

DİYARBAKIR İL SINIRLARI İÇERİSİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI YONCA (*MEDİCAGO L.*) TÜRLERİNDE AĞIR METAL DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Determination of Heavy Metal Levels in Some Clover Species (*Medicago L.*) Distributed in Diyarbakır Province

Ramazan DEMİR¹
Zahir DÜZ²

Özet

Bu çalışmada Diyarbakır ilinde yayılış gösteren *Medicago noeana* Boiss., *Medicago orbicularis* (L) Bart., *Medicago polymorpha* L. var. *Vulgaris* (Bent.) Shinnars, *Medicago rigidula* (L) All. var. *rigidula* ve *Medicago rigidula* (L) All. var. *Submitis* (Bois.) Heyn'in gövde, yaprak ve meyvelerinde Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Zn miktarları atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, çalışılan türlerin tüm organlarında ağır metal seviyeleri Fe>Mn>Zn>Cu>Ni şeklinde belirlenmiştir. Organlar karşılaştırıldığında yapraklardaki Fe, Mn, Zn, Cu ve Ni miktarlarının gövde ve meyveye göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Çalışılan ağır metallere Pb, Co ve Cr ise belirlenmemiştir.

Anahtar kelimeler: AA, Ağır metaller, *Medicago*

Abstract

In this study, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn were determined by atomic absorption spectrometer in the stem, leaf and fruit of *Medicago noeana* Boiss., *Medicago orbicularis* (L) Bart., *Medicago polymorpha* L. var. *Vulgaris* (Bent.) Shinnars, *Medicago rigidula* (L) All. var. *rigidula* ve *Medicago rigidula* (L) All. var. *Submitis* (Bois.) Heyn distributed in Diyarbakır Province. The obtained results showed that heavy metal levels were in the following order Fe>Mn>Zn>Cu>Ni in the all organs of studied species. Fe, Mn, Zn, Cu and Ni levels were the highest in the leaves when compared to stem and fruit. Among the heavy metals studied Pb, Co and Cr were not detected.

Keywords: AA, Heavy metals, *Medicago*

GİRİŞ

Ağır metallerin toprakta biriktiği, bu alanda yetişen bitkilere toksik etki gösterdiği ve yeraltı sularına ulaşarak insan sağlığını tehdit ettiği bilinmektedir (Fergusson 1991). Bazı maddelerin, besin olarak kullandığımız çeşitli organizmalarda depolanması ve besin zincirinin son üyesi olan insanda

¹ Prof.Dr.,Dicle Üniversitesi, Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi ABD, 21280-Diyarbakır, rdemir@dicle.edu.tr

² Dr., Dicle Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 21280-Diyarbakır

da akut zehirlenmelere yol açmasıyla güncel konular haline geldikleri bilinmektedir (Sugano ve ark. 1975). Ayrıca insanların besinlerle birlikte alabileceği ağır metal miktarlarının tolerans limitleri (Kieffer 1991) ile topraktaki ağır metallerin doğal miktarlarının sınır değerleri belirlenmiştir (Taşatar 1995).

Yoncanın kültür formu olan *M. sativa* L. üzerinde ağır metaller ile ilgili çalışmalar kısmen de olsa yapılmıştır. Ağır metallerce kirlenmiş topraklarda yetişen *Medicago sativa* L. dokuları, metalleri alarak tolere etmekte (Rehçigil ve ark. 1988, Kherbawy ve ark. 1989, Barigar ve ark. 1993) ve ayrıca bu toprakları ağır metallere temizlemektedir (Peterson 1983, Tiemann ve ark. 1999). Ağır metal solüsyonunda *M. sativa* dokularının en çok nikeli, daha sonra sırasıyla kadmiyum, çinkoyu ve bakırı akümüle ettikleri (Peralta-Videa ve ark. 2002) ve sentezledikleri bir molekül sayesinde de nikeli kolayca bağlayabildiklerini gözlemlemişlerdir (Theisen ve Blincoe 1984). Bir başka çalışmada, yine *M. sativa*'ya ait dokuların, metalleri 5 dakika gibi çok kısa bir süre içinde bağlayabildikleri, metallerin bağlanma tercih önceliğinin önce bakır ile başladığı, sonra sırasıyla krom, kurşun, çinko, nikel ve kadmiyum şeklinde devam ettiği belirtilmiştir (Gardea-Torresdey ve ark. 1999).

