



**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ**

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ

**2,4-DİKLOROFENOL İLE KONTAMİNE OLMUŞ ALANLARIN
FİTOREMEDİASYONLA ISLAHI İÇİN ÜÇ YENİ YABANİ BİTKİ TÜRÜNÜN
ARAŞTIRILMASI**

Proje No: FDK-2021-8873

Doktora Tez Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Prof. Dr. Zeynep CEYLAN
Çevre Mühendisliği Bölümü

Mohammad MOHARRAMZADEH
Çevre Mühendisliği Bölümü

Mart 2023
ERZURUM

ÖNSÖZ:

Antropojenik faaliyetlerin etkisiyle doğal kaynaklar ciddi oranda zarar görmüş ve görmektedir. Toprak en önemli doğal kaynaklarımızdan birisidir. Ancak toprağın tarım dışı amaçlarla kullanımı sonucu ağır metal, organik kirletici gibi pek çok faktörlerle kirlenmesi ve erozyon ile kayıplara uğraması sonucunda verimliliği de kaybolmaktadır. Kirlilik ile mücadelede topraktaki kirlenme oranının, neden olan kirleticilerin oluşturduğu risklerin ve toprağın en uygun şekilde temizlenmesi için gerekli olan şartların bilinmesi çok önemlidir. Kirlenmiş bir toprağın kirlilik düzeyinin tesbiti ve ıslahı için uzun bir zamana ve yüksek maliyetlere ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde inorganik ve organik kaynaklı kirleticilerin arıtılmasında kimyasal ve fiziksel arıtma işlemlerinin birlikte kullanıldığı konvansiyonel arıtma sistemleri yaygın olmakla birlikte, bu yöntemler kirleticileri ortamdaki istenilen düzeyde uzaklaştıramamaktadır. Konvansiyonel arıtım yöntemlerini kullanan endüstri işletmelerinin, her geçen gün büyük sorunları arasına giren işletme atıklarının arıtılması ve ekonomiye kazandırılabilmesi için ucuz, sürdürülebilir, çevreye dost ve pratik uygulamaların geliştirilmesi zorunluluğu ortaya çıkmıştır.

Tüm bu arıtım metodlarının yanı sıra özellikle toprak ve sulak alanlarda kullanılan, biyoakümüleyasyon karakteri yüksek yabancı bitkilerle yapılan fitoremediasyon; diğer ıslah yöntemlerine göre sürdürülebilir, uygun maliyetli ve çevre dostu bir teknik olması nedeniyle son yıllarda çok fazla tercih edilen yöntemlerden birisidir. Bu çalışmada; yabancı bitki türlerinden *Sinapis arvensis*, *Datura stramonium* ve *Amaranthus retroflexus* kullanılarak; öncelikli toksik organik bileşiklerden biri olan ve pestisit sanayisinin yanı sıra pek çok sanayide girdi maddesi olarak tercih edilen 2,4-diklorofenol'ün (2,4-DKF) fitoremediasyonla gideriminin araştırılması amaçlanmıştır.

Yapılan detaylı çalışmalar (morfolojik, fizyolojik ve kimyasal) neticesinde bitki türü olarak en yüksek absorpsiyon oranının ***Sinapis arvensis***'de, bitki organları arasında ise **kök** kısmında olduğu belirlenmiştir. Bu bağlamda; bu 3 farklı bitki türü içerisinde özellikle ***Sinapis arvensis***'in , 2,4-DKF ile kirlenmiş olan ortamlarda fitoremediasyon için en yüksek potansiyele , daha sonra ***Datura stramonium***'un ve en düşük oranda da ***Amaranthus retroflexus*** sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca 2,4-DKF'nin yanı sıra diğer toksik fenol türevlerinin de (klorlanmış ve nitrolanmış) fitoremediasyon potansiyelleri yüksek olan *Sinapis arvensis* -*Datura stramonium* -*Amaranthus retroflexus* bitkileriyle ıslah çalışmalarında alternatif türler olarak kullanılabileceği önerilmiştir.

Bu doktora tez çalışması; Atatürk Üniversitesi **BAP** Koordinasyon Birimince **FDK-2021-8873** nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

1.GİRİŞ

Öncelikli Toksik Organik Kirleticilerden Klorofenol Türevleri

Fitoremediasyon Türleri

Fitoekstraksiyon (Fitoakümülyasyon)

Rizostabilizasyon

Fitostabilizasyon

Rizodegradasyon

Fitovolatilizasyon

Çevresel Strese Maruz Kalan Bitkilerde Oluşan Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'ne Karşı Gelişen Antioksidan Savunma Sistemleri

Fitoremediasyonda Kullanılan Yabani Bitkiler

Datura stramonium

Amaranthus retroflexus

Sinapis arvensis

2.GENEL BİLGİLER

3.MATERYAL ve YÖNTEMLER

Bitki Materyali ve Uygulama Koşulları

2,4-DKF Uygulanmış Hidroponik Ortam içerisinde Her bir Bitkiye Ait Görseller

Yapılan Analizler

Bitkilerin Kök-Gövde-Yapraklarında Yapılan Morfolojik ve Fizyolojik Analizler

Kök-gövde uzunluğu ve kuru ağırlık ölçümü

Biyokimyasal ve fizyolojik analizler

ROS ve Lipid Peroksidasyonu Seviyeleri

Lipid peroksidasyonu (LPO) seviyesinin belirlenmesi

Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi

Superoksit anyonu (O₂⁻) miktarının belirlenmesi

Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi

Peroksidaz (POX) aktivitesinin belirlenmesi

Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin tayini

Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi

Glutathione S-transferaz (GST) aktivitesinin belirlenmesi

Kirleticinin (2,4-DKF) Analizleri

1. UV-VİS Spektrofotometrik Analizi

2. HPLC ile Kromatografik Analizler

4.BULGULAR

Datura stramonium Bitkisine Ait Bulgular

Gövdelerin ve köklerin büyüme parametreleri

Fotosentetik pigmentlerin (Klorofil a-b-toplam) içeriğinin belirlenmesi

Malondialdehit (MDA) içeriği belirlenmesi

Protein içeriklerinin belirlenmesi

Katalaz (CAT) enzim aktivitesi belirlenmesi

Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi belirlenmesi

Glutathione peroksidaz (GPX) enzim aktivitesi belirlenmesi

Glutathione S-transferaz (GST) enzim aktivitesi belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi belirlenmesi

Hidrojen peroksit içeriği (H₂O₂) belirlenmesi

Süperoksit içeriği (O₂⁻) belirlenmesi

Bitkinin bünyesine geçen kirleticinin (2,4-DKF) absorpsiyon oranının belirlenmesi

Amaranthus Retroflexus Bitkisine Ait Bulgular

Gövdelerin ve köklerin büyüme parametreleri
Fotosentetik pigmentlerin (Klorofil a-b-toplam) içeriğinin belirlenmesi
Malondialdehit (MDA) içeriğinin belirlenmesi
Protein içeriğinin belirlenmesi
Katalaz (CAT) enzim aktivitesi belirlenmesi
Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi belirlenmesi
Glutasyon peroksidaz (GPX) enzim aktivitesi belirlenmesi
Glutasyon S-transferaz (GST) enzim aktivitesi belirlenmesi
Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi belirlenmesi
Hidrojen peroksit içeriği (H₂O₂) belirlenmesi
Süperoksit içeriği (O₂⁻) belirlenmesi
Bitkinin bünyesine geçen kirleticinin (2,4-DKF) absorpsiyon oranının belirlenmesi
Sinapis arvensis Bitkisine Ait Bulgular
Gövdelerin ve köklerin büyüme parametreleri
Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler
Fotosentetik pigmentlerin (Klorofil a-b-toplam) içeriğinin belirlenmesi
Malondialdehit (MDA) içeriği belirlenmesi
Protein içerikli belirlenmesi
Bitkinin bünyesine geçen kirleticinin (2,4-DKF) absorpsiyon oranının belirlenmesi
Özellikler Arasındaki Basit Korelasyon
Sinapis arvensis bitkisi
Amaranthus retroflexus bitkisi
5.TARTIŞMA VE SONUÇ
REFERANSLAR
EKLER
EK-1. Sinapis arvensis Bitkisine Ait Görseller
EK-2. Datura stramonium Bitkisine Ait Görseller
EK-3. Amaranthus retroflexus Bitkisine Ait Görseller
EK-4. Atatürk Üniversitesi Daytam'da Yapılan Analizlere Ait Görseller
EK-5. Envirochem Kongre Sunumu

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1. 2,4-DKF'ün Fizikokimyasal Özellikleri

Tablo 2. Araştırmada Kullanılan Bitkiler ve Özellikleri

Tablo 3. Hoagland Çözeltilisinin Hazırlanmasında Kullanılan Makro Bileşenler ve Besinler

Tablo 4. Hoagland Çözeltilisinin Hazırlanmasında Kullanılan Mikro Bileşenler ve Besinler

