

Araştırma Makalesi/Research Article (Original Paper)

## Kadmiyum Toksisitesine Karşı Demir Gübrelemesi ve Arıtma Çamurunun Marul (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*) Bitkisinin Gelişimine ve Antioksidatif Enzim Aktivitesine Etkisi

Sibel BOYSAN CANAL\*, Mehmet Ali BOZKURT

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme bölümü, Van, Türkiye  
\*e-mail: sibelboysan@hotmail.com

**Özet:** Bu çalışmanın amacı, sera koşullarında kadmiyum ( $100 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ ) toksisitesini önlemek için artan demir (Fe1:  $100 \text{ mg Fe kg}^{-1}$ , Fe2:  $500 \text{ mg Fe kg}^{-1}$ ) düzeylerinin ve arıtma çamurunun (AÇ %10) marul bitkisinin gelişimine, bazı antioksidatif enzim aktivitelere, lipid peroksidasyon ile bitki ve toprakta Cd içeriklerine etkisini belirlemektir. Sera koşullarında yürütülen saksı denemesinde Cd uygulamasının kontrole göre bitki boyu, bitki ağırlığı ve yaprak sayısında önemli düzeyde düşüşe neden olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte Cd uygulamasının marul bitkisinde katalaz aktivitesi ve malondialdehit (MDA) içeriğini artırdığı belirlenmiştir. Cd+Fe1 uygulaması tek başına Cd uygulamasına göre, bitki boyunda önemli ölçüde artışa, katalaz aktivitesi, MDA içeriği ve bitki Cd konsantrasyonunda önemli düzeyde azalmalara neden olduğu belirlenmiştir. Cd+Fe2 uygulaması tek başına Cd uygulamasına göre, toprağın Cd konsantrasyonunu önemli düzeyde düşürmüştür. Cd+AÇ uygulaması tek başına Cd uygulamasına göre, bitki boyunu, bitki ağırlığını ve yaprak sayısını önemli ölçüde artırmıştır. Bununla birlikte Cd+AÇ uygulaması tek başına Cd uygulamasına göre, bitki Cd konsantrasyonu, katalaz aktivitesi ve MDA içeriğinde önemli düzeyde düşüşe neden olmuştur. Bu sonuçlar göstermektedir ki, bitki ve toprakta Cd toksisitesinin giderilmesinde Fe gübrelemesinin kullanılabileceğini ayrıca denemede kullanılan kentsel arıtma çamurunun Cd içeriğinin düşük ve organik madde içeriğinin yüksek olmasından dolayı Cd toksisitesini azaltan bir materyal olarak kullanılabileceği anlaşılmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Antioksidatif enzimler, Arıtma çamuru, Demir gübreleme, Kadmiyum, Marul

### The Influence of Iron Fertilizer and Sewage Sludge on Plant Growth and Anti-oxidative Enzyme Activity Against Cadmium Toxicity in Lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*)

**Abstract:** The aim of this study was to determine the influence of increased iron (Fe1:  $100 \text{ mg Fe kg}^{-1}$ , Fe2:  $500 \text{ mg Fe kg}^{-1}$ ) and sewage sludge (10% SS) applications against cadmium ( $100 \text{ mg kg}^{-1}$ ) toxicity on growth, enzyme activity and lipid peroxidation in lettuce plant, as well as cadmium availability in plant and soil in greenhouse conditions. In the glasshouse experiment, cadmium application caused decrease in plant height, plant weight, and leaf count compared to control. Nevertheless, Cd+Fe1 application resulted in an increase in plant height up to sole Cd application in glasshouse experiment. In comparison to control, cadmium application was increased catalase activity and malondialdehit (MDA) content. In comparison to alone Cd application, Cd+Fe1 application was decreased accumulation of Cd content, catalase activity and MDA content in plant. In comparison to sole Cd application, Cd+Fe2 application resulted in a decrease Cd content of soil. Cd+SS application caused increased plant height, plant weight and number of leaf to sole Cd application. Moreover, Cd + SS application was associated with decrease in Cd availability, catalase activity, and MDA content in plant. These results pointed out that Fe application could be beneficial to ameliorate the toxic effects of Cd; municipal sewage sludge used in this experiment did not reveal a toxic effect due to low levels of heavy metal content and it might be beneficial to reduce Cd toxicity because of its high organic material content.

