.30 U g⁻¹ değeri ile kontrolde belirlenmiştir. N₁, N₂ ve N₃ ve kontrol aynı alt grupta yer almaktadır (Şekil 3). MDA aktivitesi en yüksek 578 nmol g⁻¹ değeri ile AÇ₃ uygulamasında bulunmuştur. MDA seviyesi en düşük 174 nmol g⁻¹ değeri ile AÇ₁ ve 161 nmol g⁻¹ değeri ile kontrol uygulamalarında tespit edilmiştir. Azotlu gübre düzeylerinde MDA içeriği kontrol ile aynı alt grupta yer almaktadır (Şekil. 4). Lipit peroksidasyon (MDA düzeyi) büyüklüğü, arıtma çamurunun uygulama düzeyine bağlı olarak, en yüksek arıtma çamuru dozunda AÇ₃ (8.40 ton da⁻¹) meydana gelmiştir (Şekil 4). Uygulama düzeyi oksidatif hasarı etkilediğine göre, arıtma çamuru düzeylerinden AÇ₁ (2.80 tonda⁻¹) düzeyinin oksidatif hasara neden olmadığını göstermektedir. Başka bir çalışmada, uygulanan arıtma çamurunun yonca bitkisinde yüksek oranda uygulanması ile bitkide ağır metallerin birikimi APX, GR ve CAT aktivitelerinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Antolín ve ark., 2010). Bu çalışmada artan seviyelerde arıtma çamuru, azotlu gübreye göre, bitkinin ağır metal içeriğinde artışa neden olmuştur (Çizelge. 3). Yürütülen bir başka çalışmada, arıtma çamuru uygulamasının kabak ve salatalık bitkilerinde artan düzeylerde arıtma çamuru uygulamalarının çamur konsantrasyonu ile ilişkili olarak, enzimlerden; APX, POX ve GST aktivitelerinde artışa olduğu ancak kanalizasyon çamuru toksisitesinin

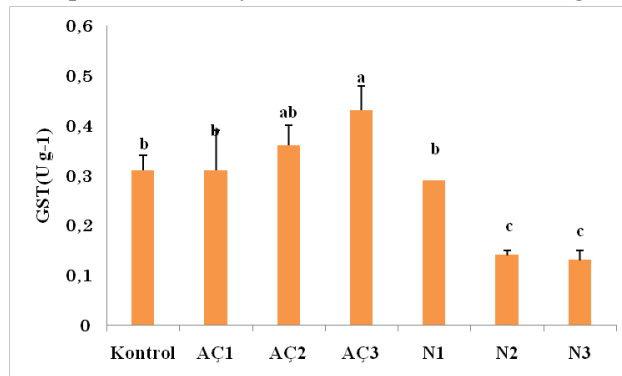
belirtilerinin kabakta hıyardan daha fazla olduğunu belirlemişlerdir (Wyrwicka & Urbaniak, 2016). Arıtma çamurunun uygulanan konsantrasyonun yanı sıra bitkilerin gösterdiği hassasiyet oldukça önemlidir. Ağır metaller aslında güçlü oksitleyici özelliklere sahiptir ve bitki hücrelerinde serbest radikallerin oluşumunu ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini uyarır. Aşırı ROS üretiminin olumsuz etkilerini dengelemek için bitkiler, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon-S-transferaz (GST) ve askorbik asit, glutatyon ve karotenoidler ve fenolikler gibi enzimatik olmayan temizleyiciler gibi antioksidatif enzimlerin artan üretimini içeren ikili bir hücrel savunma sistemini harekete geçirir (Berni ve ark., 2019). Bir başka çalışmada, azotlu gübreye alternatif olarak, çeltik bitkisine uygulanan arıtma çamurunun oksidatif hasar oluşturmadığı tespit edilmiştir. Bu ağır metallerin, bitkideki oksidatif hasara neden olmayan fizyolojik mekanizmalardan kaynaklandığı ifade edilmiştir (Calzone ve ark., 2024). Toksik ağır metal tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif stresin bir sonucu olarak membran hasarı, bitkilerde lipid peroksidasyonda artışla ilişkilendirilmiştir (Singh & Agrawal, 2010b).



Şekil 1. Arıtma çamuru ve azotlu gübre düzeylerinin çayır düğmesi bitkisinde GPX enzim aktivitesine etkisi. Farklı harfler $p > 0.001$ seviyesinde anlamlı farklılıkları göstermektedir.



