



FİTO-İYİLEŞTİRME VE METAL BİRİKTİREN BİTKİLER

H. ÖLÇER*

Özet

Fito-iyileştirme, son yıllarda uygun bir çevre-temizleme teknolojisi olarak kabul edilen ve üzerinde yoğun bilimsel araştırmaların yapıldığı bir alandır. Aşırı metal biriktirici bitkiler çevredeki metal kirliliğinin iyileştirilmesinde büyük bir potansiyele sahiptir. Bugüne kadar yaklaşık 400 bitki türünün aşırı metal biriktiricisi olduğu rapor edilmiştir. Fakat bu bitkilerin çoğu küçük ve yavaş büyüyen türler olduğundan fito-iyileştirme çalışmaları için uygun değildir. Ayrıca bitkilerde aşırı metal birikiminin altında yatan temel biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler mekanizmalar hakkındaki bilgi eksikliği fito-iyileştirme teknolojisinin ticari amaçlı kullanımını sınırlamaktadır. Bu sınırlamalara rağmen aşırı metal biriktirici bitkiler bitki ıslahı ve genetik mühendisliği çalışmaları için bir gen kaynağı teşkil etmektedir. Genetik mühendisliğinin kullanımıyla metallerin fito-iyileştirmesinde kullanılacak ideal bitki türleri üretilebilir. Bu derlemede fito-iyileştirme teknolojileri ve bu amaçla kullanılacak aşırı metal biriktirici bitki türlerden bahsedilmiş ve bu konudaki biyoteknolojik çalışmalara örnekler verilmiştir.

1. Giriş

Fito-iyileştirme (Phytoremediation), organik veya inorganik kirleticilere maruz kalmış toprak, sediment veya suyun iyileştirilmesi amacıyla bitkilerin kullanımı olarak tanımlanabilir. Fito-iyileştirmede farklı mekanizmaların kullanıldığı dört teknoloji vardır. Bunlar; fitostabilizasyon, bitkilerin kirliliğe maruz kalmış toprakların temizlenmesinden çok stabilize edilmesi için kullanımı; rizofiltrasyon, genellikle sucul ortamların temizlenmesi için bitkilerin kullanımı; fitovolatizasyon, topraktaki belirli metallerin alınımı ve bunların atmosfere verilmesi için bitkilerin kullanımı; ve fito-ekstraksiyon, topraktan metallerin bitkiler tarafından absorbe edilmesi ve kolaylıkla hasat edilebilir gövde de birikimi dir [1, 2, 3].

Fito-iyileştirmede kullanılacak teknolojinin seçimi kirletici veya kirleticilere, bölge koşullarına, ihtiyaç duyulan temizleme seviyesi, kullanılan bitkilere göre farklılık gösterir. Organik maddece zengin ve sadece yüzeysel kirliliğe maruz kalmış büyük alanların temizlenmesinde fito-stabilizasyon tekniği kullanılabilir. Bu amaçla seçilecek bitkiler toprak üstü organlarına metalleri taşımayan, çabuk büyüyen ve yoğun bir kök sistemine sahip bitkiler olmalıdır. Böylece insanlar ve hayvanlar tarafından tüketilme ihtimali göz önüne alınarak insan sağlığı ve çevre için olan riskler azaltılabilir [4, 5].

Anahtar kelimeler; Ağır metaller, Çevre, Transgenik bitkiler.

Kirliliğe maruz kalmış sucul ortamların temizlenmesi için kullanılacak rizofiltrasyon teknolojisinde yine metalleri köklerinde depolayabilecek, kök yüzey alanı büyük, bakımı kolay ve düşük maliyetli olan bitkiler kullanılabilir [6]. Bu teknolojiye kullanılacak bitkiler öncelikli olarak hidroponik ortamda yetiştirilip metallerle kirlenmiş alana ekimleri yapılır. Bitkilerin hidroponik ortamda üretilmesi hem teknik açıdan iyi bir sistem ve tecrübeli eleman gerektiren hemde maliyetli olmasından dolayı fizofiltrasyon teknolojisi ekonomik değildir [5, 6].

Arsenik, Hg ve Se gibi metal kirliticiler çevrede gaz formunda da bulunabilir [7]. Element formdaki bu metalleri topraktan alıp, biyolojik olarak onları gaz formlarına dönüştürerek atmosfere verebilen doğal ya da transgenik bitkilerin kullanıldığı fito-volatizasyon fito-iyileştirme teknolojileri içinde belkide en tartışma konusu olanıdır. Selenyum ve Hg' nin gaz formlarına dönüştürülüp atmosfere verilmesinin çeşitli faydaları vardır. Selenyum' un dimetilselenid gibi gaz formları toprakta bulunan inorganik Se formunun 1/600 – 1/500' ü kadar toksiktir [5, 8]. Ayrıca bu teknolojinin kullanıldığı bölgelerde bitki ekiminden başka bir işleme gerek yoktur. Buna ek olarak erozyonun önlenmesine yardımcı olması ve bitki materyalinin yok edilmesine ihtiyaç duyulmaması gibi yararları da beraberinde getirir. Fakat bu teknolojinin faydalarını savunan araştırmacılar fito-volatizasyonun populasyonun yoğun olduğu merkezlere yakın bölgelerde ve meteorolojik durumdan dolayı gaz formundaki bu elementlerin hızlı bir şekilde yer değiştirmesini sağlayabilecek konuma sahip bölgelerde kullanılmasının uygun olmadığını da belirtmektedir [9].