**Keywords:** Anti-oxidative enzymes, Sewage sludge, Iron fertilizer, Cadmium, Lettuce

### Giriş

Kadmiyum (Cd) toprak, kök ve tohum sisteminde yüksek hareketliliği nedeniyle, insan ve canlı sağlığı açısından ciddi problemlere neden olabilecek niteliğe sahip bir ağır metaldir. Cd bakımından kirli topraklarda yetişen bitkilerin yenilebilir kısımlarında geniş ölçüde biriktiriliyor olması bu ağır metalin besin zincirine katılmasına neden olur (Monteiro ve ark. 2009). Cd'nin tarım topraklarına girişi ve yayılması endüstriyel faaliyetler, fosforlu

gübreler, tarım ilaçlarından fungusit ve lağım atıkları yoluyla olmaktadır. Cd stresi altındaki bitkilerde azot ve karbonhidrat metabolizmaları değişikliğe uğramaktadır. Su ve iyon alımının azalmasının en önemli nedeni kök büyüme ve gelişmesinin engellenmesidir. Cd membran fonksiyonlarında değişikliğe neden olarak lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (Demirkıran, 1998; Nagajyoti, P.C. ve ark. 2010). Doğrudan toksik etki bitkisel hacimde azalmaya bağlı klorofil sentezi ve fotosentezde azalmayla kendini göstermektedir (Padmaja ve ark. 1990). Yeşil tüketilen sebzelerde yaprakta birikmesine karşılık tahıllarda kök kısımlarında daha fazla Cd bulunduğu ve bitkinin kök bölgesinden tepe kısmına doğru azaldığı belirlenmiştir (Kacar ve İnal 2008). Cd besin değeri yüksek olan buğday, mısır, çeltik, yulaf, darı, marul, pancar ve bezelye gibi bitkilerin kökleriyle kolaylıkla alınır (Gutler ve Rains 1974). Özellikle yaprağı yenen sebzelerden marul bitkisinde Cd'nin en fazla biriktiği bölgenin yapraklar olduğu bulunmuştur (Pillay ve ark. 2007).

Bitkinin beslenme ortamında Cd bulunması halinde Fe'nin taşınımı önemli ölçüde azalmakta ve sürgünlerde Fe eksikliği oluşmaktadır. Cd ile Fe arasında karşılıklı bir ilişki vardır. Cd bitkinin Fe alımını zorlaştırdığı gibi Fe de aynı zamanda Cd'nin bitki tarafından alımını ve köklerden sürgünlere taşınımını etkilemektedir (Siedlecka ve Krupa 1999).

Aritma çamurunun (AÇ) tarımsal alanda kullanılması yararlı olduğu kadar zararlı etkilere de sahiptir. Aritma çamurunun uzun yıllar uygulanması toprak ve bitkide ağır metal birikimine neden olmaktadır. Bu açıdan atık çamurun kökeni önemlidir. Aritma çamurunun toprağın kimyasal özelliklerini iyileştirmesi arıtma çamuru ile birlikte toprağa organik madde ilave edilmesi nedeniyledir. Han ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada arıtma çamurundaki organik maddenin ağır metallerin toksisitesini azaltma etkisi metal bağlayıcı proteinlerin sentezini artırması ve büyümeye ve gelişmeyi artırıcı etkisine bağlı olarak dokulardaki Cd'nin miktarının azalmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Cd yüksek miktarlarda alındığı zaman bitkide oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres etkisi reaktif oksijen radikallerinden kaynaklanır. Reaktif oksijen radikallerinden süper oksit anyonunun hidrojen peroksit dönüşümü süperoksit dismutaz (SOD) enzimi sayesinde gerçekleşir ve birikimine engel olular. Antioksidatif enzimler sayesinde bitki hücreleri reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerinden korunabilirler (Lakhdar ve ark., 2010). Bu çalışmanın amacı; artan Fe düzeylerinin ve AÇ uygulamalarının marul bitkisinde Cd toksisitesini azaltmadaki etkisini araştırmaktır.

## Materyal ve Yöntem

Deneme Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri serasında yürütülmüştür. Denemede Yedikule marul çeşidi kullanılmıştır. Tohumlar viyollerde fide haline geldikten sonra 1 kg'lık saksılara şaşırtılmıştır. Deneme dört tekerrürlü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür. Serada yürütülmüş olan deneme 4 tekerrürlü her tekerrüründe 3 saksı kullanılmış böylece deneme toplam 144 saksı ile yürütülmüştür. Fe uygulaması  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  olarak, kontrolle birlikte 3 düzeyde kontrol, Fe1, Fe2 (0, 100, 500 mg  $\text{kg}^{-1}$ ) uygulanmıştır. Cd uygulaması  $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  formunda ve 100 mg/kg düzeyinde Cd uygulanmıştır. AÇ %10 düzeyinde deneme toprağına ilave edilmiştir. Sera denemesi için verim kriterleri olarak; bitki boyu, yaprak sayısı, bitki ağırlığı, kök ağırlığı ve kök boyu değerleri alınmıştır. Fe, Cd, AÇ ve bunların kombinasyonlarından oluşan 12 uygulama şöyledir.