Tablo 5. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Datura stramonium*'un Morfolojik Özelliklerine Ait Değişim

Tablo 6. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Datura stramonium*'un Fotosentetik Pigmentleri ne Ait Değişim

Tablo 7. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Datura stramonium*'un Fizyolojik ve Biyokimyasal Özelliklerine Ait Değişim

Tablo 8. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Datura stramonium*'un Fizyolojik ve Biyokimyasal

Tablo 9. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Datura stramonium*'un Fizyolojik ve Biyokimyasal

Tablo 10. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Amaranthus retroflexus*'un Morfolojik Özelliklerine Ait Değişim

Tablo 11. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Amaranthus retroflexus*'un Fotosentetik Pigmentleri ne Ait Değişim

Tablo 12. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Amaranthus retroflexus*'un Fizyolojik ve Biyokimyasal Özelliklerine Ait Değişim

Tablo 13. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Amaranthus retroflexus*'un Fizyolojik ve Biyokimyasal

Tablo 14. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Amaranthus retroflexus*'un Fizyolojik ve Biyokimyasal

Tablo 15. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Sinapis arvensis*'in Morfolojik Özelliklerinin Değişimi

Tablo 16. ' . 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Sinapis arvensis* Fotosentetik Pigmentleri ne Ait Değişim

Tablo 17. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Sinapis arvensis*'in Fizyolojik ve Biyokimyasal Özelliklerine Ait Değişim

Tablo 18. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Sinapis arvensis*'in Fizyolojik ve Biyokimyasal)

Tablo 19. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Sinapis arvensis*'in Fizyolojik ve Biyokimyasal

Tablo 20. 2,4-DKF Farklı Konsantrasyonları ile *Sinapis arvensis*'in Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri Arasındaki Basit Korelasyon

Tablo 21. 2,4-DKF Farklı Konsantrasyonları ile *Amaranthus Retroflexus*'un Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri Arasındaki Basit Korelasyon

Tablo 22. 2,4-DKF Farklı Konsantrasyonları ile *Datura stramonium*'un Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri Arasındaki Basit Korelasyon

Tablo 23. 96 Saatlik Maruziyet Sonucunda 2,4-DKF'nin Bitkilerin Kök, Gövde ve Yapraklarına Geçen (Absorbsiyon) Miktarları

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Fitoremidasyon türlerinin bitkilerin kısımları üzerindeki gösterimi

Şekil 2. *Datura stramonium*

Şekil 3. *Amaranthus retroflexus*

Şekil 4. *Sinapis arvensis*

Şekil 5. 2,4-DKF (0ppm ve 275ppm/96saat) uygulanmış *Datura stramonium* bitkisinin hidroponik ortam içerisindeki görüntüleri

Şekil 6. 2,4-DKF (0ppm ve 275ppm/96saat) uygulanmış *Amaranthus retroflexus* bitkisinin hidroponik ortam içerisindeki görüntüleri

Şekil 7. 2,4-DKF (0ppm ve 275ppm/96saat) uygulanmış *Sinapis arvensis* bitkisinin hidroponik ortam içerisindeki görüntüleri

Şekil 8. 2,4-DKF analizinde kullanılan kalibrasyon eğrisi

ÖZET

2,4-DİKLOROFENOL İLE KONTAMİNE OLMUŞ ALANLARIN FİTOREMEDİASYONLA ISLAHI İÇİN ÜÇ YABANİ BİTKİ TÜRÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Fitoremediasyon, bitki (yabani tür) yetiştirilerek kirlenmiş alanların kirleticilerden temizlenmesi işlemi olarak tanımlanmaktadır. Bitkiler organik ve inorganik kirleticileri bünyelerine alarak, biriktirerek, depolayarak veya parçalayarak kirli alanların ıslah edilmesini sağlarlar. Fitoremediasyon, diğer ıslah yöntemlerine göre sürdürülebilir, uygun maliyetli ve çevre dostu bir teknik olması nedeniyle son yıllarda çok fazla tercih edilen yöntemlerden birisidir. Bu çalışmada; yabani bitki türlerinden *Sinapis arvensis*, *Datura stramonium* ve *Amaranthus retroflexus* kullanılarak; öncelikli toksik organik bileşiklerden biri olan ve pestisit sanayisinin yanı sıra pek çok sanayide girdi maddesi olarak tercih edilen 2,4-diklorofenol'ün (2,4-DKF) fitoremediasyonla gideriminin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada; 2,4-DKF'nin dokuz farklı konsantrasyonda çözeltileri hazırlanarak (75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 ve 275 ppm) kontrollü koşullar (hidroponik) altında üç farklı tür bitki üzerinde denemeler yapılmıştır. Bu denemelerde, gelişimsel ve morfolojik parametreler ile (farklı organların uzunluğu ile yaş ve kuru ağırlık), fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin (fotosentetik pigmentler, antioksidan enzimlerin aktivitesi ve enzimatik olmayan antioksidanların içeriği vb.) yanısıra 2,4-DKF'nin gerek hidrponik sistemde su içerisinde geri kalan gerekse 3 farklı tür bitkinin yaprak, gövde+dal ve köklerinde tutulan miktarları kromatografik olarak ölçülmüştür.

Bulgular: Ölçüm sonuçları, her üç bitkinin de büyüme ortamındaki 2,4-DKF'nin konsantrasyonunun artırılması ile kök, sürgün (dal+yaprak) ve tüm bitkinin (kök + sürgün) ortalama uzunluğunun yanı sıra taze ve kuru ağırlıklarında bir azalmaya yol açtığını göstermiştir. Bununla birlikte, 2,4-DKF'nin düşük konsantrasyonlarının ise büyüme parametreleri üzerinde ciddi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda 2,4-DKF'ün, hem kök hem de sürgün kısımlarında ortalama fotosentetik pigmentlerde ve bitki proteininde önemli bir azalmaya yol açtığı gözlenmiştir. Diğer yandan 2,4-DKF'nin yüksek konsantrasyonları; katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, peroksidaz, glutatyon S-transferaz ve askorbat peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesinin artmasına ve yine malondialdehit, süperoksit ve hidrojen peroksit içeriğinin her üç bitkinin kök ve sürgününde artmasına neden olduğu belirlenmiştir. 2,4-DKF'ün en yüksek ve en düşük absorpsiyon oranları sırasıyla *Sinapis arvensis* ve *Amaranthus retroflexus* bitkilerinde gözlenmiştir. Bitki organları arasında özellikle kök kısmının, her üç bitkide de maksimum seviyede 2,4-DKF'yi absorbladığı belirlenmiştir. Genel olarak yüksek konsantrasyonlarda 2,4-DKF'nin fotosentetik pigment ve bitki protein içeriğini azaltmak suretiyle enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların aktivitesini artırarak 2,4-DKF'nin absorpsiyon oranını etkilediği sonucuna varılmıştır.

Sonuç: Bu çalışmada elde edilen bulgular sonucunda; bitki türü olarak en yüksek absorpsiyon oranının *Sinapis arvensis*'de, bitki organları arasında ise kök kısmında olduğu belirlenmiştir. Bu bağlamda; bu 3 farklı bitki türü içerisinde özellikle *Sinapis arvensis*'in , 2,4-DKF ile kirlenmiş olan ortamlarda fitoremediasyon için en yüksek potansiyele , daha sonra *Datura stramonium*'un ve en düşük oranda da *Amaranthus retroflexus* sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca 2,4-DKF'nin yanı sıra diğer toksik fenol türevlerinin de (klorlanmış ve nitrolanmış) fitoremediasyon potansiyelleri yüksek olan ***Sinapis arvensis* - *Datura stramonium* - *Amaranthus retroflexus*** bitkileriyle ıslah çalışmalarında alternatif türler olarak kullanılabileceği önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: 2,4-DKF, Antioksidan enzim, *Sinapis arvensis*, *Datura stramonium*, *Amaranthus retroflexus*, Reaktif oksijen türleri

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THREE WILD PLANT SPECIES IN THE RECLAMATION BY PHYTOREMEDIATION OF 2,4-DICHLOROPHENOL CONTAMINATED AREAS

Purpose: Phytoremediation is defined as the process of cleaning contaminated areas from pollutants by growing plants (wild species). Plants ensure the rehabilitation of polluted areas by absorbing, accumulating, storing or decomposing organic and inorganic pollutants. Phytoremediation is one of the most preferred methods in recent years, as it is a sustainable, cost-effective and environmentally friendly technique compared to other breeding methods. In this study; using wild plant species *Sinapis arvensis*, *Datura stramonium* and *Amaranthus retroflexus*; it is aimed to investigate the removal of 2,4-dichlorophenol (2,4-DKF), which is one of the primary toxic organic compounds and is preferred as an input material in the pesticide industry and many industries, by phytoremediation.