2. FİTO-EKSTRAKSİYON

Ağır metaller metalik özelliklere sahip atom numarası 20' den büyük elementler olarak tanımlanır ve doğadaki en yaygın ağır metal kirliticileri Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb ve Zn dir. Her ne kadar metaller toprağın doğal bileşenleri olsa da madenlerin çıkarılması ve işlenmesi gibi endüstriyel faaliyetler, egzoz gazları, enerji ve yakıt üretimi, gübre ve pestisit uygulamaları ve evsel atıklardan dolayı toprakta veya suda yüksek oranda kirliliğe sebep olmaktadır [10]. Son yıllarda ağır metallerle kirlenmiş toprakların, toprak üstü organlarında çok fazla miktarda metal biriktirme kabiliyetine sahip olan bitkilerle temizlenmesi yani fito-ekstraksiyon metodu popüler hale gelmiştir [1, 5].

Toprakta toksik seviyede bulunan ağır metallerle tolerans gösteren aynı zamanda bu metalleri gövdesinde yüksek miktarda biriktirebilen çok az sayıda karasal bitki türü bulunmaktadır. Gövdesinde metal biriktirmeyen türlerden 100-1000 kat daha fazla metal biriktirebilen bitkiler aşırı metal biriktirici bitkiler olarak tanımlanır. Diğer bir deyişle yapısında en azından 100 mg g⁻¹ (%0.01 kuru ağırlık) Cd ve As, 1000 mg g⁻¹ (%0.1 kuru ağırlık) Co, Cu, Cr, Ni ve Pb ve 10 000 mg g⁻¹ (%1 kuru ağırlık) Mn ve Zn biriktirebilen bitkiler aşırı metal biriktirici bitkilerdir [8, 11, 12]. Aşırı metal biriktirici bitkilerin bu özelliğinin evrimsel gelişim sırasında patojenlere veya herbivorlara karşı bir savunma mekanizması olarak geliştiği düşünülmektedir [13]. Metal biriktirici bitkiler çoğunlukla yavaş büyüyen, biyokütlesi düşük olan türlerdir. Bunlar dış ortamdaki metal konsantrasyonu çok düşük olsa bile metal biriktirebilir ve çoğunluğunu gövdeye transfer edebilirler [14].

Aşırı metal biriktirici bitkiler içinde en iyi bilineni yüksek seviyede Zn, Cd, Ni ve Co gibi ağır metalleri içeren serpentin ve kalamın topraklarda yaşayabilen *Thlaspi caerulescens*' dir (Şekil 2.1), [15,16]. *Thlaspi caerulescens* gövdesinde aşırı derecede Zn ve Cd biriktirebilir; örneğin gövdedeki Zn miktarının $30\ 000\ \mu\text{g g}^{-1}$ ve Cd miktarının $10\ 000\ \mu\text{g g}^{-1}$ olabildiği bildirilmiştir. Optimal bir ortamda metal biriktirici olmayan bir bitkinin gövdesindeki Zn konsantrasyonu $30\text{-}100\ \mu\text{g g}^{-1}$ arasındadır ve $300\text{-}500\ \mu\text{g g}^{-1}$ toksik seviyelerdir [7]. Diğer bazı metal biriktirici bitkilere örnekler tablo 2.1 de sunulmuştur.



Şekil 2.1 *Thlaspi caerulescens*. 1865 yılında tanımlanan ilk metal biriktirici bitki [16].

Tablo 2.1 Kirliliğe Maruz Kalmış Topraklarda Yetişen ve Gövdesinde Yüksek Miktarda Metal Biriktiren Bazı Bitkiler. (Cunningham ve Ow' dan alınmıştır [3]).

Metal	Bitki Türü	Gövdedeki metal konsantrasyonu (mg kg^{-1} kuru ağırlık)
Cd	<i>Thlaspi caerulescens</i>	1,800
Cu	<i>Ipomoea alpina</i>	12,300
Co	<i>Haumaniastrum robertii</i>	10,200
Pb	<i>Thlaspi rotundifolium</i>	8,200
Mn	<i>Macadamia neurophylla</i>	51,800
Ni	<i>Psychotria douarrei</i>	47,500
Zn	<i>Thlaspi caerulescens</i>	51,600

Fito-ekstraksiyon teknolojisi önemli ekonomik avantajlar önermektedir. Bu yöntemdeki önemli konu, metallerin bitkisel dokulardan tekrar ekonomik bir biçimde elde edilip edilemeyeceği veya artık maddelerin yok edilmesine ihtiyaç

duyulup duyulmayacağıdır. Diğer taraftan bu teknolojinin başarısı pek çok bitki karakterine bağlıdır. Çalışmalarda birikim faktörü (bitkisel dokulardaki metalin topraktaki metale oranı) ve bitki verimliliği (her sezonda hasat edilebilen kg kuru ağırlık) göz önünde bulundurulmalıdır. Alternatif pratik bir uygulama olabilmesi için hızlı büyüyen (>3 ton kuru ağırlık/ha-yıl), kolaylıkla hasat edilebilen ve hasat edilen bölüm içinde yüksek konsantrasyonda metal biriktirebilen (> 1000 mg/kg metal) bitkilere ihtiyaç vardır. Bununla beraber bitkinin zor toprak koşullarını (toprak pH' sı, tuzluluk, toprak yapısı, su içeriği) tolere edebilmesi, yoğun bir kök sistemine sahip olması, bakımı ve üretiminin kolay olması gerekir [2].