1. Kontrol (%100 Toprak)
2. Fe1: 100 mg Fe  $\text{kg}^{-1}$
3. Fe2: 500 mg Fe  $\text{kg}^{-1}$
4. Cd : 100 mg Cd  $\text{kg}^{-1}$
5. Cd+Fe1
6. Cd+Fe2
7. AÇ: %10 Arıtma Çamuru
8. A.Ç.+Fe1
9. A.Ç.+Fe2
10. Cd +A.Ç
11. Cd +A.Ç.+Fe1
12. Cd +A.Ç. +Fe2

### Toprak Örneklerinde Yapılan Bazı Fiziksel ve Kimyasal Analizler

Toprak örnekleri havada kurutulduktan sonra 2 mm lik elekten geçirilerek 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 ve 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 (1969) tarafından bildirildiği şekilde 1 N amonyum asetat ile çalkalanarak atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile belirlenmiştir. Ekstrakte edilebilir Fe, Zn, Cu, Mn ve Cd miktarları DTPA yöntemi ile belirlenmiştir (Lindsay ve Norvell 1978). Denemede kullanılan toprağın ve arıtma çamurunun fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1 'de verilmiştir.

### Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Enzim analizleri 0-4°C<sup>0</sup> yürütülmüştür. 1 g taze bitki örneklerinden -80 °C dondurulmuş yaprak örneği, 5 ml soğuk hazırlanmış 1mM Na-EDTA ve 100mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> karışımı (pH:7.6) ile homojenize edildikten sonra 4°C'de 30 dakika 18000 g'de santrüfuj edilmiştir. Elde edilen süpernatant (enzim ekstraktı) SOD ve katalaz analizleri için kullanılmıştır. Katalaz aktivitesi 240 nm dalga boyunda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> azalmasına bağlı olarak absorbans değeri ölçülerek belirlenmiştir (Çakmak ve ark. 1993).

Çizelge 1. Deneme toprağı ve arıtma çamuruna ait bazı fiziksel ve kimyasal özellikler

Özellikler	Birimler	Saksı Denemesi Toprağı	Arıtma Çamuru
Tekstür		Kumlu Tın	-
pH (1/2.5)		8.70	6.76
Tuz	dS/m	0.36	2.24
Kireç	%	12.36	-
Organik Madde	%	1.68	30
Toplam N	%	0.084	2.40
Yarayışlı P	mg kg <sup>-1</sup>	10.14	-
<b>Değişebilir Katyonlar</b>			
K	mg kg <sup>-1</sup>	556	-
Ca	mg kg <sup>-1</sup>	1296	-
Mg	mg kg <sup>-1</sup>	385	-
<b>DTPA ile ekstrakte edilebilir <sup>1</sup></b>			
Fe	mg kg <sup>-1</sup>	2.61	-
Zn	mg kg <sup>-1</sup>	0.79	-
Cu	mg kg <sup>-1</sup>	0.98	-
Mn	mg kg <sup>-1</sup>	13.29	-
Cd	mg kg <sup>-1</sup>	0.047	-
Pb	mg kg <sup>-1</sup>	0.74	-
<b>Toplam Element Düzeyi</b>			
P	%	-	0.42
K	%	-	0.43
Fe	%	-	1.83
Zn	mg kg <sup>-1</sup>	-	577
Cu	mg kg <sup>-1</sup>	-	91
Mn	mg kg <sup>-1</sup>	-	446
Cd	mg kg <sup>-1</sup>	-	1.84
Pb	mg kg <sup>-1</sup>	-	28.8

### SOD Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

2 ml reaksiyon çözeltisi ile 0.1 ml süpernatant 1 ml riboflovin karıştırılmıştır. Reaksiyon 25°C 'de 75µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (40W) ışık altında 10 dakika bekletilerek sağlanmıştır. Kontrol ve reaksiyon çözeltisi 560 nm'de okunmuştur. SOD aktivitesi ünite olarak NBT'nin %50'sini indirgeyen aktivite olarak belirlenmiştir (Giannopolitis ve Ries 1977).

### *APX Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi*

1mM titripleks (Na-EDTA), 100 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 1 mM askorbik asit çözeltisi ile 1 g taze bitki örneği homojenize edildikten sonra 10000 g'de santrüfuj edilerek süpernatant elde edilmiştir. Enzim ekstraktının 0,1 ml'si üzerine reaksiyon çözeltisinden 3 ml ilave edilerek reaksiyona sokulur. 1 dakika içinde 290 nm dalga boyunda absorban okumasındaki değişim dikkate alınarak yapılmıştır. APX aktivitesi askorbik asite bağlı olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indirgenmesi ile ölçülmüştür. (Nakano ve Asada 1981).

### *Lipit Peroksidasyon Tayini*

Lipit peroksidasyon, malondialdehit (MDA) birikiminden tespit edilmiştir. MDA aktivitesi (Hodges ve ark. 1999) tarafından bildirilen yöntemle yapılmıştır. 0.5 g bitki örneği %0.1 lik TCA (trikloro asetik asit) ile homojenize edilmiştir. Berrak kısımdan 1 ml alınarak, üzerine 4 ml %20'lik TCA ile % 0.5'lik TBA (Tiobarbitirik asit) karışımından konulmuştur. 95 °C'de 30 dakika su banyosunda bekletilen örnekler, hızla buz banyosunda soğutulup, 10000 devirde 10 dakika santrüfuj edildikten sonra berrak kısımdan alınan örnekler spektrofotometrede 532 nm ve 600 nm dalga boyunda okunarak MDA belirlenmesi yapılmıştır.