Method: In this study; nine different concentrations of 2,4-DKF solutions were prepared (75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 and 275 ppm) and experiments are carried out on three different types of plants under controlled conditions (hydroponic). In these trials, developmental and morphological parameters (length of different organs, wet and dry weight), physiological and biochemical parameters (photosynthetic pigments, activity of antioxidant enzymes and content of non-enzymatic antioxidants, etc.) are measured chromatographically. Both the concentration of 2,4-DKF remaining in the water in the hydroponic system and the amount retained in the leaves, stems+branches and roots of 3 different plant species are measured chromatographically.

Findings: The measurement results showed that increasing the concentration of 2,4-DKF in the growth medium of all three plants resulted in a decrease in the average length, fresh and dry weights of root, shoot (branch + leaf) and the whole plant (root + shoot). However, it is determined that low concentrations of 2,4-DKF did not have a serious effect on growth parameters. It has been observed that high concentrations of 2,4-DKF lead to a significant reduction in mean photosynthetic pigments and plant protein in both root and shoot parts. On the other hand, high concentrations of 2,4-DKF; It has been determined that it causes an increase in the activity of antioxidant enzymes such as catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, peroxidase, glutathione S-transferase and ascorbate peroxidase. It is also determined that high concentrations of 2,4-DKF caused an increase in malondialdehyde, superoxide and hydrogen peroxide contents in the roots and shoots of all three plants. The highest and lowest absorption rates of 2,4-DKF are observed in *Sinapis arvensis* and *Amaranthus retroflexus* plants, respectively. Among the plant organs, especially the root part is determined to absorb 2,4-DKF at the maximum level in all three plants. In general, it is concluded that high concentrations of 2,4-DKF affected the absorption rate of 2,4-DKF by increasing the activity of enzymatic and non-enzymatic antioxidants by decreasing the photosynthetic pigment and plant protein content.

Results: As a result of the findings obtained in this study; As a plant species, it is determined that the highest absorption rate is in *Sinapis arvensis* and it is determined that it is found in the root part among the plant organs. In this context; Among these 3 different plant species, especially *Sinapis arvensis* has the highest potential for phytoremediation in environments contaminated with 2,4-DKF, followed by *Datura stramonium* and *Amaranthus retroflexus* the lowest. In addition to 2,4-DKF, it is suggested that other toxic phenol derivatives (chlorinated and nitrated) can be used as alternative species in breeding studies with *Sinapis arvensis* -*Datura stramonium* -*Amaranthus retroflexus* plants with high phytoremediation potential.

Keywords: 2,4-DKF, Antioxidant enzyme, *Sinapis arvensis*, *Datura stramonium*, *Amaranthus retroflexus*, Reactive oxygen species

1. GİRİŞ

Günümüzde artan sanayileşme ve dünya nüfusu, beslenme kaygısını da beraberinde getirmiştir. Antropojenik faaliyetlerin etkisiyle doğal kaynaklar ciddi oranda zarar görmüş ve görmektedir. Toprak en önemli doğal kaynaklarımızdan birisidir. Ancak toprağın tarım dışı amaçlarla kullanımı, ağır metal, organik kirletici gibi etmenlerle kirlenmesi ve erozyon ile kayıplara uğraması sonucunda verimliliği de kaybolmaktadır. Bu bağlamda kirlilik, yaşayan tüm canlı organizmaları etkilemekte ve besin zincirinin son halkası olan insanoğlunu da ciddi anlamda tehdit etmektedir. Sanayi, madencilik ve tarımsal alanlardaki insan aktivitelerine bağlı olarak ortaya çıkan çevre kirliliği günümüzde küresel bir problem halini almıştır. Kirleticiler arasında ağır metaller, pestisitler, organik ve radyoaktif atıklar önemli bir yer tutmaktadır. Kirletici unsurların yapısal farklılıkları ve parametreler arasındaki ilişkilerin karmaşıklığı nedeni ile bu alanların fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılarak temizlenmesi zorlaşmaktadır. Kirlilik ile mücadelede topraktaki kirlenme oranının, neden olan kirleticilerin oluşturduğu risklerin ve toprağın en uygun şekilde temizlenmesi için gerekli olan şartların bilinmesi çok önemlidir. Kirlenmiş bir toprağın kirlilik düzeyinin tesbiti ve ıslahı için uzun bir zamana ve yüksek maliyetlere ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde inorganik ve organik kaynaklı kirleticilerin arıtılmasında kimyasal ve fiziksel arıtma işlemlerinin birlikte kullanıldığı konvansiyonel arıtma sistemleri yaygın olmakla birlikte, bu yöntemler kirleticileri ortamdaki istenilen düzeyde uzaklaştıramamaktadır. Bu yöntemler, kullanıldığı sanayi veya endüstri işletmelerine büyük maliyetler getirmektedir. Bu nedenle, endüstri işletmelerinin her geçen gün büyük sorunları arasına giren işletme atıklarının arıtılması ve ekonomiye kazandırılması için ucuz, sürdürülebilir, çevreye dost ve pratik uygulamaların geliştirilmesi konusunda yoğun bilimsel çalışmalar yapıldığı görülmektedir. Yapılan birçok çalışma ile mikroorganizmaların, alglerin, mantarların ve bazı bitkilerin organik veya inorganik kirleticilerin biyosorbsiyonunda kullanılabileceği görülmüş ve günümüzde bu konuda daha detaylı araştırmaların yapılmaya başlanmıştır.

Tüm bu arıtım metodlarının yanı sıra özellikle toprak ve sulak alanlarda kullanılan, biyoakümülyasyon karakteri yüksek yabani bitkilerle yapılan fitoremediasyon ile ıslah işlemleri, günümüzde diğer arıtım yöntemlerine alternatif olarak geliştirilen daha az maliyetli işlemler olarak tercih edilmektedir.

Inorganik kirleticilerden özellikle ağır metaller ile kirlenmiş alanlarda fito ıslah için kullanılan *Thlapsi*, *Urtica*, *Taraxacum officinale*, *Chenopodium*, *Polygonum sachalase* ve *Allyssim* gibi bazı hiperakümülatör bitkilerin kadmiyum, nikel, çinko, bakır ve kuşun gibi ağır metalleri dokularında akümüle etme yeteneği olduğu yapılan araştırmalarda ortaya konmuştur. Bu nedenle, bu bitkilerin kirlenmiş alanlarda yetiştirilmesi toprakların temizlenmesi için indirekt bir yöntem olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (EPA 1995). Örneğin, doğada yabani ve tarımsal bitkilerin çoğu çinkoyu (Zn+2) dokularında en fazla 100-200 ppm seviyelerinde biriktirebilirken, en çok bilinen hiperakümülatör bitkilerden *Thlapsi caeruledcens*'in kök gibi dokularında 26000 ppm'e kadar yüksek bir birikim yapabildiği belirlenmiştir (Lasat 2000).

Yaklaşık 450 bitki türü hiperakümülatör olarak tanımlanmaktadır. Asteraceae, Brassicaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Scrophulariaceae, Euphorbiaceae familyaları bu özelliğe sahip bazı örnekler arasındadır. Fitoremidasyon teknolojisi oldukça yeni bir yöntemdir ve gelişim aşamasında olduğundan etkinliği ve maliyetiyle ilgili veriler henüz yeterli değildir.

Fitoremidasyon işleminde kullanılan yüksek kirletici içerikli bitkilerin işlem bittikten sonra; kurutma, yakma, gazifikasyon, piroliz, asit ekstraksiyonları, anaerobik çürütme gibi yöntemlerle uzaklaştırılma işlemleri de ayrıca önemli ve dikkat edilmesi gereken bir konudur. Fitoremidasyon teknolojisinin kullanılabilirliği, kirleticinin bitki bünyesinde birikimini karakterize eden moleküler, biyokimyasal ve fizyolojik süreçlerin tam olarak açıklığa kavuşması ile artacaktır.

2,4-DKF (2,4-DKF), 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) herbisit üretiminin yanı sıra pek çok organik sanayide hammadde olarak kullanılan toksik bir organik maddedir. Bitkilerde 2,4-DKF'nin alımı ve metabolizması hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu toksik bileşiğin bitkiler ve çevre üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, fitoremidasyonu hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır.

Yapılan bir araştırmada, 2,4-DKF'nin yüksek fitoremidasyon kabiliyetine sahip bitkiler tarafından sulak alanlardan uzaklaştırılabileceğini veya detoksifiye edilebileceğini göstermiştir (Agostini et al. 2003; Wang et al. 2015). 2,4-DKF'nin sulu ortamlardan fitoremidasyonu için *Allium sativum* ve *Brassica napus* bitkileri kullanılmıştır. Bu bitkilerin (*A. sativum* ve *B. Napus*) 2,4-DKF'nin fitoremidasyonu sırasında fenolik bileşikler serbest radikallere oksitleyebilen peroksidazların yüksek aktivitesine sahip olduğu ortaya konuldu (Agostini ve ark. 2003; Wang ve ark. 2015).