Genel olarak bakıldığında fito-iyileştirme çalışmalarında ihtiyaç duyulan tüm bitki özelliklerine sahip bir bitki yoktur. Mükemmel bitkinin bulunması konusunda çalışmalar genetik mühendisliği üzerine yoğunlaşmaktadır. Angiospermler arasında yaklaşık 400 tür aşırı metal biriktirici olarak tanımlanmış olup bu türler biyoteknolojik uygulamalar için önemli bir gen kaynağı oluşturmaktadır [5, 8, 11, 12]. En fazla metal biriktirici bitki türüne sahip familyalar Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunouniaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Poaceae, Violaceae ve Euphobiaceae dir. Brassicaceae 11 cins ve 87 tür ile en çok sayıda taksona sahip familyadır [5]. Prasad ve Freitas [5] tarafından yapılan bir araştırma da metallere tolerans gösteren ve atmosfer, su ve topraktaki toksik metallerin temizlenmesinde kullanılabilen potansiyele sahip bakteri, mikoriza, tatlı su algleri, karayosunları, eğreltiler, likenler, gimnospermler, angiospermler, sucul makrofitler ve ağaç türlerine örnekler verilmiş ve bunlardan angiospermlere ait bazı bilgiler tablo 2.2' de sunulmuştur. Türkiye florası içinde *Alyssum*, *Bornmuelleri*, *Cochlearia*, *Thlaspi* ve *Centaurea* türlerinin Ni biriktirici bitkiler olduğunu gösteren bir çalışma da 2004 yılında bildirilmiştir [17].

2.1 Metal Biriktirme ve Tolerans Mekanizmaları

Her ne kadar aşırı metal biriktirici bitkilerin fito-ekstraksiyon amacıyla kullanımı umut verici bir teknik olsa da bu bitkilerde metallerin biriktirilmesi ve toleransının altında yatan temel fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler mekanizmaların tam olarak anlaşılabilmesi bu tekniğin ticari amaçlı kullanımını sınırlamaktadır. Bu mekanizmaların anlaşılmasına yardımcı olacak çalışmalar model bitkiler olarak kabul edilen Zn, Cd ve Ni biriktirici olan *Thlaspi caerulescens* ve Zn ve Cd biriktirici olan *Arabidopsis* türleri üzerine yoğunlaşmıştır [11, 18, 19, 20, 21]. Fizyolojik çalışmalardan elde edilen veriler metallerin vakuol içinde biriktirilmesinin bir tolerans mekanizması olduğunu göstermektedir. Örneğin Zn biriktiricisi olmayan *Thlaspi arvense*' de absorbe edilen Zn' nin kök hücrelerinin vakuolünde biriktiği, buna karşın *Thlaspi caerulescens*' de ise Zn' nin büyük bir kısmının gövdeye transfer edildiği bildirilmiştir. Aşırı metal biriktiren türlerde önemli diğer bir özellikte absorbe edilen metallerin gövdeye taşınımıdır. *Thlaspi caerulescens*' in *Thlaspi arvense*' ye göre Zn' yi gövdeye 10 kat daha fazla taşıdığı ve bununla bağlantılı olarak ksilemdeki Zn miktarında 5 kat artış olduğu bulunmuştur [22, 23]. Bu da *Thlaspi caerulescens*' de aşırı Zn birikiminin bir sebebinin metallerin alınımı ve taşınımının yüksek olmasından kaynaklandığını göstermektedir [24].

Tablo 2.2 Metallerle tolerans gösteren ve atmosfer, su ve topraktaki toksik metallerin temizlenmesinde kullanılabilecek potansiyele sahip angiosperm türlerine bazı örnekler. (Prasad ve Freitas' dan alınmıştır [5]). Türkiye' de yayılış gösteren türler Tubives' e [25] göre araştırılmış ve “ * ” ile belirtilmiştir.

Angiospermiler	
<i>Acer saccharinum</i>	<i>A. penjwinensis</i>
<i>Aeollanthus biformifolius</i>	<i>A. pinifolium*</i>
<i>Agrostis capillaris*</i>	<i>A. pintodasilave</i>
<i>A. gigantea*</i>	<i>A. pterocarpum*</i>
<i>A. tenuis</i>	<i>A. robertianum</i>
<i>Alyssum heldreichii</i>	<i>A. samariferum*</i>
<i>A. lesbiacum</i>	<i>A. serpyllifolium</i>
<i>A. perenne</i> <i>A. akamasicum</i>	<i>A. singarense</i>
<i>A. alpestre</i>	<i>A. smolikanum</i>
<i>A. americanum</i>	<i>A. stolonifera</i>
<i>A. anatolicum*</i>	<i>A. syriacum*</i>
<i>A. argenteum</i>	<i>A. tenium</i>
<i>A. bertlonii</i>	<i>A. trapeziforme*</i>
<i>A. bertolonii subsp. scutarinum</i>	<i>A. troodii</i>
<i>A. callichroum*</i>	<i>A. virgatum</i>
<i>A. carcium</i>	<i>A. wulfenianum</i>
<i>A. cassium*</i>	<i>A. montanum</i>
<i>A. chondrogynum</i>	<i>A. serpyllifolium sub sp. malacinatum</i>
<i>A. cilicium*</i>	<i>Amaranthus retroflexus*</i>
<i>A. condensatum*</i>	<i>Anthoxanthum odoratum*</i>
<i>A. constellatum*</i>	<i>Arabidopsis halleri</i>
<i>A. corsicum*</i>	<i>A. thaliana*</i>
<i>A. crenulatum*</i>	<i>Arabis stricta*</i>
<i>A. cypricum</i>	<i>Armeria maritima sub. sp. elongata*</i>
<i>A. davisianum*</i>	<i>Arrhenatherum pratensis</i>
<i>A. discolor*</i>	<i>Astragalus racemosus</i>
<i>A. dubertreii*</i>	<i>Avenella flexuosa</i>
<i>A. eriophyllum*</i>	<i>Berkheya coddii</i>
<i>A. euboicum</i>	<i>Betula papyrifera</i>
<i>A. fallacinum</i>	<i>Bornmuellera glabrescens*</i>
<i>A. floribundum*</i>	<i>B. tymphaea</i>
<i>A. giosnanum*</i>	<i>B. baldaccii subsp. baldacci</i>
<i>A. heldreichii</i>	<i>B. baldaccii subsp. markgrafii</i>
<i>A. huber-morathii*</i>	<i>Brassica nigra</i>
<i>A. janchenii</i>	<i>B. pendula</i>
<i>A. lesbiacum</i>	<i>B. pubescens</i>
<i>A. malacitanum</i>	<i>B. rapa*</i>
<i>A. markgrafii</i>	<i>B. campestris</i>
<i>A. masmenaeum*</i>	<i>B. hordeaceus</i>
<i>A. murale*</i>	<i>B. japonica</i>
<i>A. obovatum</i>	<i>B. juncea</i>
<i>A. oxycarpum*</i>	