Şekil 2. Arıtma Çamuru ve azotlu gübre düzeylerinin çayır düğmesi bitkisinde GR enzim aktivitesine etkisi. Farklı harfler $p < 0.0001$ seviyesinde anlamlı farklılıkları göstermektedir.



Şekil 3. Arıtma çamuru ve azotlu gübre düzeylerinin çayır düğmesi bitkisinde GST enzim aktivitesine etkisi. Farklı harfler $p < 0.0001$ seviyesinde anlamlı farklılıkları göstermektedir.

Çizelge 2. Arıtma çamuru ve azotlu gübre uygulamalarının çayır düğmesinde ve toprakta mikro besin elementi içeriklerine ait ortalama değerleri ile standart hataları ve ortalamalar arasındaki farklı gösteren Duncan grupları ve F değerleri (mg kg⁻¹)

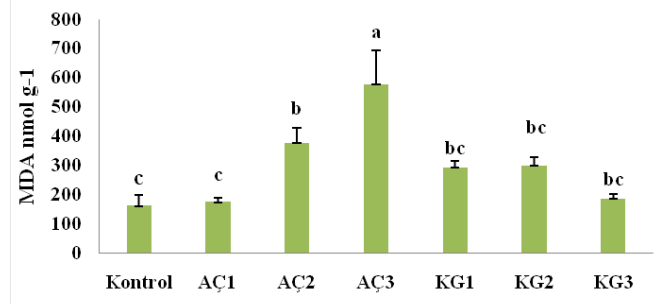
Bitki mikro besin element içeriği					Toprak mikro besin element içeriği			
Uygulamalar	Fe	Zn	Cu	Mn	Fe	Zn	Cu	Mn
Kontrol	142±40.41b	5.80±0.55d	3.13 ± 0.36e	32.0 ± 6.24b	4.53 ± 0.33c	0.26 ±0.03d	0.94±0.08c	10.7 ± 1.28cd
AÇ ₁	139±15.31b	9.14±0.12abc	4.55 ± 0.30bc	43.0 ± 2.04ab	6.13 ± 0.06b	2.68 ±0.72c	1.30±0.03b	12.1 ± 0.40b
AÇ ₂	123±5.50b	10.30±1.44ab	5.30 ± 0.10b	43.3 ± 1.44ab	7.08 ± 0.80b	6.44 ±1.68b	1.47±0.06b	15.1 ± 0.61a
AÇ ₃	217±14.75a	11.08±1.02a	6.78 ± 0.53a	50.0 ± 6.10a	10.8 ± 0.67a	11.1 ±0.07a	2.27±0.16a	16.3 ± 0.32a
N ₁	140±17.06b	8.50±0.12bc	4.40 ± 0.20bcd	36.8 ± 1.93b	4.20 ± 0.31c	0.34 ±0.04d	0.84±0.07c	9.87 ± 0.33cd
N ₂	111±13.34b	7.90±0.67bcd	3.85 ± 0.33cde	32.0 ± 3.34b	4.43 ± 0.24c	0.33 ±0.02d	0.88±0.01c	11.4 ± 0.58cd
N ₃	123±10.96b	7.53±0.75cd	3.47 ± 0.06de	37.3 ± 1.03b	4.18 ± 0.48c	0.37 ±0.04d	0.80±0.04c	10.7 ± 0.71cd
F _{value}	3.14*	4.90*	16.32**	3.09*	25.93***	34.49***	43.91***	12.93***

: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05). AÇ₁:- 2.80 ton da⁻¹, AÇ₂: 5.60 ton da⁻¹ ve AÇ₃: 8.40 ton da⁻¹ N₁5, N₂:10 ve N₃:15 kg da⁻¹. F değerleri ve bu değerlere göre önem sırası p<0.05 ve p<0.01 ** p<0.001***

Çizelge 3. Arıtma çamuru ve azotlu gübre uygulamalarının çayır düğmesi ve toprakta ağır metal içeriklerine ait ortalama değerleri ile standart hataları ve ortalamalar arasındaki farklı gösteren Duncan grupları ve F değerleri (mg kg⁻¹)