Yukarıdaki değerlendirmeler perpektifinde, bu çalışmada 2,4-DKF ile kirlenmiş tarımsal veya sucul alanların ıslahında veya temizlenmesinde kullanılan yüksek maliyetli ve yoğun çaba gerektiren konvansiyonel mühendislik yöntemlerini içeren remediasyon teknolojileri yerine; maliyet olarak düşük, çevre dostu, sürdürülebilir ve etkinliği daha yüksek fitoremidasyon (yeşil ıslah) teknolojisinin kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu hedefe yönelik olarak 2,4-DKF detoksifikasyonu için 3 yabancı bitki (*Amaranthus retroflexus*, *Datura stramonium* ve *Sinapis arvensis*) kullanılmıştır. Fitoremidasyon için kullanılan bu bitkilerin familyasından gelen türlerin; hızlı büyüme, yüksek üreme başarısı, yüksek tohum ve biyokütle verimi, derin kökler ve kolay hasat gibi özelliklere sahip olmasının yanı sıra çevresel streslere karşı toleranslı olmaları da yapılan literatür araştırmaları sonucu belirlenmiştir (Garcinuño et al. 2006; Rodriguez-Hernandez et al. al. 2017). Bu yabancı bitkilerin ağır metallere karşı da fitoremidasyon kapasitelerinin yüksek olduğu vurgulanmıştır.

Bu çalışmada kullanılan üç yabancı bitkinin (*D. stramonium*, *A. retroflexus* ve *S. arvensis*) yukarıda belirtilen özelliklere benzer özelliklere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ancak 2,4-DKF gibi öncelikli toksik organik kirleticilere karşı gösterdikleri toleransları hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Çalışmada 2,4-DKF'nin fitoremidasyon teknoloji ile giderimi araştırılmak suretiyle; 2,4-DKF'nin bu yabancı bitkilerde önemli fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisi de

detaylı olarak belirlenecektir. Bu anlamda çalışma literatüre de özgün ve önemli katkı sağlayacaktır.

Phytoremediation terimini kelime anlamı olarak ele aldığımızda, bitki anlamındaki "phyto" ile ıslah anlamındaki "remediation" kelimelerinden türetilmiş olup, 1991'de terminolojiye girmiştir. Bu terim ingilizcede phytoremediation, bioremediation, botanical remediation ve green remediation olarak da anılmaktadır (EPA, 2000). Türkçe'de "Yeşil Islah" (Fitoremidasyon) olarak kullanılan bu ifade bitki temel alınarak çevreyi ıslah etme teknolojisi olarak bilinmektedir. Bu teknoloji ile organik ve inorganik maddeler bitki kullanılarak kirlilik oluşturduğu alandan bertaraf edilebilmektedir (Henry, 2000). Fitoremidasyon ayrıca atıksu iyileştirmede de kullanılan yeni bir yöntemdir. Fitoremidasyonla kirleticiler büyük ölçüde ortamdan uzaklaştırılmasına rağmen, çoğu zaman bu işlemin altında yatan biyolojik mekanizma tamamen bilinmemektedir. Fitoremidasyon teknolojilerinin verimliliğini artırabilmek için biyolojik süreçler hakkında daha fazla bilgi edinmemiz gerekmektedir.

Gelişen bir teknoloji olarak fitoremidasyon, yüzey suyu, yeraltı suyu, atık su, tortu, toprak ve/veya dış atmosferden zehirli kirleticileri uzaklaştırmak, stabilize etmek, aktarmak ve/veya yok etmek için bitkileri, yeşil bitki örtüsünü, ağaçları, su bitkilerini ve otları kullanan önemli bir süreçtir. Fitoremidasyonun mekanistik türleri, fitoekstraksiyon (yani fitoakümülyasyon), arttırılmış rizosfer biyobozunması, fitostabilizasyon ve fitodegradasyonu içerir (Chappell, 1997). Fitoremidasyon, metallerin alınması ve iyileştirilmesi, zararlı organik kirleticiler (yani, pestisitler, PAH'lar, ham petrol), TNT patlayıcılar, poliklorlu bifeniller, organik çözücüler, atrazin gibi herbisitleri ve çöp sızıntı suları için kullanılabilir. Bazı bitki türlerinin köklerinde metaller gibi kirleticileri biriktirme ve depolama eğilimi ve yeteneği vardır. Bu bitki türleri, kirlenmiş su veya atıksudan metalleri ve kirleticileri filtrelemek için kullanabilmektedir. Kökler kirletici maddeler ve/veya metallerle doymuş hale geldiğinde hasat edilirler. Genellikle, hiper-akümülatör bitkiler, dikkate değer miktarda metalik kirleticileri çok daha fazla oranda biriktirebilir ve depolayabilir. Ağaçlar (odunsu bitkiler), organik kirleticileri yeraltı sularından uzaklaştırma yeteneklerini araştırmak için halihazırda incelenmektedir. Yapılan araştırmalar; organik kirleticilerin bitki dokusuna geçmesi veya CO₂ ile yer değiştirmesini, birikmesini, terlemesini ve muhtemel metabolik süreçleri içerir. Bilindiği gibi, bitkiler bir yandan rüzgar ve tozun önlenmesine yağmurun ise yağmasına yardımcı olurken diğer yandan yeraltı suyu akışının kirleticileri sahanın daha derin noktalarına ve çevredeki alanlara dikey ya da yatay yönde taşınmasını engeller (Burken and Schnoor 1997; Newman et al. 1997; Hughes et al. 1997; Shang, et al. 2003; Pilon-Smits 2005).

Dünya çapında antropojenik faaliyetler arttıkça, toprağın kirlenmesi ve kirli alanların iyileştirilmesi, çevresel tehditle ilgili dünya çapında bir endişe haline gelmiştir. Avrupa'da yaklaşık 340.000'den fazla sahanın organik ve inorganik kirleticiler ile kontamine alan olduğu tahmin edilmektedir. Bu alanların yaklaşık %15'i ıslah edilmiştir ve edilmektedir. ABD' de ise 540.000'den fazla saha içerisinde 23 milyon dönümlük kirlenmiş toprak ve arazinin Katı Atık ve Acil Müdahale Ofisi (OSWER) tarafından başarılı bir şekilde ıslah edildiği bilinmektedir. Avustralya'da, mineral madencilik, petrol rafinerisi ve kimyasal üretim dahil olmak üzere tarımsal

faaliyetler ve endüstriyel işletmeler, pestisitler, besin elementleri, ağır metaller, mineral tuzlar, hidrokarbonlar, partiküller toprağın kirlenmesine neden olmuştur. Bu ülke genelinde tahmini yüzde yirmilik kontamine alan sözkonusudur..Çin'de, 2014 yılında, Arazi ve Kaynaklar Bakanlığı ve Çin Çevre Koruma Bakanlığı, ülke çapında toprak kirliliği ile ilgili ilk bülten anketlerini yayınlamıştır. Yaklaşık 20 milyon hektar arazinin ağır metallerle kirlendiğini tahmin etmişlerdir. Bu kirlenmiş arazilerin, Çin'de 10 milyon ton/yıl'ı aşan gıda arzında azalmaya neden olduğu ileri sürülmüştür.

Belirli kirleticilerin biyolojik olarak parçalanabilirliği, kirleticilerin fiziko-kimyasal özelliklerinin yanı sıra toprağın kimyasal kirleticiler tarafından nederece kirlenmiş olduğuna da bağlıdır. Toprağın türüne bağlı olarak, ıslah edilme verimi değişiklik gösterir. Bunun nedeni suda çözünmeyen organik kirleticilerin davranışı olabilir. Bununla birlikte, fiziko- kimyasal arıtım stratejilerinin yüksek maliyetleri bu çabaları engelleyebilmektedir. Bu nedenle biyolojik arıtım stratejilerinin kullanımı daha uygulanabilir görünmektedir. Biyolojik yöntemlerde, kalıcı ve toksik kirleticileri parçalamak için bitkiler; bakteriler, mikroalgler ve mantarlar gibi farklı biyolojik ajanları kullanır. Temel amaç, organik kirleticileri tamamen su ve CO₂ gibi zararsız bileşiklere dönüştürmektir. Zaman faktörü de önemli bir faktördür (Abdel-Shafy et al. 2018).