Tablo 2.2' nin devamı

<i>B. napus</i>	<i>Minuartia hirsute*</i>
<i>B. narinosa</i>	<i>Nardus stricta*</i>
<i>B. pekinensis</i>	<i>Peltaria dumulosa</i>
<i>B. ramosus</i>	<i>P. emarginata</i>
<i>Brachypodium chinensis</i>	<i>Pinus pinaster</i>
<i>Brachypodium sylvaticum*</i>	<i>Podophyllum peltatum</i>
<i>Calystegia sepium*</i>	<i>Polygonum cuspidatum</i>
<i>Cardamine resedifolia</i>	<i>Populus tremula*</i>
<i>Cardaminopsis halleri</i>	<i>Pseudosempervivum aucheri</i>
<i>Carex echinata*</i>	<i>Quercus rubra</i>
<i>Chrysanthemum morifolium</i>	<i>Q. ilex*</i>
<i>Cochlearia aucheri*</i>	<i>Ranunculus baudotti</i>
<i>C. pyrenaica</i>	<i>Rauwolfia serpentina</i>
<i>C. sempervivum*</i>	<i>Ricinus communis*</i>
<i>C. pyrenaica</i>	<i>Rumex hydrolapathum*</i>
<i>Colocasia esculenta*</i>	<i>Salix viminalis*</i>
<i>Cynodon dactylon*</i>	<i>Sebertia acuminata</i>
<i>Danthonia decumbens*</i>	<i>Senecio cornatus</i>
<i>D. linkii</i>	<i>Silene cucubalus</i>
<i>Datura innoxia*</i>	<i>S. compacta*</i>
<i>Deschampsia caespitosa*</i>	<i>S. italica*</i>
<i>Echinochloa colona</i>	<i>Solanum nigrum*</i>
<i>Epilobium hirsutum*</i>	<i>Sorghum sudanense sub. sp.halleri</i>
<i>Eriophorum angustifolium*</i>	<i>S. sudanense sub. sp. maritima</i>
<i>Eschscholtzia californica</i>	<i>Streptanthus polygaloides</i>
<i>Fagopyrum esculentum</i>	<i>Thlaspi alpestre subsp. virens</i>
<i>Fagus sylvatica*</i>	<i>T. arvense*</i>
<i>Festuca rubra*</i>	<i>T. brachypetalum</i>
<i>Fraxinus angustifolia*</i>	<i>T. bulbosum*</i>
<i>Gossypium hirsutum*</i>	<i>T. caerulescens</i>
<i>Haumaniastrum katangense</i>	<i>T. calaminare</i>
<i>Helianthus annuus*</i>	<i>T. cepaeifolium</i>
<i>Holcus lanatus*</i>	<i>T. cepaeifolium subsp. cepaeifolium</i>
<i>Hordelymus europaeus*</i>	<i>T. cypricum</i>
<i>Hybanthus floribundus</i>	<i>T. elegans*</i>
<i>Hydrocotyle umbellata</i>	<i>T. epirotum</i>
<i>Limnobiium stoloniferum</i>	<i>T. goessingense</i>
<i>Lolium multiflorum *</i>	<i>T. graecum</i>
<i>L. perenne*</i>	<i>T. idahoense</i>
<i>Macademia neurophylla</i>	<i>T. japonicum</i>
<i>Medicago sativa*</i>	<i>T. jaubertii*</i>
<i>Melilotus officinalis*</i>	<i>T. kovatsii</i>
<i>Mimulus guttatus</i>	<i>T. liliaceum</i>

Tablo 2.2' nin devamı.