Bitki ağır metal içeriği					Toprak ağır metal içeriği			
Uygulamalar	Cd	Pb	Cr	Ni	Cd	Pb	Cr	Ni
Kontrol	0.01 ± 0.00c	1.67 ± 0.12c	0.62±0.10c	1.38±0.31c	0.01±.001c	0.72±0.09bcd	0.03±0.01	0.57±0.10d
AÇ ₁	0.08 ± 0.02b	2.20 ± 0.05ab	1.05±0.06ab	2.50±0.13b	0.03±.001b	0.88±0.05bc	0.04±0.03	0.77±0.07bc
AÇ ₂	0.12 ± 0.03ab	2.15 ± 0.04ab	1.16±0.18ab	2.16±0.23b	0.04±0.01b	1.09±0.13ab	0.04±0.03	0.86±0.05b
AÇ ₃	0.14 ± 0.03a	2.72 ± 0.33a	1.37±0.07a	4.22±0.37a	0.05±0.02a	1.44±0.08a	0.06±0.02	1.04±0.02a
N ₁	0.08 ± 0.01b	1.39 ± 0.25b	0.85±0.25bc	2.04±0.28bc	0.01±.001c	0.80±0.26bcd	0.03±0.01	0.56±0.05d
N ₂	0.08 ± 0.00b	1.69 ± 0.21c	0.93±0.14bc	1.65±0.18c	0.02±.001c	0.56±0.04bcd	0.03±0.01	0.65±0.05cd
N ₃	0.08 ± 0.00b	2.35 ± 0.01ab	1.04±0.03abc	1.95±0.34bc	0.02±.001c	0.48±0.02d	0.04±0.01	0.58±0.03d
F _{value}	5.49**	3.12*	2.90*	11.35***	16.97***	7.48**	ns	9.94**

: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05). AÇ₁:- 2.80 ton da⁻¹, AÇ₂: 5.60 ton da⁻¹ ve AÇ₃: 8.40 ton da⁻¹ N₁5, N₂:10 ve N₃:15 kg da⁻¹ F değerleri ve bu değerlere göre önem sırası p<0.05 ve p<0.01 ** p<0.001***AÇ₁:



Şekil 4. Arıtma Çamuru ve azotlu gübre düzeylerinin çayır düğmesi bitkisinde MDA aktivitesine etkisi. Farklı harfler $p < 0.001$ seviyesinde anlamlı farklılıkları göstermektedir. Farklı harfler anlamlı farklılıkları göstermektedir.

SONUÇ

Sürdürülebilir tarım çerçevesinde kimyasal gübrelerin yarattığı birçok sorunlar nedeniyle bitkinin ihtiyacını doğal yollarla karşılaması ve çevreye zarar vermemesi önem arz etmektedir. Bu açıdan arıtma çamuru doğal bir atık olarak bitki ihtiyacına cevap verebilir. Ancak arıtma çamurunun uzun yıllar uygulanması toprak ve bitkide ağır metal birikimine neden olmaktadır. Arıtma çamurun kökeni önemlidir. Çevresel riskler göz önüne alındığında, özellikle mera bitkileri için, düşük düzeyde arıtma çamuru uygulamak, artan düzeylerde azotlu gübre uygulamasına göre daha etkili olabilir. Mera bitkisi olan, çayır düğmesi (*Sanguisorba minor scop.bunyan 80*) bitkisinin kireç içeriği yüksek olan bu topraklarda, arıtma çamurunun 2.80 ton da^{-1} düzeyi hem ağır metallerden kaynaklanan oksidatif hasar oluşturmaması hemde mikro besin elementi alımını artırmada faydalı olması azotlu gübre yerine kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Akdeniz, H., Keskin, B., & Bozkurt, M. A. (2009). Yield and Metal Concentration in Garden burnet (*Sanguisorba minor Scop. Bunyan 80*) from Application of Sewage Sludge and Chemical Fertilizer. *J Anim Vet Adv*, 8(4), 694 – 701.
- Antolín, M. C., Muro, I., & Sanchez-Díaz, ' M. (2010). Sewage sludge application can induce changes in antioxidant status of nodulated alfalfa plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 73, 436–442.
- Calzone, A., Baldoni, E., Cabassi, G., Toscani, G., Gasparini, A., Casaletta, E., & Picchi, V. (2024). Sewage sludge amendment of rice as a potential alternative to mineral fertilizer: Analyses of physiological, biochemical and molecular mechanisms of plant response. *Plant Physiology and Biochemistry*, 208, 108527.
- Bai, Y., Gu, C., Tao, T., Zhu, X., Xu, Y., Shan, Y., & Feng, G. (2014). Responses of ryegrass (*Lolium perenne* L.) grown in mudflats to sewage sludge amendment. *J. Integr. Agric.* 13, 426–433.
- Berni, R., Luyckx, M., Xu, X., Legay, S., Sergeant, K., Hausman, J.-F., Lutts, S., Cai, G., & Guerriero, G. (2019). Reactive oxygen species and heavy metal stress in plants: impact on the cell wall and secondary metabolism. *Environ. Exp. Bot.*, 161, 98–106.
- Beutler, E. (1984). *Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods*. Third Edition. ed. Orlando, FL: Grune and Startton
- Bouriou, M., Alaoui-Sossé, L., Laffray, X., Raouf, N., Benbrahim, M., Badot, P. M., & Alaoui-Sossé, B. (2014). Evaluation of sewage sludge effects on soil properties, plant growth, mineral nutrition state, and heavy metal distribution in European larch seedlings (*Larix decid*). *Arab. J. Sci. Eng.*, 39, 5325–5335.