Endüstriyel faaliyetlerden dolayı atık su ve yüzeysel sulardaki toksik ve kalıcı kirleticilerin bulunması, biyobirikime yatkınlıkları, kanser yapıcı etkileri, öncelikli toksik bileşikler arasında olmaları ve biyolojik olarak zor bozunmaları gibi yönleri ile çözüm bulunması gereken önemli problemler arasındadır. Önemli ve öncelikli klorlanmış fenol türevlerinden birisi olan ve Türkiye'de tüketimi en yoğun olan (2,4-D Herbisitin ana hammaddesi olarak kullanılan) 2,4-DKF'nin (2,4-DKF) giderimi için pek çok ileri arıtım teknikleri kullanılmıştır. Klorofenoller tarım, sanayi, halk ve çevre sağlığı gibi geniş bir yelpazede ham madde olarak kullanılmaktadır. Ayrıca tehlikeli atıklar listesinde de öncelikli kirleticiler (priority pollutant) arasında yer almaktadır (Rodriguez, 2017). Amerika Çevre Ajansı (USEPA, Aralık-2014), Avrupa Birliği tarafından (2455/2001/CE) temiz su yasası kapsamında öncelikli toksik kirleticiler listesinde bulunan, halk ve çevre sağlığı ve su ekosistemi açısından son derece ciddi riskler oluşturan substitue fenol türevleri ile kontamine olmuş atık suların arıtımına yönelik bir çok yöntem mevcuttur. Ancak bu yöntemlerin (aktif karbon adsorpsiyonu, kimyasal oksidasyon, ileri ve kombin oksidasyonlar, fotokatalitik ve biyolojik bozulma gibi) yüksek işletme ve bakım maliyetleri söz konusudur (Chaliha ve Bhattacharyya, 2008; Shin et al. 2010; Shaarani and Hameed, 2011). Yine giderimde kullanılabilecek alternatif mikroorganizmaların kullanımı da (bu kirleticilerin toksisitesi ve biyoakümülyasyon kapasiteleri yüksek olduğu için) pratik ve kolay uygulanabilir değildir (Shi et al. 2012). Bu nedenle alternatif yöntem olarak yabancı bitki türleri ile yapılan fitoremediasyon tekniği ile toksik ve kalıcı organik kirleticilerin ve ağır metallerin, yüzeysel-yer altı sularının sedimentlerinde ve toprakta pestisit ve diğer toksik organik kirleticilerin tolerans, giderim, akümülyasyon ve biyotransformasyon çalışmaları bayağı ilgi çekicidir (Glick, 2003; Pilon-Smits, 2005). Fitoremediasyon tekniği, oldukça estetik, uygun maliyetli çevre üzerine minimal etkiye sahip bir tekniktir (McKinlay and Kasperek, 1999; Suresh and Ravishankar, 2004).

Öncelikli Toksik Organik Kirleticilerden Klorofenol Türevleri

Toksik kimyasalların büyük bir kısmını teşkil eden fenol ve türevleri (kloro fenoller) yaşamın hemen her alanında yer edinmiştir. Çeşitli endüstrilerde ve günlük yaşamda oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olan bu kimyasallar atıksulara salındığında yüzey ve yeraltı sularında sucul organizmalar için ekolojik risk oluşturur. Doğal su çevriminde yer alarak yüzey ve yeraltı sularına, besin zincirine karışarak sağlığı ciddi şekilde tehdit eder. Çoğu kanserojendir ve endokrin bozucu özellikleri ile geri dönülmez organ hasarlarına neden olurlar. Fenol ve türevleri aerobik koşullarda biyobozunurdur fakat (biyo)katıları inhibe etme özellikleri biyobozunurluğun önüne geçmektedir. Toksik etkileri mikroorganizmaların enzimlerini inhibe ederek aktivitesini bozduğundan çoğu biyolojik arıtma tesisinin de verimli çalışmasını engellerler. İleri arıtma yöntemleri bu maddelerin toksik etkilerini gidererek biyolojik arıtılabilirliğine katkı sağlamaktadır. Verim elde edilen giderme proseslerinin bilinmesi için fenol ve türevlerinin çevredeki davranışlarının anlaşılması gereklidir. Davranışı bilinen ve giderilme yöntemleri belirlenmiş bir kimyasalın çevreye ve sağlığa olan tehdidi en aza indirgenir ve geleceğe daha güvenli bir yaşam ortamı bırakılır.

Klorofenoller fenollere klorun eklenmesiyle oluşan kimyasallar olup 5 temel türü ve 19 farklı çeşidi vardır. Fenollerin hammadde olarak en çok kullanılan en geniş grubudur. Klorofenol ve türevleri, tekstil, pestisit, ilaç gibi endüstrilerde yaygın olarak kullanılan ve kalıcı çevresel kirliliğe neden olan öncelikli toksik organik kimyasallardır. Monoklorofenoller, poliklorofenoller, kloronitrofenoller, kloroaminofenoller ve klorometilfenoller içeren klorofenoller, çok toksik, kanserojen, mutajenik ve sitotoksik özelliktedir. Klorofenoller, çevrede, su ve topraktaki mono ve poliaromatik bileşiklerin klorlanmasıyla oluşur. Okyanuslarda 5-10 ng/L konsantrasyonundadır. 2-2000 µg/L ile en yüksek konsantrasyonu nehirlerde kaydedilmiştir. Klorofenollerin atmosferik konsantrasyonu yaklaşık 0.25-7.8 ng/m³ olarak belirlenmiş olup bu değer Hollanda'nın kıyı kesimlerinde 1 µg/m³ konsantrasyonunda tespit edilmiştir (Czaplicka, 2004). Çiftlik hayvanlarında da 2-3 µg/kg tavuk eti konsantrasyonunda belirlenmiştir. Almanya'da yapılan bir araştırmada kronik maruziyet yaşamış çocuk ve yetişkinlerin kanında 2.48 µg/L pentaklorofenole rastlanmıştır (HeuDor et al. 2003). Klorofenollere sindirim yolu ile nefes veya deri teması ile maruz kalınabilir, fakat genellikle içme suyu ve yiyeceklerden daha fazla geçebilmektedir. İlaç, kimyasal, tekstil, metalürji gibi sanayinin birçok dalında kullanılmasına rağmen çevrede ortaya çıkışı daha çok pestisitlerin kullanımı ve bozunmasıyla ilgilidir. 2-klorofenol, 2,4-DKF ve 2,4,5-triklorofenol herbisit ve 4-klorofenol fungusid olarak kullanılır.

Biyositlerin üretiminde klorofenoller en önemli ham maddeler arasındadır. Antiseptik olarak kullanılabilecek pek çok alternatif ham madde olmasına rağmen klorofenoller daha fazla tercih edilmektedir. Evlerde ve hastanelerde dezenfektan, tarım sektöründe pestisit alternatifi, diş hekimliği uygulamalarında ise antiseptik olarak paraklorofenollerin kullanımı oldukça yaygındır. Klor sayısı yüksek fenollerin de, bakteri, virüs, mantar ve alg öldürücü olarak yaygın bir kullanım alanı bulunmaktadır. Klor sayısı yüksek olan fenoller, monoklorlanmış fenollerden hareketle üretilir. Dikloro ve trikloro fenoller gerek Dünya'da gerek Türkiye'de çok yüksek kullanım alanına sahip olan herbisit (2,4-D, 2,4,5-T) üretimi için kullanılan ana hammaddeler

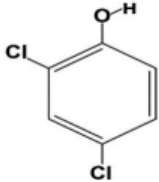
arasındadır. Klorofenoller çevre ve sağlık üzerine kompleks toksik etkilere sahip olduğundan giderimine yönelik araştırmaların yapılması çok önemli bir görevdir. Sucul çevrede, organizmaların dokularında ve askıda inert katıların üzerine adsorbe olmuş, tek başına veya kompleks halde bulunabilirler. Endüstriyel atıksularda yoğun konsantrasyonlarda bulunduğu için toprak, sediment, yüzey ve yer altı sularında yaygın olarak bulunurlar (Annachhatre and Gheewala, 1996). Antiseptik, ahşap koruyucu, herbisit (ot öldürücü), böcek ilacı ve mantar ilacı üretiminde ve ayrıca hidroksil grup ve aromatik zincir yapılarından dolayı kimyasal sentezlerde kullanılan çok yönlü maddelerdir (Xin-hua et al. 2005). İçme sularının klorlanması ve klorsuzlaştırılmasıyla da yan ürün olarak oluşabilen klorofenoller çok toksik, biyobozunurluğu zor ya da imkansız, kararlı ve kanserojen hatta mutajenik kimyasallardır (Pera-Titus et al. 2004; Mathialagan and Viraraghavan, 2005). Her yıl yaklaşık 150 bin ton üretildiği tahmin edilmektedir (Garbou et al. 2017). Environmental Protection Agency (EPA) tarafından öncelikli kirleticiler listesinde yer almaktadır (Zhou et al. 2014; Song et al. 2017). Konvensiyonel arıtma prosesleri klorofenollerin giderimi için yeterli ve ekonomik değildir (Sun et al. 2014; Zhang et al. 2015). Toksik etkilerinin dışında suya tat ve koku verir ve alıcı ortamda oksijen gerekliliğini artırır (Chaliha and Bhattacharyya 2009; Hussaina et al. 2012). İçme suyunda 0.1 µg/L seviyelerinde bulunması durumunda kötü tat ve kokuya sebep olur (Pera-Titus et al. 2004). Çok düşük seviyelerde de olsa besin zincirine dahil olmaktadır (Paasivirta et al. 1980; WHO, 1989). Klorlu grupları arttıkça toksisitesi, herhangi bir organizmaya tutunma potansiyeli ve lipofilitesi de artar.