<i>T. limosellifolium</i>	<i>T. rotundifolium var.corymbosum</i>
<i>T. magallanicum</i>	<i>T. stenocarpum</i>
<i>T. montanum</i>	<i>T. sylvium</i>
<i>T. montanum var.montanum</i>	<i>T. tatraense</i>
<i>T. ochroleucum*</i>	<i>T. tymphaeum</i>
<i>T. oxyceras*</i>	<i>T. violascens*</i>
<i>T. parvifolium</i>	<i>Thinopyrum bessarabicum</i>
<i>T. praecox</i>	<i>Trifolium pratense*</i>
<i>T. repens</i>	<i>Viola calaminaria</i>
<i>T. rotundifolium</i>	<i>Viola arvensis*</i>
<i>T. rotundifolium subsp.cepaefolium</i>	

Metallere tolerans mekanizmalarından bir diğeri de metal bağlayıcılarla detoksifikasyondur. Sisteince zengin polipeptitler ve bunlardan sentezlenen fitoşelatlayıcıların *Thlaspi caerulescens* ve *Arabidopsis* de *in vivo* Cd ve As detoksifikasyonu için temel olduğu bildirilmiştir [8, 18, 26].

Diğer taraftan *Thlaspi caerulescens*' de moleküler düzeyde yapılan çalışmalar fizyolojik çalışmalardan elde edilen verileri desteklemektedir. Metal iyonları sahip oldukları yüklerden dolayı hücre membranından serbestçe geçemez ve bu yüzden iyonların hücreye taşınımı membranda bulunan özel taşıyıcı proteinlerle olur. Çinko-taşıyıcı proteinini kodlayan genin (*ZNT1*) mRNA seviyesinin Zn biriktiricisi olan *Thlaspi caerulescens*' in kök ve gövdesinde Zn biriktiricisi olmayan *Thlaspi arvense*' ye göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu da *Thlaspi caerulescens* de Zn taşınımının neden daha fazla olduğunu açıklamaktadır [27]. Ayrıca *ZNT1* geninin dizi analizleri sonucu bu genin diğer bir model bitki olan *Arabidopsis* deki Fe-taşıyıcı proteinini kodlayan gen (*IRT1*) ve Zn-taşıyıcı proteinini kodlayan gen (*ZIP*) ile aynı gruptan olduğu bulunmuştur [18, 24, 28].

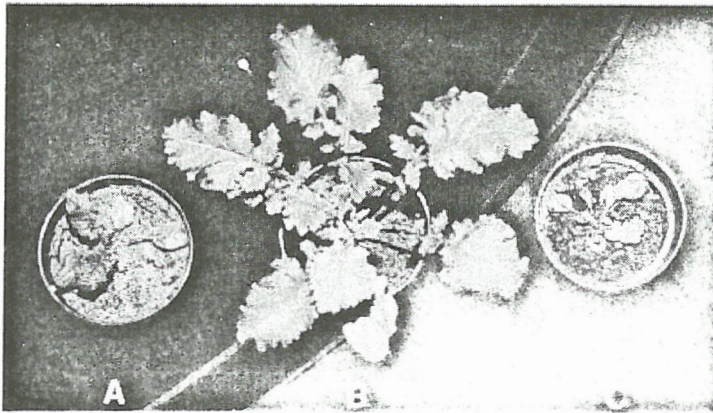
2.1 Bitkilerin Genetik Modifikasyon ile Fito-iyileştirme Özelliklerinin Artırılması

Kadmium, civa, bakır ve çinko gibi metal kirleticiler toksik olmayan formlarına parçalanamaz. Bu metallerle kirletilmiş toprakların geleneksel yolla temizlenmesi yani bölgenin boşaltılması ve toksik özelliğe sahip toprağın başka bir gömülmesi oldukça zor, çevreye daha fazla zarar veren ve maliyetli bir yoldur. Bu noktada bitkilerde metal alınımının ve tolerans özelliklerinin artırılması yönünde yapılan biyoteknolojik çalışmalar başarılı sonuçlar vermektedir. Çevresel restorasyon için biyoteknolojin kullanıldığı en güzel örneklerden bir tanesi belkide metil-civa (MeHg) ile kirletilmiş topraklardan Hg' yi alıp transpirasyon yoluyla atmosfere verme yeteneğine sahip transgenik bitkilerin geliştirilmesidir. Metil-civa kuvvetli bir nörotoksik maddedir. Hg içeren topraklarda sentezlenir ve besin zincirinin içine girme potansiyeli yüksektir. Bu toksini zararsız hale getirmek için yapısında *merB*

(organomercury liyaz) ve *merA* (mercuric ion reductase) bakteriyel genlerini taşıyan transgenik Arabidopsis, *Brassica napus*, kavak ve tütün bitkileri geliştirilmiştir. Bu bitkilerde *merB* C-Hg bağının protonlanmasıyla Hg^{+2} nin oluşum reaksiyonunu katalizler. Daha sonra *merA* Hg^{+2} yi daha az toksik form olan ve terleme ile atmosfere serbest bırakılabilen Hg^0 a dönüştürür. Yapısında *merB* ve *merA* bulunduran bu transgenik bitkilerin kontrol bitkilere oranla $MeHg^+$ e olan toleransının daha fazla olduğu ve $MeHg^+$ nin Hg^+ e dönüşümünün kontrol bitkilere göre 1000 kat daha hızlı olduğu saptanmıştır [29, 30, 31, 32].