- Bozkurt, M. A., & Yarılgac, T. (2003). The effects of sewage sludge applications on the yield, growth, nutrition and heavy metal accumulation in apple trees growing in dry condition. *J. Agric. For.*, 27, 285–292.
- Bouyoucos, G. D. (1951). A. recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soil. *Agronomy J.*, 43, 434-438.
- Canal, S. B., Bozkurt M.A., & Yılmaz, H. (2022). The effect of humic acid on plant growth, phytoremediation and oxidative stress in rapeseed (*Brassica napus L.*) grown under heavy metal stress. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 32(2), 237-248.
- Canal, S.B., Bozkurt, M. A., & Yılmaz, H. (2023). Humic acid ameliorates phytoremediation, plant growth and antioxidative enzymes in forage turnip (*Brassica rapa L.*). *Plant Soil Environment*, 69(12), 567-576.
- Çakır, H. N., & Cimrin, K. M. (2018). Kentsel Arıtma Çamuru Uygulamalarının Etkisi; II. Mısır Bitkisi ve Toprağın Mikro Besin Element ve Ağır Metal İçerikleri Üzerine Etkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(6), 891- 901.
- Çakır, H. N., & Çimrin, K. M. (2020). The effect of sewage sludge applications on the growth of maize (*zea mays L.*) and some soil properties. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(2), 321–327.
- Ding, J., Sun, Y., Xiao, C. L., Shi, K., Zhou, Y. H., & Yu, J. Q. (2007). Physiological basis of different allelopathic reactions of cucumber and figleaf gourd plants to cinnamic acid. *J. Exp. Bot.* 58, 3765–3773.
- Düzgüneş, A., Kesici, O. T., Kavuncu, O., & Gürbüz, F. (1987). Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistik Metodları-II). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 1021, 381.
- Eid, E. M., El-Bebany, A. F., Alrumman, S. A., Hesham, A., Taher, M. A., & Fawy, K.F. (2017). Effects of different sewage sludge applications on heavy metal accumulation, growth and yield of spinach (*Spinacia oleracea L.*). *Int J Phytoremed*, 19, 340–347.
- Eid, E. M., Shaltout, K. H., Alamri, S. A. M., Alrumman, S. A., Hussain, A. A., Sewelam, N., & Ragab, G.A (2021). Monitored sewage sludge application improves soil quality, enhances plant growth, and provides evidence for metal remediation by *Sorghum bicolor L.* *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 2325–2338.
- Elmi, A., Al-Khaldy, A., & Al-Olayan, M. (2020). Sewage sludge land application: balancing act between agronomic benefits and environmental concerns. *J. Clean. Prod.*, 250, 119512.
- FAO, (1990). The Soil map of the world. Rome: FAO-Unesco, 142 pp.
- Fhole, L., & Günzler, W.A. (1984). Assays of Glutathione Peroxidase. *Method Enzymol* 105, 114-121.
- Hızalan, E., & Ünal, E. (1966). Topraklarda Önemli Analizler. *Ank.Ünv. Zir. Fak.,Yayın no.278*.
- Hodges, D. M., Delong, J. M., Forney C. F., & Prange, R. K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604–611.
- İbrikçi, H., Gülüt, Y. K., & Güzel, N. (1994). Gübrelemede bitki analiz tekniği. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 95, Adana 85.
- İpek, A., & Sevimay, C. S. (2002). Çayır düğmesi (*Sanguisorba minor Scop.*)'nde azotlu gübrelemenin yem verimine ve verim özelliklerine etkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 8(4) 274-279.
- Jackson, M. L. (1958). *Soil Chemical Analysis* prentice hall, inc. New Jersey, USA.
- Kacar, B. (1994). Bitki ve toprağın kimyasal analizleri: III Toprak Analizleri. A.Ü.Z.Eğitim Araştırma ve Geliştirme vakfı yayınları, No:3 Ankara 705.
- Kacar, B., & Katkat A. V. (2014). Gübreler ve gübreleme tekniği. Nobel yayım dağıtım.No.21 Ankara 559.
- Kacar, B. (2019). Sürdürülebilir tarımda mikro besin maddeleri. Nobel yayım dağıtım, No:148, Ankara 712