Ancak Ceylan ve grubu tarafından yapılan araştırmalar sonucunda; sırasıyla 4-kloro fenolün 2,4- dikloro fenolden ve onunda 2-kloro fenolden daha toksik olduğu ortaya konulmuştur (Ceylan et al.2020)

Sanayi atıksularında en çok rastlanan organik kirleticiler arasında klorlanmış fenollerin olduğu bilinmektedir. Özellikle mono ve diklorofenol kirliliğinin kaynağı olarak karşımıza çıkan demir-çelik, insektisit ve herbisit, plastik, organik kimyasallar, ilaç sektörü, kâğıt ve karton üretimi yapan endüstri kollarıdır. Bu sanayilerin atık sularında 2,4-DKF bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca pestisitlerin bozulması ve de organik muhtevası yüksek çöplerin açıkta yakılması sonucunda da klorofenollerin oluştuğu bilinmektedir (Ahlborg and Thunberg, 1980; Hoekstra et al. 1999). Keza ekosistemde doğal olarak var olan ve oldukça karmaşık bir yapıya sahip olan hümik maddeler; klorofenollerin ortaya çıkışında önemli doğal kaynaklar arasındadır. Hümik asitin hidrolizi sonucu klorofenollerin oluşması kaçınılmazdır. Yüzeyel sularda, klorofenol konsantrasyonlarının 10 ng/L'nin üzerinde olduğu bir çok araştırma sonucu tespit edilmiştir (Aytaş 2008). Sulardaki diğer bir klorofenol kaynağı ise içme sularının klorlanmasıdır (kırılma noktası klorlaması). Bu konu ile alakalı olarak Kanada'da yapılan çalışmalarda içme suyu arıtım tesisinin dezenfeksiyon amaçlı klorlama prosesinden çıkan sudan alınan örneklerde çok geniş bir skalada 7 - 130 ng/L aralığında mono-di-tri fenol türevlerine rastlanmıştır. Ayrıca klorofenol izomerlerinin, kimyasal üretim sürecinde ve daha yüksek klora sahip fenol türevlerinin oluştuğu proseslerde ve bunların yanısıra fenolik reçinelerin, boyaların ve ilaçların sentezinde de ara ürün olarak oluştuğu bilinmektedir.

Mono ve diklorofenollerin bir çoğunun uçucu olduğu bilinmektedir. Çok uçucu olmaları sebebiyle atmosfere hızla karıştıkları bilinmektedir. Bunun yanı sıra klorlanmış fenol içeren atıkların yakılması sonucunda yine atmosfere yoğun bir şekilde mono ve diklorofenollerin atılmaları söz konusudur. 2,4-DKF içeren evsel katı atıklar, tehlikeli atıklar, odun, kömür ve herbisitlerin yakılması sonucu atmosfere yayıldığı belirlenmiştir (Kot-Wasik *et al.* 2004; Dimou *et al.* 2006; Gao *et al.* 2008; Talano *et al.* 2012). Klorofenollerin topraktaki varlığı, fabrika atıklarının toprağa bırakılması (atık sahası vb.), atmosferden çökme ve kaza sonucu yayılma (dökülme vb.) gibi çeşitli nedenlerden kaynaklanabilmektedir. Yapılan bir çalışmada herbisit 2,4-D'nin (2,4-diklorofenoksiasetik asit) toprakta 2,4-DKFe hidroliz olduğu gözlemlenmiştir. 2,4-D'nin üretiminin haricinde birkaç gergisit ve toprak gübresi üretiminde de bu kirlitici kullanılmaktadır (Talano *et al.* 2012). Ahşap koruyucu olarak klorofenollerin (çoğunlukla 2,3,4,6-TeCP) kullanımı kereste fabrikalarının çevresindeki toprak kirliliği ile sonuçlanmaktadır(ATSDR, 1999). Klorofenollerin topraktaki taşınımının; sudaki çözünürlükleri, topraktaki pH, toplam yağış, organik madde içeriği, toprağın tanecik ve geçirgenliği, topraktaki biyolojik süreçler, buharlaşma hızı gibi birçok faktörden de etkilendiği bilinmektedir (Czaplicka, 2003). Klorofenoller, pestisitler ve ahşap koruyucu ürünler olarak kullanılmasına rağmen, çevreyi kirleten önemli bir kirlitici sınıftır (Favaro *et al.* 2008). Ayrıca bu bileşikler pestisitlerin bozunması ve organik çöp yakma yöntemleri ile üretilir (Ahlborg and Thunberg, 1980; Hoekstra *et al.* 1999). 2,4-D herbisiti ile çeşitli mikrop ve toprak gübreleri gibi öldürücü ilaçlar, 2,4-DKF'dan üretilir (Talano *et al.* 2012). Ayrıca bu bileşik tohum dezenfektanı ve kâğıt hamuru üretiminde de kullanılır (Stoilova *et al.* 2006).

Tablo 1. 2,4-DKF'ün Fizikokimyasal Özellikleri (Ceylan and Aydın 2020)

Priority pollutant name	Formula	CAS no	Melting point	Density (g /cm ³)	Log K _{ow}	Solubility in water (g/L)	K _h (L.liq/L.gaz)	Boiling point (°C)	K _b (L/mg.hr)	pKa
	C ₆ H ₄ Cl ₂ O	120-83-2	45	1.383	3.2	4.5	1.96 × 10 ⁻⁴	210	0.0033	7.68
2,4-Dichlorophenol										

Bioaccumulation coefficient (Kow), acidity constant (pKa), aerobic biodegradation rate (Kb), Henry coefficient (Kh).

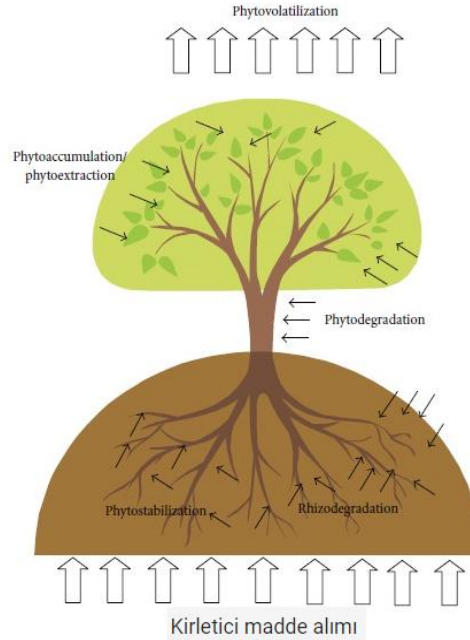
Çevre Koruma Ajansı (Environmental Protection Agency - EPA), 2,4-DKF'yi toksik, kanserojen ve kalıcı bir kimyasal bileşik ve öncelikli çevresel kirlitici olarak sınıflandırmıştır (ATSDR, 2015). Bu bileşik temiz su kaynakları, deniz ortamı, endüstriyel su deşarjları, kirlilikler ve çöp yakma sırasında atmosferik emisyonlarda yüksek seviyelerde tespit edilmiştir (Kot-Wasik *et al.* 2004; Dimou *et al.* 2006; Gao *et al.* 2008; Talano *et al.* 2012). Bu nedenle, 2,4-DKF'nin su ve tarımsal alanlarda temizleme stratejilerini geliştirmeye yönelik çabalar giderek önem arz etmektedir. Bu anlamda, literatürde çeşitli fizikokimyasal ve biyolojik yöntemler bildirilmiştir (Chaliha and Bhattacharyya, 2008; Shin *et al.* 2010; Shaarani and Hameed, 2011). Bununla birlikte, fizikokimyasal yöntemler pahalıdır ve her zaman uygulanamaz. Öte yandan, kirleticilerin konsantrasyonuna bağlı olarak mikroorganizmaların uygulamalarda arıtım

amaçlı kullanımı bazı zorluklara neden olur (Shi *et al.* 2012). Diğer taraftan; bitkilerde 2,4-DKF'nin alımı ve metabolizması hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu toksik bileşiğin bitkiler ve çevre üzerindeki etkileri ile ilgili yoğun çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, fitoremidasyonu hakkındaki bilgiler tatminkar seviyelerde değildir.