### *Bitki Örneklerinde Cd, Fe, Mn, Zn ve Cu Analizleri*

Yaş olarak yakılan bitki örneklerinde Cd, Fe, Mn, Zn ve Cu konsantrasyonları atomik absorpsiyon spektrofotometresinde belirlenmiştir (İbrikçi ve ark. 1994).

Elde edilen tüm bulgulara ait istatistiksel analizleri SPSS 13.0 paket programı ile yapılan uygulamaların önemlilik düzeyleri belirlendikten sonra uygulanmalara ait ortalamalar arası farkın önemliliği Duncan çoklu karşılaştırma testi ile %5 önemlilik düzeyine göre yapılmıştır (Düzgüneş ve ark. 1987).

## **Bulgular ve Tartışma**

### *Marul Bitkisinin Gelişimi*

Sera koşullarında saksıda yetiştirilen marul bitkisine 100 mg/kg Cd uygulaması kontrole göre bitki boyunu 20.0 cm'den 15.1 cm'ye, bitki ağırlığını 21.0 g'den 14.4 g'ye ve yaprak sayısını 11.5'den 8.5'e düşürmüştür. Ancak, kök boyu ve kök ağırlığında Cd ilavesiyle kısmen düşüş olsa da bu düşüş istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır (Çizelge 2). Benzer olarak yürütülen 50 mg kg<sup>-1</sup>Cd uygulaması marul bitkisinde bitki kuru ağırlığı, bitki yaş ağırlığı ve bitki boyunu önemli düzeyde azalttığı belirlenmiştir (Bitiktaş 2007). Moustakas ve ark. (2001), marul bitkisi ile yürüttükleri çalışmada artan Cd dozları ile bitki Cd içeriğinde artış görüldüğünü, 10 mg/kg üzerindeki Cd uygulamalarının marul bitkisinin gelişme ve büyümesinde gerilemeye yol açtığını ifade etmişlerdir. Tiryakioğlu ve ark. (2006), artan Cd ile arpa bitkisinin gövde uzunluğunda azalma, yaşlı yapraklarda ve yaprak kenarları boyunca kahverengi kırmızısı lekeler ve kloroz görüldüğünü belirlemişlerdir.

Marul bitkisinde Cd + FeI uygulaması Cd'nin tek başına verilmesine göre; bitki boyunu 15.1 cm'den 18.4 cm'ye yükselmesine neden olduğu bulunmuştur (Çizelge 2). Liu ve ark. (2008), Cd toksisitesi şartlarında deneme toprağına 1000 mg/kg Fe ilavesinin çeltik bitkisinde sürgün ve kök kuru ağırlığını kontrole göre artırdığını bildirmişlerdir.

Cd + AÇ uygulaması Cd'nin tek başına verilmesine göre, marul bitkisinde bitki boyunu 15.1 cm'den 17.9 cm'ye, bitki ağırlığını 14.4 g'den 16.9 g'ye ve yaprak sayısını 8.5'den 10.0'a yükselmesine neden olmuştur Ancak bu artışlar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge2). Kacprzak ve ark. (2014) AÇ uygulamasının Cd bakımından kirli toprakta yetiştirilen çim bitkisinin Cd alımını azalttığı ve bitki yaş ağırlığını önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Benzer yapılan çalışmada, Cd nin toksik etkisini gidermede uygulanan AÇ' nin bitkiye önemli oranda azot sağlaması Cd'nin toksisitesini gidermede önemli etkiye sahip olduğunu ifade etmişlerdir (Han ve ark. 2006).

### *Antioksidatif Enzim Aktivitesi*

Saksı denemesinde, Fe, Cd ve AÇ uygulamaları marul bitkisinde APX ve SOD aktivitelerinde önemli bir farklılık oluşturmaz, katalaz ve MDA içeriğinde istatistiki olarak önemli değişimlere neden olmuştur (Çizelge 3). Sadece Cd uygulamasında kontrole göre marul bitkisinin katalaz enzim aktivitesi 0.021 'den 0.033 mmol/g YA/dak.'e bitkide MDA içeriği ise 2.73'den 4.10 mmol/g YA'ya yükselmiştir.

Çizelge 2. Demir, kadmiyum ve arıtma çamuru uygulamasının marul bitkisinde bazı verim kriterlerine etkisine dair ortalama değerler