Doğal olarak yayılış gösteren *Medicago noeana* Boiss., *Medicago orbicularis* (L) Bart., *Medicago polymorpha* L. var. *Vulgaris* (Bent.) Shinnery, *Medicago rigidula* (L) All. var. *rigidula* ve *Medicago rigidula* (L) All. var. *submitis* (Bois.) Heyn üzerinde bazı sistematik çalışmalar (Akbayın ve Demir 1994, Akbayın ve ark. 1994) dışında ağır metallere ilgili çalışmalar oldukça azdır. Bu nedenle çalışma materyalimiz olan bu bitkilerin gövde, yaprak ve meyvelerindeki Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Zn gibi ağır metal miktarları belirlenmeye çalışılmıştır.

MATERYAL VE METOD

M. noeana, *M. orbicularis*, *M. polymorpha* var. *vulgaris*, *M. rigidula* var. *rigidula* ve *M. rigidula* var. *submitis*'e ait örnekler Diyarbakır il sınırları içerisinde anayoldan uzak, mera ve tarım arazilerinden, Mayıs-Temmuz 2004 tarihleri arasında toplandı. Örneklerin toplanmasında bitkinin meyve oluşturma dönemi baz alındı. Böylece anılan bu dönem içerisinde bitkilerin farklı yükselti ve ekolojik koşullar altında farklı gelişim göstermelerine bağlı olarak örneklerin alınması sağlandı. Laboratuvara getirilen her türe ait 5 örnek alındı. Bu örnekler önce normal musluk suyu ile, sonra da damıtık su ile yıkanarak 105°C'lik etüvde kurutuldu ve desikatöre bırakıldı. Her bitkinin gövde, meyve ve yaprak kısımlarından 5'er gram tartılarak Nebaterm fırında 200°C'de 2 saat, 400°C'de 4 saat ve 600°C'de 8 saat kademeli olarak bekletilerek kül haline getirildi. Oda sıcaklığında soğutulduktan sonra üzerine 5 ml. HNO₃ ilave edildi ve kuruyuncaya kadar buharlaştırıldı. Sonra 5 ml. HCL ilave edilip tekrar kuruyuncaya kadar buharlaştırıldı. Örnekler 50 ml'lik balon jöjelere saf su ile süzülerek tamamlandı ve analize hazır hale getirildi. Ancak Zn analizi için numune 100 kat seyreltilti.

Kalibrasyon için kullanılan standartlar Fe için 0, 10, 20, 30, 40, 50, ppm; diğer elementler için ise 0; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 10 ppm olarak hazırlandı. Co 240,7 nm; Cr 357,9 nm; Cu 327,7 nm; Fe 372,0 nm; Mn 279,5 nm; Ni 232,0 nm; Pb 217,0 nm ve Zn 213,9 nm'de UNICAM 929 Atomik Absorbsiyon Spektrometresi (AA) ile okundu, sonuçlar ppm olarak hesaplandı.

İstatistiksel analizler SPSS 10 paket programı ile yapıldı. Türler ve organlar arasındaki ağır metal birikimi yönünden fark olup olmadığı iki yönlü "ANOVA" ve "Duncan's Multiple Range Test" ile test edildi (Gonzalez-Andreas ve Ceresuela, 1998).

BULGULAR VE TARTIŞMA

M. noeana, *M. orbicularis*, *M. polymorpha* var. *vulgaris*, *M. rigidula* var. *rigidula* ve *M. rigidula* var. *submitis*'e ait gövde, yaprak ve meyve kısımlarında belirlenen ortalama ağır metal miktarları, bunların standart sapmaları ve farklı türlerin metal ortalama farklarının istatistiksel önem dereceleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablodan da görüleceği gibi ağır metal miktarları, bitki çeşidine ve yine bitkinin farklı kısımlarına (gövde, yaprak, meyve) göre değiştiği görülmektedir.

İki yönlü ANOVA ile analiz edilen yonca türlerindeki Cu ($F=3,228$, $P<0,05$), Fe ($F=42,564$, $P<0,001$), Mn ($F=3,402$, $P<0,05$), Ni ($F=12,806$, $P<0,001$) ve Zn ($F=19,871$, $P<0,001$) ortalamaları birbirinden farklılık göstermiştir.