Metallerin bitkiler yardımıyla daha az toksik formlara dönüştürülüp atmosfere verilebilmesi yanında bitkilerde metal bağlayıcı maddelerin, örneğin metalotioninler, fito-şelatlayıcılar, veya organik asitler gibi moleküllerin miktarının artırılması da bitkilerin metallere karşı toleransını ve metal birikimini arttırabilecek yollardan bazılarıdır. Metalotioninler tüm organizmalarda bulunan ve molekül ağırlığı yaklaşık 7 kDa olan sisteince zengin metal bağlayıcı proteinlerdir. Benzer şekilde fito-şelatlayıcılar tüm bitkilerde ve bugüne kadar araştırılan bazı fungi ve hayvanlarda bulunan 5-23 aminoasitden oluşan sisteince zengin metal bağlayıcı proteinlerdir. Metalotioninlerin sentezinden sorumlu olan genlerin çeşitli bitkilere aktarılıp normalden daha fazla sentezlendiği durumlarda bu transgenik bitkilerin Cu ve Cd biriktirme yeteneğinin artırıldığı bildirilmiştir [33, 34, 35, 36].

Gen aktarım yöntemleri yanında geleneksel bitki ıslah yöntemleriyle bitkilerin birer metal toplayıcısı olabileceği yönünde yapılan çalışmalar da vardır. Örneğin küçük biyokütleye sahip metal biriktirici bitkilerin somatik hibridizasyonu ile biyokütlesi daha fazla olan hibritler üretilmiştir. Bir Zn toplayıcısı olan *Thlaspi caerulescens* ile *Brassica juncea* somatik hibridizasyonu sonucu yapısında Zn biriktiren biyokütlesi daha fazla olan hibritler geliştirilmiştir (Şekil 2.1.1) [37].



Şekil 2.1.1 Yapısında 800mg/kg kurşun, 328 mg/kg nikel ve 7.600 mg/kg çinko içeren toprakta yetiştirilen somatik hibrit 60/31 (B) ve ataları *Brassica juncea* (A) ile *Thlaspi caerulescens* (C) bitkileri [37].

Arsenik, her ne kadar metal grubundan bir element olmasa da, az miktarlarda bile kansere sebep olabilen veya sinir sistemine zarar verebilen bir elementtir [38]. Yer altı su kaynakları, kömürle çalışan enerji santralleri, endüstriyel ve evsel atıklar, tarımsal insektisit ve zehirler gibi ticari ürünler arseniğin toprak ve suda toksik seviyelerde birikmesine neden olabilir [10]. Dhankher et al., [39] tarafından yapılan bir çalışma ile *Escherichia coli*’ den arsenat’ ın daha toksik bir madde olan arsenit’ e çevrilmesinden sorumlu olan iki enzimi (arsenat redüktaz ve glutamilsistein sentetaz) kodlayan genler (ArsC ve Y-ECS) *Arabidopsis thaliana* bitkisine aktarılmıştır. Transgenik *Arabidopsis thaliana* bitkilerinin arseniğe olan toleransının normal bitkilerden daha fazla olduğu bulunmuş, taze gövde ağırlığının 4-17 kat ve gram materyal başına biriktirilen arsenik miktarının ise 2-3 kat daha fazla olduğu belirtilmiştir. Yakın gelecekte bu genin biyokütlesi daha fazla olan türlere aktarılması ile bu bitkiler toprağı temizleme makinaları olarak kullanılabilir. Burada dikkat edilmesi gereken tek konu toksik vejetasyonun yakından kontrol edilmesi ve hayvanlardan tarafından yenilmesinin önlenmesidir.

3. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bitkiler bizim en ucuz ürünlerimizin başında gelir. Bir hektarlık bir alanda birkaç yüz dolar harcayacak ettiğiniz soya fasülyesi veya mısır sonunda 20 tonluk bir verim getirebilir. Bitki büyütme eşit ağırlıkta bakteriyel biyokütle elde etmekten yüzlerce defa daha ucuza mal olur. Bunun ana sebebi de bitkilerin bakterilerden farklı olarak steril koşullara ve organik maddelere ihtiyaç duymaması, çoğaltımının ve hasadının daha kolay olmasıdır. Fakat yakın bir geçmişe kadar biyoyileştirme araştırmalarında bakteriler bitkilerden daha fazla ilgi odağı olmuştur. Günümüzde ise gerek aşırı metal biriktirici olarak tanımlanan tür sayısının gittikçe artması gerekse biyoteknolojideki ilerlemeler araştırmaları bitkiler ve fito-iyileştirme üzerine odaklanmıştır. Ülkemizde metal biriktirici bitki türleri üzerine yapılan çalışmalar varsada bunlar oldukça yetersizdir.

Fito-iyileştirme popüler bir konu olmasına rağmen teknik sınırlamaları da oldukça fazladır. Bu teknolojinin pratik ve ekonomik bir uygulama olmasında özellikle kullanılacak bitkinin sahip olması gereken karakterleri oldukça fazladır. Ayrıca topraktaki metal seviyesinin kabul edilebilir bir düzeye gelmesi için bitki ekim ve hasadının birkaç defa tekrarlanması gerekebilir. Bu da hem uygulama süresini hemde tehlikeli atık olarak kabul edilebilecek bitki materyel miktarını artırmaktadır. Fakat bitkilerin yok edilmesi yerine özel endüstriyel tesislerde işlenerek bitkinin yapısında biriktirdiği metallerin geri kazanımı fito-iyileştirme için ödenen maliyetin geri dönüşümünü sağlayabilir.