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)	Bitki Ağırlığı (g/ sakısı)	Yaprak Sayısı (adet /bitki)	Kök Boyu (cm)	Kök Ağırlığı (g /sakısı)
Kontrol	20.0 b *	21.0 b	11.5 b	18.4	7.80
Fe1 (100 mg kg <sup>-1</sup> )	20.4 b	20.5 b	10.3 ab	19.3	6.88
Fe2 (500 mg kg <sup>-1</sup> )	19.0 b	19.9 b	10.8 ab	20.1	7.10
Cd (100 mg kg <sup>-1</sup> )	15.1 a	14.4 a	8.5 a	17.7	6.60
Cd + Fe1	18.4 b	16.1 a	9.3 a	21.1	8.00
Cd + Fe2	16.9 a	15.9 a	10.3 ab	18.7	7.10
AÇ(%10)	18.2 b	18.4 ab	11.8 b	20.7	7.42
AÇ+Fe1	18.5 b	16.1 a	10.3 ab	18.2	6.60
AÇ+Fe2	19.1 b	15.9 a	9.8 ab	19.6	6.90
Cd+ AÇ	17.9 ab	16.9 ab	10.0 ab	20.1	7.00
Cd+ AÇ+Fe1	17.1 a	16.8 ab	9.3 a	21.2	6.90
Cd+AÇ+Fe2	17.1 a	16.1 a	10.0 ab	20.5	7.10

\*: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Cd + Fe1 uygulaması Cd'nin tek başına verilmesine göre, marul bitkisinde katalaz enzim aktivitesini 0.033'den 0.023 mmol/g YA/dak.'e, MDA içeriği 4.10 'dan 3.27 mmol/g YA'ya düşürmüştür (Çizelge 3). Çeşitli kültür bitkileri ile yürütülen denemelerde Cd toksisitesinin enzim aktivitesinde artışa neden olduğu ancak gelişme ortamına Fe ilave edilmesi ile katalaz, SOD ve POD (peroksidaz) aktivitelerinin azaldığı belirlenmiştir (Sharma ve ark. 2004; Liu ve ark. 2013). Shao ve ark. (2007), çeltik bitkisinde farklı düzeylerde Fe ile beslenmenin Cd toksisitesine etkisini araştırmışlardır. Cd stresi şartlarında düşük ve orta Fe düzeylerinde SOD ve POD enzim aktiviteleri artarken, yüksek Fe düzeyinde SOD aktivitesinde azalma görülmüştür. Yani yüksek düzeyde Fe uygulaması Cd toksisitesini hafifletmiştir.

Çizelge 3. Demir, kadmiyum ve arıtma çamuru uygulamaların marul bitkisinin antioksidatif enzim ve MDA aktivitesine etkisine dair ortalama değerler

Uygulamalar	APX mmol /g YA/dak.	Katalaz mmol /g YA/dak.	SOD mmol /g YA	MDA mmol /g YA
1 Kontrol	0.50	0.021 a*	0.18	2.73 a
2 Fe1 (100 mg kg <sup>-1</sup> )	0.50	0.023 a	0.19	2.67 a
3 Fe2 (500 mg kg <sup>-1</sup> )	0.54	0.021 a	0.17	2.96 a
4 Cd (100 mg kg <sup>-1</sup> )	0.68	0.033 b	0.25	4.10 b
5 Cd+Fe1	0.58	0.023 a	0.22	3.27 a
6 Cd+Fe2	0.52	0.023 a	0.19	2.89 a
7 AÇ(%10)	0.55	0.020 a	0.19	4.38 b
8 AÇ+Fe1	0.54	0.021 a	0.18	4.59 b
9 AÇ+Fe2	0.57	0.024 a	0.18	4.12 b
10 Cd +AÇ	0.53	0.019 a	0.21	3.76 a
11 Cd +AÇ+Fe1	0.51	0.021 a	0.20	3.63 a
12 Cd +AÇ+Fe2	0.57	0.021 a	0.20	4.87 b

\*: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Cd + AÇ uygulaması, Cd'nin tek başına verilmesine göre, marul bitkisinde katalaz aktivitesi 0.033'den 0.019 mmol/g YA/dak'e ve MDA içeriği 4.10 'dan 3.76 nmol/g YA'ya düşürmüştür (Çizelge 3). Han ve ark. (2006), AÇ, Cd, ve AÇ + Cd uygulanan huş fidelerine AÇ ilavesinin Cd'nin toksik etkisini azalttığını ifade etmişlerdir. Bitki SOD aktivitesi yalnızca Cd uygulaması durumunda artış göstermiş, ancak Cd ve AÇ bir arada uygulandığında SOD aktivitesinde sadece Cd uygulamasına göre azalma belirlenmiştir.

#### Bitkinin Kadmiyum ve Mikro Element İçeriği

Sera koşullarında yetiştirilen marul bitkisinin Cd içeriği Cd uygulamasında kontrole göre, 0.17 mg/kg'den 6.19 mg/kg'e yükselmiştir. Cd + Fe1 uygulaması Cd'nin tek başına verilmesine göre, marul bitkisinde Cd içeriğini 6.19 mg kg<sup>-1</sup>'den 5.39 mg kg<sup>-1</sup>'e düşürdüğü bulunmuştur (Çizelge 4). Monteiro ve ark. (2009), marul bitkisi ile yaptıkları çalışmada Cd uygulamalarının kök ve yapraklarda Cd içeriğini artırdığını ileri sürmüşlerdir. Çeltik bitkisi ile yapılan farklı araştırmalarda Cd'nin toksik etkisini azaltmak için gelişme ortamına Fe ilavesinin bitkinin kök ve yapraklarının Cd içeriğini azalttığı belirlenmiştir (Liu ve ark. 2008). Shao ve ark. (2007), yüksek

Fe beslenmesinin, yaprak ve köklerde Cd içeriğini azalttığını, hücre membranına bağlı Fe taşıyıcının Cd' yi de taşıdığını ve bu iki iyon arasında ortak taşıyıcı için rekabet olduğunu bildirmişlerdir.