Duncan's Range Test sonuçlarına göre; türler arası total Cu birikimi bakımından *M. noeana* ile *M. rigidula* var. *submitis*; *M. polymorpha* var. *vulgaris*, *M. rigidula* var. *rigidula* ve *M. rigidula* var. *submitis*; *M. rigidula* var. *rigidula*, *M. polymorpha* var. *vulgaris* ve *M. orbicularis* arasında fark görülmemiştir ($P>0,05$). Fe, Mn ve Ni birikimi bakımından *M. noeana* ile *M. rigidula* var. *submitis* arasında *M. polymorpha* var. *vulgaris*, *M. orbicularis* ve *M. rigidula* var. *rigidula* arasında istatistiksel fark görülmemiştir ($P>0,05$). Zn birikim bakımından ise *M. rigidula* var. *submitis* ile *M. rigidula* var. *rigidula* arasında ve *M. rigidula* var. *rigidula* ile *M. orbicularis* arasında fark görülmemiştir ($P>0,05$).

Fe, bütün türlerde en yüksek seviyede belirlendi. Bunu sırasıyla Mn, Zn ve Cu izledi. En düşük seviyede ise Ni belirlendi. Ancak, çalışılan örneklerin hiçbirinde Pb, Co ve Cr belirlenemedi.

Organ düzeyindeki farklılıklar ele alındığında, Fe, Mn, Ni metallerinin bütün organlardaki birikimleri birbirinden istatistiksel olarak da farklılık göstermiştir ($P<0,05$). Ancak, gövde ve meyvelerdeki Cu ve Mn birikimi arasında farklılık önemli görülmezken ($P>0,05$) yapraktaki birikimleri önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Diğer taraftan gövdedeki Zn birikimi, meyve ve yapraklardaki birikimden istatistiksel bakımdan farklılık göstermiştir ($P<0,05$).

Yeşil bitkilerde çoğunlukla, bitkiye sağlanan Fe düzeyi ve bitkinin klorofil içeriği arasında yakın bir ilişki vardır (DeKock ve ark. 1960). Bilindiği

gibi, Fe klorofil molekülünün yapısına katılmaz, ancak bu molekülün sentezlenmesi için, ortamda enzim aktivatörü olarak bulunması gerekmektedir.

Ağır metal solüsyonuna tabi tutulan *M. sativa*' ya ait dokuların en çok nikeli, arkasından da çinko ve bakırı akümüle ettikleri (Peralta-Videa ve ark. 2002) ve nikeli sentezledikleri bir molekül sayesinde çok daha rahat bir şekilde bağlayabildikleri belirtilmiştir (Theisen ve Blincoe 1984). Çoğu topraklar, genellikle 100 ppm düzeyinden daha az olan ve nikel zehirlenmesine yol açmayacak kadar düşük miktarlarda nikel kapsarlar. Normal olarak bitki materyalinin Ni içeriği, kuru maddede yaklaşık olarak 0.1-5 ppm sınır değerleri arasındadır. Ancak serpantin topraklarda yetişen kimi bitki çeşitlerinde, 200 ppm değerinin üstündeki Ni konsantrasyonları görülebilir. Bu düzeydeki Ni, söz konusu topraklara uyum sağlayamamış bitkiler için toksik etkisini göstermektedir (Vergnano ve Hunter 1952).

Ağır metallerce kirlenmiş topraklarda yetişen *M. sativa* dokularının metalleri alarak tolere ettikleri (Rehcegl ve ark. 1988, Kherbawy ve ark. 1989, Barigar ve ark. 1993) ve akümülatör bitki gibi davranarak toprakları temizledikleri belirtilmiştir (Peterson 1983, Tiemann ve ark. 1999).

Fe, Mn, Zn, Cu ve Ni çalışma materyalimiz olan bütün türlerin yaprak örneklerinde en yüksek seviyede belirlendi, gövde ve meyvelere ait örneklerde ise metal miktarlarında varyasyonlar görüldü. Bilindiği gibi farklı organların metabolik özellikleri de farklı olmaktadır. Zehir etkisi görülmezsizin yaprakların yüksek düzeylerde Zn içerebileceğine ilişkin bazı biyokimyasal kanıtlar mevcuttur. Fasulye (*Phaseolus vulgaris*) bitkisinde Zn eksikliğine bağlı gelişen fizyolojik değişimler üzerinde yapılan çalışmada, Zn konsantrasyonunun bitkinin gövde ve filiz kısımlarında herhangi bir fark göstermediği ancak topraktaki Zn eksikliğinin verim ve ürün kalitesinde çok ciddi problemler yarattığı gözlenmiştir. (Hacısalıhoğlu ve ark. 2004).