Toksik maddelerin biyolojik olarak parçalanmasının artırılması için genetik mühendisliğinin sahip olduğu potansiyel 1980’ lerden beri bilinmektedir. Başlangıç olarak transgenik bakterilerin çevresel problemlerin iyileştirilmesi amacıyla kullanımının büyük faydalar sağlayacağı düşünülmüştür. Fakat bu metot iki sebepten dolayı başarısızlığa uğramıştır. Bunlar, transgenik mikroorganizmaların toprak veya su ortamında sabit olmayan yaşamları ve çevreye bırakılmasından duyulan endişedir. Bu endişenin sebebi bakterilerin boyut olarak çok küçük olması,

yüksek üreme yeteneğine sahip olması ve farklı prokaryotlar arasında gen transferinin olabileceğinden dolayıdır. Bu problem mikroorganizmalar yerine transgenik bitkilerin çevre temizleme biyosistemleri olarak kullanılmasıyla ortadan kalkabilir. Çünkü bitkiler birincil olarak boyutlarından dolayı mikroorganizmalardan çok daha kolay kontrol edilebilir. Ayrıca steril bitkilerin seçimi ve çiçeklenmeden önce bitkilerin hasat edilmesi fito-iyileştirme amacıyla ekilen transgenik bitkilerden diğer bitkilere kontrolsüz gen sıçramasını önleyebilir. Neticede bitkilerin kullanımıyla genetiksel olarak değiştirilmiş çevreyi temizleme sistemleri ortaya çıkabilir. Ayrıca bitki temelli sistemler halk tarafından çok daha kolaylıkla kabul edilir. Fakat bu ideal bitkilerin fito-iyileştirmede esas olan pratik ve ekonomik bir uygulama olup olmayacağını zaman gösterecektir.

KAYNAKÇA

- [1] Rugh, C.L. (2004). Genetically engineered phytoremediation: one man's trash is another man's transgene. *Trends in Biotechnology*, 22(10): 496-498.
- [2] Schnoor, J.L. and Dee, P.E. (1997). Phytoremediation. *GWRTAC Series, Technology Evaluation Report*, TE-98-01, October 1997.
- [3] Cunningham, S.D. and Ow, D.W. (1996). Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology*, 110: 715-719.
- [4] Cunningham, S.D., Berti, W.R. and Huang, J.W. (1995). Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology*, 13 (9): 393-397.
- [5] Prasad, M.N.V. and Freitas, H.M. (2003). Metal hyperaccumulation in plants – Biodiversity Prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*, 6(3): 285-321.
- [6] Dushenkov, V., Kumar, P.B.N.A., Motto, H. and Raskin, I. (1995). Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environmental Science and Technology*, 29: 1239-1245.
- [7] Marschner, H. (1997). Selenium. In *Mineral nutrition of higher plants*, 2nd ed., p 430-433, Academic Press.
- [8] Pilon-Smits, E. And Pilon, M. (2002). Phytoremediation of metals using transgenic plants. *Critical Reviews in Plant Science*, 21(5): 439-456.
- [9] Heaton, A.C.P., Rugh, C.L., Wrang, N. And Meagher, R.B. (1998). Phytoremediation of mercury- and methylmercury-polluted soils using genetically engineered plants. *Journal of Soil Contaminants*, 7(4): 497-510.

- [10] Prasad, M.N.V and Strzatka, K. (2002). *Physiology and Biochemisty of Metal Toxicity in Plants*. Kluwer Academic Publishers, p. 111-147.
- [11] Cobbett, C. (2003). Heavy metals and plants- model systems and hyperaccumulators. *New Phytologist*, 159: 289-293.
- [12] Guerinot, M.L. and Salt, D.E. (2001). Fortified foods and phytoremediation. Two sides of the same coin. *Plant Physiology*, 125: 164-167.
- [13] Ghaderian, Y.S.M., Lyon, A.J.E and Baker, A.J.M. (2000). Seedling mortality of metal hyperaccumulator plants resulting from damping off by *Pythium* spp. *New Phytologist*, 146 (2): 219-224.
- [14] Ebbs, S.D., Lasat, M.M., Brady, D.J., Cornish, J., Gordon, R. and Kochian, L.V. (1997). Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated site. *Journal of Environmental Quality*, 26: 1424-1430.
- [15] Escarré J., Lefévre, C., Gruber, W., Leblanc, M., Lepar, J., Rivière, Y. and Delay, B. (2000). Zinc and cadmium hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens* from metalliferous and non metalliferous sites in the mediterranean area: implications for phytoremediation. *New Phytologist*, 145: 429-437.
- [16] Surridge, C. (2003). A Taste for Heavy Metal, *Nature Science Update*, 28 July 2003.
- [17] Reeves, R.D. and Adıgüzel, N. (2004). Rare plants and nicel accumulators from Turkish serpentine soils, with special refence to centaurea species. *Turkish Journal of Botany*, 28: 147-153.
- [18] Cobbet, C.S. and Meagher, R.B. (2002). Arabidopsis and genetic potential for the phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. In *The Arabidopsis Book*, eds. C.R.