AÇ uygulamaları bitki Cd içeriğinde önemli bir artış oluşturmamıştır (Çizelge 4). Bu durum denemede kullanılan AÇ nin Cd içeriğinin yüksek olmadığını göstermektedir. Cd toksisitesi şartlarında AÇ uygulamasında Cd'nin tek başına verilmesine göre, bitkinin Cd içeriği 6.19 mg/kg'den 2.48 mg/kg'e düşmüştür (Çizelge 4). Bu durum muhtemelen AÇ nin yüksek oranda organik madde içeriğinden kaynaklanmış olabilir. Bosiacki ve Tyksinski (2004), yaptıkları çalışmada toprağa farklı organik materyalleri (kahverengi kömür, çam talaşı, buğday samanı ve çam kabuğu) ilave etmenin marul bitkisinin Cd alımına etkisini araştırmışlardır. En düşük Cd alımının toprağa %30 oranında kahverengi kömür ilave edildiğinde gerçekleştiği belirtilmiştir.

Sadece Cd uygulaması ile kontrole göre, bitkinin Cu içeriği 3.45 mg/kg'den 1.77 mg/kg'e düşmüştür. Buna karşın Fe, Mn ve Zn içeriğinde istatistiksel olarak önemli bir değişikliğe neden olmamıştır (Çizelge 4). Bu durum bitkinin Cu içeriği ile Cd arasında antagonistik bir ilişkinin varlığını göstermektedir. Marul ve diğer kültür bitkileri ile yürütülen çeşitli araştırmalarda benzer antagonistik ilişkinin Cd ve Fe ve arasında tespit etmişlerdir (Dong ve ark. 2006; Monteiro ve ark. 2012; Dias ve ark. 2013). Marul bitkisinde Fe<sub>2</sub>, AÇ+Fe ve Cd+AÇ+Fe uygulamaları Fe içeriğinde artışa neden olmuştur (Çizelge 4). Bu artış uygulanan demir düzeyinin artışına bağlı olduğu gibi AÇ'nin Fe konsantrasyonunun yüksek olması nedeniyle olabilir.

Çizelge 4. Demir, kadmiyum ve arıtma çamuru uygulamaların marul bitkisinin kadmiyum ve mikro element içeriğine etkisine dair ortalama değerler (mg/kg)

Uygulamalar	Cd	Fe	Zn	Mn	Cu
1. Kontrol	0.17 a	102a*	10.1 a	47.7 c	3.45 e
2.Fe1 (100 mg kg <sup>-1</sup> )	0.20 a	107 a	10.1 a	50.1 c	3.01 d
3.Fe2 (500 mg kg <sup>-1</sup> )	0.19 a	140 b	11.7 a	48.0 c	2.63 c
4.Cd (100 mg kg <sup>-1</sup> )	6.19 d	94 a	10.6 a	43.1 c	1.77 ab
5. Cd + Fe1	5.39 c	116 a	8.6 a	38.7 b	2.14 b
6. Cd + Fe2	6.05 d	125 ab	10.7 a	45.8 bc	1.36 a
7. AÇ (%10)	0.21 a	129 b	27.1 c	26.8 a	1.91 b
8. AÇ+Fe1	0.22 a	133 b	25.5 bc	36.7 b	2.06 b
9. AÇ+Fe2	0.17 a	163 c	22.3 b	34.7 b	1.74 a
10. Cd + AÇ	2.48 b	116 a	23.1 b	36.0 b	1.59 a
11. Cd + AÇ + Fe1	2.23 b	138 b	26.2 c	27.9 a	1.74 a
12. Cd + AÇ + Fe2	2.56 b	187 d	27.7 c	26.8 a	1.45 a

\*: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

#### Deneme Toprağının Kadmiyum ve Mikro Element İçeriği

Sera koşullarında yürütülen saksı denemesinde Cd'nin tek başına verilmesi, kontrole göre, toprağın Cd içeriğini 0.047 mg/kg'den 22.85 mg/kg'e yükselttiği belirlenmiştir (Çizelge 5). Cd + Fe<sub>2</sub> uygulaması Cd'nin tek başına verilmesine göre, toprağın Cd içeriğini 22.85 mg kg<sup>-1</sup>'den 19.20 mg kg<sup>-1</sup>'e düşürdüğü tespit edilmiştir (Çizelge 5). Aroa ve ark. (2009), toprakta oksidasyon-redüksiyon olaylarının Fe' in çözünürlüğünü etkilediğini ve indirgen toprak şartlarında Cd'in çökmesinden dolayı çözünürlüğünün azaldığını ifade etmişlerdir.