Besin içeriği bakımından oldukça zengin olan ve yem bitkileri içerisinde bu özelliğinden dolayı önemli bir yer teşkil eden yoncanın (*Medicago L.*) bu önemli özelliği yanında Fe, Mn, Zn, Cu ve Ni gibi ağır metal alım potansiyeli de yüksektir. Yoncanın bu akümülatif özelliği ile ağır metalleri çeşitli organlarında biriktirerek toprakların ağır metallerce kirlenmesini önlemektedir. Bununla birlikte, yem bitkisi olması dolayısı ile biriktirdiği bu metallerin besin zincirine girmesini kolaylaştırmakta ve hızlandırmaktadır. Bu nedenle ağır metal akümülasyonunu ve besin zincirine giren konsantrasyonunu azaltmak için, yonca (*Medicago L.*) kültürünün ağır metallerce fakir topraklarda yapılmasının uygun olacağı kanaatindeyiz.

TEŞEKKÜR: Bu çalışma Dicle Üniversitesi Araştırma Proje Komisyonu tarafından desteklenmiştir (DÜAPK-03-EF-55).

Kaynaklar

Akbaýın H ve Demir R (1994) A clustering analysis on *Medicago L.* species in the province of Diyarbakir in South-East Anatolia. Turkish Journal of Botany 8, 419-423

- Akbayın H, Demir R ve Ertekin AS (1994) Solution of some taxonomic problems in *Medicago rigidula* (L.) All. varieties by using discriminant analysis technique. Turkish Journal of Botany 18, 481-488
- Baligar VC, Campbell TA and Wright RJ (1993) Differential responses of alfalfa clones to Al-toxic acid soil. Journal of Plant Nutrition 16, 219-223.
- Dekock P, Commixsiong L, Farmer VC and Inkson RHE (1960) Interrelationships of catalase, peroxidase, hematin and chlorophyll. Plant Physiology 35, 599-604.
- Fergusson JE (1991) The Heavy Elements: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects, Pergamon Press, Oxford, 614 pp.
- Gardea-Torresdey JL, Tiemann KJ, Gamez G and Dokken K (1999) Effects of chemical competition for multi-metal binding by *Medicago sativa* (Alfalfa). Journal of Hazardous Materials 69, 41-51.
- Gonzalez-Andreas F, Ceresuela JL (1998) Chemical composition of some Iberian Mediterranean leguminous shrubs potentially useful for forage in seasonally dry areas. New Zealand Journal of Agricultural Research 41, 139-147
- Hacısalihoğlu G, Hart JJ, Vallejos CE and Kochian LV (2004) The role of shoot-localized processes in the mechanism of Zn efficiency in common bean. Planta 218, 704-711
- Kherbawy MEI, Angle JS, Heggo A and Chaney RL (1989) Soil pH *Rhizobia* and vesicular-arbuscular *Mycorrhizae* inoculation effect on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago sativa*). Biology Fertility of Soils 8, 61-73.
- Kieffer S (1991) Metals as essential trace elements for plants, animals, and humans. In Metals and Their Compounds in the Environment: Occurrence, Analysis, and Biological Relevance. E. Merian, toim. Weinheim, New York, New York.
- Peralta-Videa JR, Gardea-Torresdey JL, Gomez E, Tiemann KJ, Parsons JG and Carrillo G (2002) Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc at different pH upon alfalfa growth and heavy metal uptake. Environmental Pollution 119, 291-301.
- Peterson JS (1983) Solvent extraction of metals by carboxylic acid. Hydrometallurgy, 14, 171-188.
- Rechcigl JE, Reneau RB and Zelazney LW (1988) Soil solution Al as a measure of Al toxicity alfalfa in acid soils. Soil Science and Plant Analysis 19, 989-1001.
- Sugano H, Omata S and Tsubaki H (1975) Methylmercury inhibition of protein synthesis in brain tissue. I. Effects of methylmercury and heavy metals on cell-free protein synthesis in rat brain and liver. In Studies on the Health Effects of Alkylmercury in Japan, Environmental Agency, Japan.
- Taşatar B (1995) Topraklarımız ve Toprak Kirliliği, T.C. Çevre Bakanlığı, Çevre Yayınları, 3.
- Theisen MO and Blincoe C (1984) Biochemical form of nickel in alfalfa. Journal of Inorganic Biochemistry 21, 137-146.
- Tiemann KJ, Gardea-Torresdey JL, Gamez G, Dokken K, Renner SM and Furenlid L (1999) Study of the ligands involved in metal binding to alfalfa biomass. Environmental Science and Technology 33, 150-154.
- Vergnano O and Hunter JG (1952) Nickel and cobalt toxicities in oat plants. Annals of Botany 17, 317-328