Fitoremidasyon, bitki yetiştirilerek kirlenmiş alanların kirleticilerden temizlenmesi işlemi olarak tanımlanmaktadır. Bitkiler organik ve inorganik kirleticileri bünyelerine alarak, biriktirerek, depolayarak veya parçalayarak kirli alanların ıslah edilmesini sağlarlar. Bu sayede kirlenmiş arazilerin düzenlenmesi veya stabilize edilmesi amaçlanmaktadır. Fitoremidasyon, diğer ıslah yöntemlerine göre sürdürülebilir, uygun maliyetli ve çevre dostu bir teknik olması nedeniyle önem taşımaktadır. Ancak fitoremidasyonda başarılı olabilmenin şartı uygun bitkilerin geliştirilmesi ve bitkilerin kirleticiye olan tolerans mekanizmalarının belirlenmesinin gerekliliğidir. Bazı bitkiler, kök ve/veya yaprak, gövde, sürgün gibi toprak üstü yapılarında toprakta veya sulak alanda bulunan kirletici miktarından çok daha yüksek seviyede (50-500 kat gibi) kirletici biriktirme özelliğine sahiptir. Bu tip bitkilere hiperakümülatör bitki denir. Bunların en önemli özelliği, kirleticilere karşı yüksek toleranslı olup önemli bir toksisite göstermeden onları tüm organlarında veya spesifik bir organda biriktirebilmeleridir.

Fitoremidasyon mekanistik olarak Fitoekstraksiyon (Fitoakümülyasyon), Rizostabilizasyon, Fitostabilizasyon, Fitodegradasyon, Rizodegradasyon ve Fitovolatilizasyon olarak değişik türlerde incelenmektedir.

Fitoremidasyon Türleri



Şekil 1. Fitoremidasyon türlerinin bitkilerin kısımları üzerindeki gösterimi

Fitoekstraksiyon (Fitoakümülyasyon)

Fitoekstraksiyon, metalleri ve diğer kirleticileri topraktan, tortulardan veya sudan uzaklaştırmak için bitkiler tarafından alımını sağlayan bir fitoremidasyon tekniğidir. Başarılı bir bitki özütlemesi, kirlenmiş ortamın çevresel düzenlemelere uygun bir seviyeye kadar temizlenmesini gerektirir ve ekonomik bir bakış açısıyla bunun alternatif bir teknolojiden veya eylemsizlik maliyetinden daha düşük bir maliyetle gerçekleştirilmesi gerekir. Bununla birlikte, son on yılda konuyla ilgili yoğun araştırmalara rağmen, başarılı fitoekstraksiyon gösteren çok az saha denemesi veya ticari operasyon gerçekleştirilmiştir. Bu, bizi sahadaki fitoekstraksiyon uygulamalarının fırsatları ve tehditleri üzerine tartışmaya odaklamaktadır (EPA 1995). Fitoekstraksiyon, metalle kirlenmiş toprakların iyileştirilmesi için basit ve ekonomik bir teknik gibi görünmektedir. Bununla birlikte, yapılan araştırmalar, tekniğin uygulanabilirliğinin sınırlı olabileceğini ve pratik sonuçların ilk düşünüldüğü kadar belirgin olmayabileceğini ortaya koymaktadır. Şu anda teknoloji, temizleme için gereken uzun süre, çıkarılabilecek sınırlı sayıda hedef metal, kökler tarafından değerlendirilebilen sınırlı derinlik, istenen türlerden yüksek biyomas üretiminin zorluğu ile sınırlıdır. Yerel otoburlar bu bitkileri tüketirse, toksik elementlerin besin zincirine girmesine neden olacağından metal biriktiren bitkiler hakkında da endişeler vardır (Blaylock ve Huang 2000).

Bitki türlerinin fitoekstraksiyon amaçlarına uygun olması için aşağıdaki kriterleri karşılaması gerekir: (i) toksik seviyelerde bulunan elementlere karşı metallotolerans, (ii) yüksek biyokütle üretimi ve (iii) hasat edilmesi kolay kısımlarda metallerin etkin birikimi. Fitoekstraksiyon kullanılarak kirlenmiş alanların restorasyonunun genel konsepti, uygun bitki türlerinin yerinde yetiştirilmesinden, ağır metal içeren biyokütlenin hasat edilmesinden ve hacmini ve ağırlığını azaltmak için (kompostlama, sıkıştırma, kurutma, termal ayrıştırma yoluyla) işleme tabi tutulmasından oluşur. Ortaya çıkan, yüksek düzeyde metal kirletici içeren ağır metal ile zenginleştirilmiş kütle, daha sonra tehlikeli bir atık olarak bertaraf edilir veya ekonomik açıdan avantajlıysa, eser elementlerin yeniden ekstraksiyonu için kullanılabilir. Genel olarak, kullanılan bitki türlerinin türüne göre farklılık gösteren metal fitoekstraksiyonu için üç temel strateji düşünülebilir: (i) doğal hiperakümülatörler, (ii) yüksek biyokütle üretimine sahip hızlı büyüyen bitki türleri ve (iii) genetiğiyle oynanmış bitkiler. Bu yöntemde uygun hiperakümülatör bitkilerinin seçilmesi ve genetik yöntemler kullanılarak hiperakümülatör bitkilerin geliştirilmesi fitoremidasyon teknolojilerinin geliştirilmesinde gelecek için önemli stratejilerdendir.

Rizostabilizasyon

Rizofiltrasyon yönteminde diğer yöntemlere nazaran kullanılacak bitkilerde filtre görevi yapan iyi gelişmiş bir kök sistemine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yöntemde toprağın ıslahından çok kirlenmiş sudaki ağır metallerin alandan uzaklaştırması uygulanmaktadır. Kirleticiler ya bitkilerin kök yüzeylerinde absorbe edilir ya da kökler aracılığı ile emilerek bitkinin diğer organlarına taşınır. Rizofiltrasyon yöntemi için tercih edilecek hiperakümülatör bitkiler direkt olarak alana ekilmeden önce farklı bir ortamda kirleticiye adaptasyonu sağlanır. Bitkilerin kökleri istenilen düzeyde gelişene

kadar toprak yerine temiz suda bekletilmesi tercih edilir. Daha sonra bu gelişmiş kök sistemli bitkiler adaptasyon amaçlı kirlenmiş bir su kaynağına aktarılır. Son olarak bitkilerin uyum sorunu ortadan kalktıktan sonra rizofiltrasyon yöntemini uygulayacağımız kirlenmiş alana dikim işlemi gerçekleştirilir. Kökler doygun hale geldikten sonra hasat işlemine başlanılır ve güvenli bir şekilde imhası gerçekleştirilir (EPA 1995).

Fitostabilizasyon

Fitostabilizasyon genellikle erozyonun meydana geldiği sahalarda erozyonu önlemek amacıyla, yer altı sularına kirleticilerin sızmasını engellemek ve toprakla doğrudan temasını engellemek için kullanılır ve bu yöntem için toprak yüzeyi alana uygun olan hiperakümülatör bitkiler ile örtülmektedir (Bert vd. 2005). Fitostabilizasyon yöntemi ile bitkiler kökler vasıtası ile kirleticileri fiziksel ve kimyasal olarak sabitleyebilirler (Berti ve Cunningham 2000). Bu yöntem için, ağır metallerle kirlenmiş topraklarda büyüyen gelişebilen ve toksik metalleri daha az toksik formlarına dönüştürebilmek için toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirebilen bitkilere ihtiyaç duyulmaktadır. Aynı zamanda fitostabilizasyon yönteminde kullanılacak bitkilerin geniş bir kök sistemleri olmalı ve yüksek konsantrasyonlardaki metallerle orantılı bir şekilde biyokütle üretebilmelidirler (Rizzi *et al.* 2004). Bu yöntem daha çok toprak, sediment ve çamurların ıslah edilmesinde kullanılır. İyileştirme çalışmaları kapsamında As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn gibi elementlerle kirlenmiş topraklarda yapılan çalışmalar sonunda hibrit kavaklar ve Hindistan hardalı gibi bitkilerin başarılı bir şekilde kullanıldığı görülmüştür (EPA 2000).

Fitodegradasyon

Fitodegradasyon, organik kirleticilerin köklerden enzimlerin salınması yoluyla veya bitki dokularındaki metabolik aktiviteler yoluyla doğrudan bozulmasını içerir. Fitodegradasyonda organik kirleticiler kökler tarafından alınır ve bitki dokularında daha az toksik maddelere metabolize edilir. Hidrofobik organik kirleticilerin fitodegradasyonu özellikle daha başarılı olduğu belirlenmiştir. Kavak ağaçları (*Populus* sp.), toksik ve inatçı organik bileşiklerin fitodegradasyonunda başarıyla kullanılmıştır. Rizodegradasyon, toprak mikroplarının biyolojik olarak bozunması yoluyla organik kirleticilerin rizosfer içinde daha az toksik maddelere indirgenmesini içerir. Bu süreç, toprak mikroplarının popülasyonlarını sürdüren kök salgıları (organik moleküller) tarafından kolaylaştırılır. Bu süreci geliştirmek için, kirlenmiş topraklara belirli bir bakteri inokulasyonu eklenebilir. Bakteriyel inokulasyonu, hedeflenen kirleticiler maddeleri parçalamak için istenen metabolik aktiviteye sahip suşları içerir. Bitkileri, belirli bir kirleticiyi bozan genetiğiyle oynanmış bakteri türleri ile aşmak, umut verici sonuçlar doğurmuştur. Ayrıca, toprak bakteri popülasyonları, biyostimülasyon adı verilen bir süreç kullanılarak çoğaltılabilir. Bu, örneğin, bakteri popülasyonlarını artırmak için toprağın besin ve pH seviyelerinin manipüle edilmesini gerektirir (Newman and Reynolds 2004; Mirsal 2004).