AÇ+Fe<sub>2</sub>, Cd+AÇ +Fe<sub>1</sub> ve Cd+AÇ+Fe<sub>2</sub> uygulamalarıyla, Cd'nin tek başına verilmesine göre toprağın Fe içeriği 4.72 mg/kg den sırası ile 42,52 mg/kg, 16.56 mg/kg ve 40.69 mg/kg'e, toprağın Zn içeriği ise 0.99 mg/kg'den sırası ile 10,56 mg/kg, 8.20 mg/kg ve 6.42 mg/kg'e yükselmiştir (Çizelge 5). Bu durum AÇ nin Fe ve Zn içeriğinin yüksek olması nedeniyle olabildiği gibi uygulanan Fe düzeyine bağlı olabilir. Benzer olarak yapılan çeşitli araştırmalarda AÇ uygulamalarının toprakta ekstrakte edilebilir Fe, Mn, Zn ve Cu içeriklerini artırdıkları belirlenmiştir (Hernandez ve ark. 1991; Singh ve Agrawal 2007; Hussein 2009). Buna karşılık Mendoza ve ark. (2006), sorgum bitkisi ile yürüttükleri denemede toprakta DTPA ile ekstrakte edilebilir mikro besin elementlerinin miktarlarının arıtma çamuru elde edilme yöntemine ve toprak özelliklerine göre değiştiğini ileri sürmüşlerdir.

**Çizelge 5. Kadmiyum ve arıtma çamuru uygulamalarının toprağın Cd ve mikro element içeriğine etkisi (mg/kg)**

Uygulamalar	Cd	Fe	Zn	Mn	Cu
1. Kontrol	0.047 a*	4.64 a*	1.55 a	15.90 b	2.43
2.Fe1 (100 mg kg <sup>-1</sup> )	0.052 a	10.20 a	1.58 a	17.80 b	2.16
3.Fe2 (500 mg kg <sup>-1</sup> )	0.048 a	18.23 b	1.43a	17.20 b	2.35
4.Cd (100 mg kg <sup>-1</sup> )	22.85 c	4.72 a	0.99 a	16.90 b	1.54
5. Cd +Fe1	22.15 c	8.05 a	1.11a	15.05 b	1.75
6. Cd +Fe2	19.20 b	26.41 c	1.31 a	15.81 b	1.95
7. AÇ (%10)	0.049 a	12.29 b	8.35 b	16.34 b	1.52
8. AÇ+Fe1	0.050 a	13.13 b	9.35 b	17.10 b	2.39
9. AÇ+Fe2	0.052 a	42.52 d	10.56 b	17.70 b	2.46
10. Cd + AÇ	22.20 c	7.63 a	6.54 b	12.25 a	1.27
11. Cd + AÇ + Fe1	22.98 c	16.56 b	8.20 b	13.47 ab	1.79
12. Cd + AÇ + Fe2	20.80 c	40.69 d	6.42 b	15.95 b	1.98

\*: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

## Sonuç

Bu sonuçlar göstermektedir ki, bitki ve toprakta Cd toksisitesinin giderilmesinde Fe gübrelemesinin kullanılabileceğini ayrıca denemede kullanılan kentsel arıtma çamurunun Cd içeriğinin düşük ve organik madde içeriğinin yüksek olmasından dolayı Cd toksisitesini azaltan bir materyal olarak kullanılabileceği anlaşılmaktadır.

## Teşekkür

Bu çalışma birinci yazarın doktora tezinden üretilmiştir. Ayrıca çalışmayı doktora tez projesi olarak destekleyen (2010-FBE-D042) Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

- Aroa T, Kawasaki A, Baba K, Mori S, Matsumota S (2009). Effects of water management on cadmium and arsenic accumulation and dimethylarsinic acid concentration in Japanese rice. *Environmental Science and Technology*.43 (24):9361-9367.
- Bitiktaş A (2007). Çinko ve kadmiyum toksitesinin marul bitkisinde gelişme ve bazı antioksidant enzimlerin aktivitesine etkileri. (Yüksek lisans tezi, basılmamış) Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Bosiacki M, Tyksinski W (2004). Effect of organic substance with diversified decomposition degree on cadmium and lead uptake by lettuce (*Lactuca Sativa L.*). *Rocz A.R. Pozn.CCCLVI Ogrodn* 37:19-28.
- Bouyoucos GD (1951). A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soil. *Agronomy J.* 43:434-438.
- Çakmak I, Strbac D, Marschner H (1993). Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinated wheat seedlings. *J. Exp. Bot.* 44:127-132.
- Demirkıran AR (1998). Fosforlu gübre kaynaklı kadmiyumun çevresel etkileri. Doğu Anadolu Tarım Kongresi, Erzurum, Türkiye, Eylül 1998, sh:1271-1274.
- Dias MC, Monterio C, Montinho J, Correria C, Gonçaves B, Santos C (2013). Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. *Acta Physiol Plant.* 35:1281-1289.
- Dong J, Wu F, Zhang G (2006). Influence of cadmium on antioxidant capacity and four microelement concentrations in tomato seedlings. *Chemosphere.* 64:1659-1666.
- Düzgüneş A, Kesici OT, Kavuncu O, Gürbüz F (1987). Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistik Metodları-II). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 1021:381.
- Giannopolitis CN, Ries SK (1977). Superoxide dismutases occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59:309-314.
- Gutler JM, Rains W (1974). Characterization of cadmium uptake by plant tissue. *Plant Physiol.* 54:67-71.
- Han S, Lee J, Oh C, Kim P (2006). Alleviation of Cd toxicity by composted sewage sludge in Cd-treated Schmidt birch (*Betula schmidtii*) seedling. *Chemosphere.* 65: 541-546.
- Hernandez T, Moreno JI, Costa F (1991). Influence of sewage sludges application on crop yields and heavy metal availability. *Soil Science Plant Nutrition.* 37 (2):201-210.
- Hızalan E, Ünal E (1966). Topraklarda Önemli Analizler. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. 273: 466.