- Karami, M., Afyuni, M., Rezainejad, Y., & Schulin, R. (2009). Heavy metal uptake by wheat from a sewage sludge-amended calcareous soil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 83, 51–61.
- Kominko, H., Gorazda, K., & Wzorek, Z. (2022). Effect of sewage sludge-based fertilizers on biomass growth and heavy metal accumulation in plants. *J. Environ. Manag.*, 305, 114417.
- Laura, F., Tamara, A., Müller, A., Hiroshan, H., Christina, D., & Serena, C. (2020). Selecting sustainable sewage sludge reuse options through a systematic assessment framework: Methodology and case study in Latin America. *J. Clean. Prod.* 242, 118389.
- Lindsay, W.L., & Norvell, W. A. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, 42, 421-428.
- Mannervik, B., & Guthenberg, C. (1981). *Glutathione transferase (human placenta)*. Academic Press, 77, 231-235.
- Orman, S., Ok, H., & Kaplan, M., (2014). Application of sewage sludge for growing Alfalfa, its effects on the macromicronutrient concentration, heavy metal accumulation, and translocation. *Ekoloji*, 23, 10–19.
- Öner, N., & Demirkıran, A. R. (2023). Gübre miktarının azaltılması ve arttırılmasının ayçiçeği verimi, besin madde içerikleri ve gübre maliyetleri üzerine etkisi. *Journal of Agriculture*, 6(2), 155-164.
- Seleiman, M. F., Santanen, A., Mäkelä, P. S. A. (2020). Recycling sludge on cropland as fertilizer – advantages and risks. *Resour. Conserv. Recycl.*, 155, 104647.
- Sharma, B., Sarkar, A., Singh, P., & Singh, R. P. (2017). Agricultural utilization of biosolids: a review on potential effects on soil and plant grown. *Waste Manag.*, 64, 117–132.
- Singh, R.P., & Agrawal, M. (2010a). Effect of different sewage sludge applications on growth and yield of *Vigna radiata* L. field crop: Metal uptake by plant. *Ecol. Eng.* 36, 969–972.
- Singh, R. P., & Agrawal, M. (2010b). Biochemical and Physiological Responses of Rice (*Oryza sativa* L.) Grown on Different Sewage Sludge Amendments Rates. *Bull Environ Contam Toxicol.*, 84, 606–612.
- Sachdev, S., Ansari, S. A., Ansari, M. I., Fujita, M., & Hasanuzzaman, M. (2021). Abiotic stress and reactive oxygen species: generation, signalling, and defence mechanisms. *Antioxidants*, 10(2), 277.
- Walkley, A. (1947). A. critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils: Effect of variation in digestion conditions and inorganic soil constituent. *Soil.Sci.*, 63, 251-263.
- Wyrwicka, A. & Urbaniak, M. (2016). The different physiological and Antioxidative responses of zucchini and cucumber to sewage sludge application. *PLoS One*, 11, e0157782
- Wiszniewska, A., Hanus-Fajerska, E., Muszynska, E., & Ciarkowska, K. (2016). Natural organic amendments for improved phytoremediation of polluted soils: a review of recent progress. *Pedosphere*, 26, 1–12.
- Zafar, S., Farooq, S. H., Qazi, A. T., Jaweed, H., Kadam, A. K., & Lone, F. A. (2020). Evaluation of nutrient status of kale and spinach as affected by sewage sludge and mineral fertilizers. *Journal of Plant Nutrition* 43(17), 2633–44. doi: 10.1080/01904167.2020.1783306.
- Zuo, W., Gu, C., Zhang, W., Xu, K., Wang, Y., Bai, Y., Shan, Y., & Dai, Q. (2019). Sewage sludge amendment improved soil properties and sweet sorghum yield and quality in a newly reclaimed mudflat land. *Sci. Total Environ.*, 654, 541–549.
- Zhang, X., Wang, X. Q., & Wang, D. F (2017). Immobilization of heavy metals in sewage sludge during land application process in China: A review. *Sustainability*, 9 (11), 2020.
- Zhang, H., Ma, G., Sun L., & Li, H. (2018). Effect of alkaline material on phytotoxicity and bioavailability of Cu, Cd, Pb and Zn in stabilized sewage sludge. *Environmental Technology*, 39(17), 2168–2177.