Tablo 1. Diyarbakır il sınırları içerisinde doğal olarak yayılış gösteren bazı yonca (*Medicago L.*) türlerinde ağır metal miktarları (Ortalama±Standart Sapma, ppm).

Türler	Organlar	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
<i>M. noeana</i> (n=5)	Gövde	Nd	Nd	2,05±0,911	102,45±55,69	30,36±22,00	1,01±0,37	Nd	12,00±2,74
	Meyve	Nd	Nd	3,54±2,72	102,15±31,34	15,55±10,39	1,09±0,50	Nd	14,80±3,03
	Yaprak	Nd	Nd	3,73±2,74	214,05±52,88	35,40±17,53	1,35±0,79	Nd	15,60±0,96
	Total*	Nd	Nd	3,105±2,26 ^{a**}	136,55±70,28 ^a	27,10±18,25 ^a	1,15±0,56 ^a	Nd	14,13±2,75 ^a
<i>M. orbicularis</i> (n=5)	Gövde	Nd	Nd	5,09±4,18	570,05±570,05	21,11±14,22	1,76±1,01	Nd	18,30±2,99
	Meyve	Nd	Nd	5,98±2,27	179,80±179,80	37,98±10,63	2,49±0,62	Nd	20,10±3,58
	Yaprak	Nd	Nd	7,65±3,37	791,30±791,30	56,46±16,08	3,73±1,49	Nd	24,50±0,99
	Total*	Nd	Nd	6,24±3,30 ^c	513,72±286,07 ^b	38,52±19,68 ^b	2,66±1,32 ^b	Nd	20,97±3,71 ^c
<i>M. polymorpha</i> var. <i>vulgaris</i> (n=5)	Gövde	Nd	Nd	3,48±2,03	336,90±97,97	24,88±12,19	1,62±0,83	Nd	22,10±3,29
	Meyve	Nd	Nd	6,81±4,03	318,05±97,90	35,93±14,42	2,20±0,31	Nd	24,10±2,25
	Yaprak	Nd	Nd	7,14±4,00	803,30±109,41	59,32±18,63	3,45±1,51	Nd	24,90±3,36
	Total*	Nd	Nd	5,81±3,65 ^{bc}	486,08±250,74 ^b	40,04±20,54 ^b	2,42±1,16 ^b	Nd	23,70±3,04 ^d
<i>M. rigidula</i> var. <i>rigidula</i> (n=5)	Gövde	Nd	Nd	4,42±2,44	415,00±106,18	24,57±13,53	2,19±0,37	Nd	14,10±2,84
	Meyve	Nd	Nd	4,02±1,73	338,80±154,93	42,01±16,42	3,38±0,92	Nd	20,50±3,20
	Yaprak	Nd	Nd	7,87±4,30	803,40±146,09	53,99±15,18	3,63±1,12	Nd	21,70±4,60
	Total*	Nd	Nd	5,44±3,32 ^{bc}	519,07±246,02 ^b	40,19±18,75 ^b	3,07±1,03 ^b	Nd	18,77±4,82 ^b
<i>M. rigidula</i> var. <i>submitis</i> (n=5)	Gövde	Nd	Nd	3,43±0,08	116,50±47,49	22,98±9,89	1,18±0,50	Nd	18,07±3,96
	Meyve	Nd	Nd	2,07±1,06	107,50±74,57	17,50±9,22	1,40±0,78	Nd	17,80±3,70
	Yaprak	Nd	Nd	6,38±2,75	404,30±171,45	40,42±11,15	2,35±0,63	Nd	18,31±2,57
	Total*	Nd	Nd	3,96±2,44 ^{ab}	209,43±176,04 ^a	13,80±13,80 ^a	1,64±0,80 ^a	Nd	18,06±3,21 ^b

Nd. Belirlenemedi.
* Aynı türün dokularındaki değerlerin ortalamasıdır.
** Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklı değildir (P>0,05).