- Hodges DM, DeLong JM, Forney CF, Prange RK (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.
- Hussein AHA (2009). Impact of sewage sludge as organic manure on some soil properties, growth, yield and nutrient contents of cucumber crop. *Journal of Applied Science*. 9(8): 1401-1411.
- İbrikçi H, Gülüt YK, Güzel N (1994). Gübrelemede Bitki Analiz Tekniği. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 95. Adana 85.
- Jackson ML (1958). *Soil Chemical Analysis*, Prentice Hall, Inc. New Jersey, USA.
- Jackson ML (1969). *Soil Chemical Analysis*. Advanced course. 2nd ed. published by the Author. University of Wisconsin. Madison. USA. p:8955.
- 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, İnal A (2008). Kadmiyum Bölüm:20 :Bitki Analizleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ankara.
- Lackhdar A, Lanelli MA, Debez AM, Jedidi N, Abdelly C (2010). Effect of municipal solid waste compost and sewage sludge use on wheat (*Triticum durum*): growth, heavy metal accumulation, and antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric*. 90:965-971. DOI:10.1002/jsfa.3904.
- Lindsay WL, Norvell WA (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42:421-428.
- Liu H, Zhang J, Christie P, Zhang F 2008. Influence of iron plaque on uptake and accumulation of Cd by rice (*Oryza sativa L.*) seedlings grown in soil. *Science of The Total Environment*. 394:361-368.
- Liu HJ, Liu YF, Liu XP, Han XP, Lu JJ (2013). Effect of Fe-Cd interaction on lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities of rice. *Chines Journal of Applied Ecology*.
- Mendoza J, Garrido T, Castillo G, Martin SN (2006). Metal availability and uptake by sorghum plants grown in soils amended with sludge from different treatments. *Chemosphere*. 65:2304-2312.
- Monteiro MS, Santos C, Soares A, Mann, R (2009). Assessment of biomarkers of cadmium stress in lettuce. *Exotoxicology and Environmental Safety*. 72:811-818.
- Monteiro C, Santos C, Pinho S, Oliveira H, Pedrosa T, Dias MC (2012). Cadmium-Induced Cyto- and Genotoxicity are Organ-Dependent in Lettuce. *Chem. Res. Toxicol.* 25:1423-1434.
- Moustakas NK, Akoumianakis KA, Passam HC 2001. Cadmium accumulation and its effects on yield of lettuce, radish and cucumber. *Soil Science and Plant Analysis*. 32:1793-1802.
- Nagajyoti PC, Lee KD, Sreekanth TVM (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ. Chem. Lett.* 8:199-216. DOI:10.1007/s10311-010-0297-8.
- Nakano Y, Asada K (1981). Hydrogen peroxide in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*. 22:860-867.
- Padmaja K, Prasad DDK, Prasad ARK (1990). Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* seedlings by cadmium acetate. *Photosynthetic*. 24: 399-405.
- Pillay V, Sreekanth E, Jonnalagadda B (2007). Elemental uptake by edible herbs and lettuce (*Lactuca sativa*). *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 42:423-428.
- Shao G, Chen M, Wang W, Mou R, Zhang G (2007). Iron nutrition affects cadmium accumulation and toxicity in rice plants. *Plant Growth Regulation*. 53:33-42 China.
- Sharma SS, Kaul S, Metwally A, Goyal CK, Frinkemeir I, Dietz KJ (2004). Cadmium toxicity to barley (*Hordeum vulgare*) as affected by varying Fe nutritional status. *Plant Science*. 166:1287-1295.
- Siedlecka A, Krupa Z (1999). Cd/Fe interaction in higher plants. Its consequence for the photosynthetic apparatus. *Photosynthetica*. 36(3):321-331.
- Singh RP, Agrawal M (2007). Effects of sewage sludge amendment on heavy metal accumulation and consequent responses of *Beta vulgaris* plants. *Chemosphere*. 2229-2240.
- Tiryakioğlu M, Eker S, Özkutlu F, Husted S, Çakmak İ (2006). Antioxidative defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 20:181-189.
- 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 Science*. 63:251-263.