- Somerville and E.M. Meyerowitz, American Society of Plant Biologists.
- [19] Marquès, L., Cossegal, M., Bodin, S., Czernic, P. And Lebrun, M. (2004). Heavy metal specificity of cellular tolerance in two hyperaccumulating plants, *Arabidopsis halleri* and *Thlaspi caerulescens*. *New Phytologist*, 164: 289-295.
- [20] Papayon, A. and Kochian, L.V. (2004). Identification of *Thlaspi caerulescens* genes that may be involved in heavy metal hyperaccumulation and tolerance. Characterization of a novel heavy metal transporting ATPase. *Plant Physiology*, 136: 3814-3823.
- [21] Cosio, C., Martinoia, E. and Keller, C. (2004). Hyperaccumulation of cadmium and zinc in *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri* at the leaf cellular level. *Plant Physiology*, 134: 716-725.
- [22] Lasat, M.M., Baker, A.J.M. and Kochian, L.V. (1996). Physiological characterization of root Zn^{+2} absorption and translocation to shoots in Zn hyperaccumulator and non-accumulator species of *Thlaspi*. *Plant Physiology*, 112: 1717-1722.
- [23] Lasat, M.M., Baker, A.J.M. and Kochian, L.V. (1998). Altered zinc compartmentation in the root symplasm and stimulated Zn^{+2} absorption into the leaf as mechanisms involved in zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiology*, 118: 875-883.
- [24] Lasat, M.M., Pence, N.S., Garvin, D.F., Ebbs, S.D. and Kochian, L.V. (2000). Molecular physiology of zinc transport in Zn accumulator *Thlaspi caerulescens*. *Journal of Experimental Botany*, 51(342): 71-79.
- [25] www.tubitak.gov.tr/tubives
- [26] Cobbett, C.S. (2000). Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiology*, 123: 825-832.

- [27] Pence, N.S., Larsen, P.B, Ebbs, S.D., Letham, D.L.D, Lasat, M.M., Garvin, D.F., Eide, D. And Kochian, L.V. (2000). The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 97: 4956-4960.
- [28] Grotz, N., Fox, T.C., Connolly, E., Park, W., Guerinot, M.J. and Eide, D. (1998). Identification of a family of zinc transporter genes from *Arabidopsis* that respond to zinc deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 95: 7220-7224.
- [29] Rugh, C.L., Wilde, D., Stack, N.M., Thompson, D.M., Summers, A.O., and Meagher, R.B. (1996). Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial *merA* gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 93, 3182-3187.
- [30] Rugh, C.L., Senecoff, J.F., Meagher, R.B., and Merkle, S.A. (1998). Development of transgenic yellow-poplar for mercury phytoremediation. *Nature Biotechnology*, 16, 925-928.
- [31] Bizily, S., Rugh, C.L., Summers, A.O., and Meagher, R.B. (1999). Phytoremediation of methylmercury pollution: *merB* expression in *Arabidopsis thaliana* confers resistance to organomercurials. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 96, 6808-6813.
- [32] Bizily, S., Rugh, C.L., and Meagher, R.B. (2000). Efficient phytodetoxification of the environmental pollutant methylmercury by engineered plants. *Nature Biotechnology*. 18, 213-217.
- [33] Hasegawa, I., Terada, E., Sunairi, M., Wakita, H., Shinmachi, F., Noguchi, A., Nakajima, M. and Yazaki, J. (1997). Genetic improvement of heavy metal tolerance in plants by transfer of the yeast metallothionein gene (CUP1). *Plant Soil*, 196: 277-281.

- [34] Zhu, Y., Pilon-Simits, E.A.H., Jouanin, L. and Terry, N. (1999a). Overexpression of glutathione synthetase in *Brassica juncea* enhances cadmium tolerance and accumulation. *Plant Physiology*, 119: 73-79.
- [35] Zhu, Y., Pilon-Simits, E.A.H., Tarun, A., Weber, S.U., Jouanin, L. and Terry, N. (1999b). Cadmium tolerance and accumulation in Indian mustard is enhanced by overexpressing γ -glutamylcysteine synthetase. *Plant Physiology*, 121: 1169-1177.
- [36] Ernst, W.H. (2000). Evaluation of metal hyperaccumulation and phytoremediation hype. *New Phytology*, 146: 357-358.
- [37] Gleba, D., Borisjuk, N.V., Borisjuk, L.G., Kneer, R., Poulev, A., Skarzhinskaya, M., Dushenkov, S., Logendra, S., Gleba, Y.Y. and Raskin, I. (1999). Use of plant roots for phytoremediation and molecular farming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 96(11): 5973-5977.
- [38] Meharg, A.A. (2004). Arsenic in rice-understanding a new disaster for South-East Asia. *Trends in Plant Science*, 9(9): 415-417.
- [39] Dhankher, O.P. Li, Y., Rosen, B.P., Shi, J., Salt, D., Senecoff, J.F., Sashti, N.A. and Meagher R.B. (2002). Engineering tolerance and hyperaccumulation of arsenic in plants by combining arsenate reductase and γ -glutamylcysteine synthetase expression. *Nature Biotechnology*, 20(11): 1140-1145.

PHYTOREMEDIATION AND METAL ACCUMULATING PLANTS

H. ÖLÇER*

Abstract: Phytoremediation has been widely pursued in recent years as a favorable clean-up technology and is an area of intensive scientific investigation. Plants that hyperaccumulate metals have tremendous potential for remediation of metal contamination in the environment. A total of about 400 plant species that hyperaccumulate metal are reported, but most are not appropriate for phytoremediation because of their small size and slow growth. In addition, the lack of knowledge about the basic biochemical, physiological and molecular mechanisms involved in metal hyperaccumulation limits the commercial application of phytoremediation technology. Despite these limitations, hyperaccumulator plants serve as a gene reservoir for plant breeding and genetic engineering studies. With the use of genetic engineering it is possible to make an ideal plant for phytoremediation of metals. This review aims to give an overview of phytoremediation technologies and hyperaccumulator plants that could be used for this purpose and points to some biotechnological applications.

Key Words: Environment, Heavy metals, Transgenic plants

*Dumlupınar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kütahya, Türkiye.