Rizodegradasyon

Bu yöntemin esası, bitkilerin toprak mikroorganizmaları ile birlikte çalışarak organik kirleticileri etkisiz hale getirmesidir. Rizodegradasyon ayrıca rizoremediasyon, fitostimülasyon, bitki destekli biyoremediasyon, mikrop destekli fitoremediasyon, bitki destekli yerinde biyobozunma ve gelişmiş rizosfer biyobozunması olarak da adlandırılır. Topraktaki organik kirleticileri parçalamak için rizosferdeki mikrobiyal toplulukların büyümesini uyaran bitki tarafından sağlanan substratlar aracılığıyla gerçekleşir. Başarılı fitoremediasyon süreçlerini genellikle iki faktör kontrol eder; çevresel kirleticilerin toksisitesi ve mevcut olmayan toprak besin maddelerinde ve değiştirilmiş toprak dokusunda toprak verimliliği kayıplarıdır. Başarılı rizodegradasyon genellikle mikrofloranın kirleticileri parçalama yeteneğine, kirlenmiş toprakta yeterli miktarda besin maddesine ve kirleticilerin biyoyararlanımına bağlıdır. Rizodegradasyon, bitkilerin biyokütlesini kökler, kök eksüdatları (bitkiden salınan besinler), rizosfer toprağı ve mikropların karmaşık etkileşimleri ile kirletici maddelerin bozulmasına neden olan karmaşık etkileşimlerle arttırırken, kirleticiler tarafından sunulan çeşitli streslere karşı bitkilerin direncini artıran spesifik bakterilerin uyarılması için bir yol sunar. Buna karşılık, bitki kökleri toprağı hava verir ve kök eksüdatları yoluyla ekzoenzimleri ve besinleri serbest bırakır. Kök eksüdatları, kirletici hidrokarbonların biyolojik olarak parçalanmasını uyaran bileşikler içerebilir. Örneğin, Exxon Valdez petrol sızıntısı nedeniyle kirlenmiş topraklarda bozulmamış ve fitanın hızlı biyolojik bozunmasında görülen fitoremediasyon tekniğinin ilk uygulaması, çevredeki çam ağaçları tarafından üretilen doğal olarak oluşan terpenleri tüketmek üzere evrimleşmiş mikroplara dayandırılmıştır. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, inatçı kirleticileri, özellikle de PAH'ları eski haline getirmek için etkili bir strateji olarak mikrop destekli fitoremediasyonun kombine kullanımını desteklemiştir (Mirsal 2004).

Fitovolatilizasyon

Fitovolatilizasyonda, topraktan gelen kirleticiler, bitkiler tarafından emilir ve biyotransformasyondan sonra atmosfere daha az toksik formlara salınır; Bu yöntem, serbest bırakılan ürünlerin (daha az toksik formlar) yakındaki arazilerde yeniden tortulaşma olasılığı olduğundan, tam bir iyileştirme çözümü olarak kabul edilmemiştir. Selenyum ve civa gibi metallerin topraktan bitkiler tarafından emilerek dimetil selenit ve civa oksit gibi uçucu formlara dönüştürülerek atmosfere salındığı, uçucu bileşiklerin (dimetil selenit, civa oksit) metalik formdan daha az toksik olduğu ileri sürülmüştür (Ghosh and Singh 2004). Fitovolatilizasyon sürecinde yer alan adımlar şunlardır:

1. Adsorplanan kirleticilerin (organik veya inorganik) kök yoluyla yer değiştirmesi, onları bitki dokularında daha az toksik forma dönüştürür.
2. Modifiye edilmiş bileşikler yapraklara yer değiştirmiştir.
3. Yapraklarda stomalar aracılığıyla ya terleme (uçucu gaz halindeki form) ya da buharlaşma (hidatotlardan sıvı halde salınır ve buharlaşır) işlemi kullanılarak atmosfere salınırlar. *Canna glauca*, *Colocasia esculenta*, *Cyperus papyrus*, *Azolla caroliniana*, *Arundo donax*, *Pteris vittata*, *Brassica juncea*, *Lupinus sp.*, *Liriodendron tulipifera* ve *Typha angustifolia* gibi bitkiler, ağır metal buharlaşması için iyi bilinmektedir. Ağır metallerin fitovolatilizasyonu, nüfus

yoğunluğunun yüksek olduğu şehirler ve yerler için uygun değildir. Fitovolatilizasyon yönteminin uygulama alanları yeraltı suları başta olmak üzere toprak, çamur ve sediment gibi yerlerde (Şekil 1) başarıyla uygulanabilmektedir (EPA 2000).

Çevresel Strese Maruz Kalan Bitkilerde Oluşan Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'ne Karşı Gelişen Antioksidan Savunma Sistemleri

Bitkiler, doğal olarak çevre stresine maruz kalırlar ve bu stres koşulları, bitkilerde bir dizi fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişikliklere neden olur. Bu değişiklikler arasında reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi de yer alır.

Bitkiler, fotosentez sırasında ve diğer biyokimyasal reaksiyonlarda reaktif oksijen türleri (ROS) üretirler. Süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), bitkilerde yaygın olarak bulunan ROS türleridir.

Süperoksit anyonu, hücre zarlarını, proteinleri ve DNA'yı zarar verebilen yüksek reaktiviteye sahip bir ROS türüdür. Bitkilerde, $O_2^{\cdot-}$, birçok stres koşulunda (örneğin, yüksek ışık, kuraklık, tuzluluk) artar. Bitkiler, süperoksit dismutaz gibi enzimler aracılığıyla $O_2^{\cdot-}$ 'yi nispeten zararsız hidrojen peroksit'e (H_2O_2) dönüştürerek bu zararı minimize etmeye çalışırlar.

Hidrojen peroksit, bitkilerde sinyal molekülü olarak işlev görebilir ve birçok fizyolojik süreçte önemli bir rol oynar. Örneğin, bitkilerde stoma açılımı ve kapanması gibi farklı süreçlerin düzenlenmesinde H_2O_2 sinyali kullanılır. Ancak, aşırı H_2O_2 birikimi, hücre hasarına ve hatta hücre ölümüne neden olabilir. Bitkiler, katalaz ve peroksidaz gibi enzimler aracılığıyla H_2O_2 'yi nispeten zararsız suya (H_2O) dönüştürerek bu zararı minimize etmeye çalışırlar.

Sonuç olarak, bitkilerde ROS'lar önemli bir role sahip olsa da yüksek konsantrasyonlarda zararlı olabilirler. Bitkiler, enzimatik antioksidan savunma sistemleri ile ROS'ların zararlı etkilerini minimize etmeye çalışırlar.

ROS'lar, bitkilerde normal fizyolojik süreçlerde düşük konsantrasyonlarda üretilir ve hücre sinyalleşmesi, bitki büyümesi ve gelişmesi, savunma tepkileri ve biyotik stres yanıtı gibi birçok önemli süreçte kritik rol oynarlar. Ancak, ROS'ların yüksek konsantrasyonları bitkilerde oksidatif stres oluşturarak hücre hasarı ve hatta hücre ölümüne neden olabilir.

Çevresel stres koşullarında bitkilerde ROS üretiminde ciddi artış görülür. Örneğin, su stresi, yüksek sıcaklık, soğuk stresi, tuz stresi, ağır metal stresi, herbisit uygulaması gibi çeşitli stres faktörleri bitki hücrelerinde ROS üretimini arttırır. Bu durum, önceden de ifade edildiği gibi bitki hücrelerinde oksidatif stresin oluşmasına ve dolayısıyla hücre hasarına neden olabilir.

Ancak, bitkilerde çevresel streslere karşı birçok adaptasyon mekanizması bulunur. Bu mekanizmalar arasında antioksidan savunma sistemleri, ROS'ları hücre içinde süpürme ve çevreye zarar vermesini engelleme yeteneğine sahiptir. Bitkilerde antioksidan savunma sistemleri, ROS'ların etkisini azaltarak hücrelerin oksidatif stresten korunmasına yardımcı olur.

Antioksidan savunma sistemi, enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenlerden oluşur. Enzimatik bileşenler arasında süperoksit dismutaz (SOD), *Askorbat peroksidaz* (APX), katalaz (CAT), glutation peroksidaz (GPX) ve glutation redüktaz (GR) bulunur. Enzimatik olmayan bileşenler arasında glutatyon (GSH), askorbat (vitamin C), tokoferol (vitamin E), karotenoidler, flavonoidler ve fenolik asitler bulunur.

Stres koşullarında bitkiler, antioksidan savunma sistemlerini etkinleştirerek ROS'ları detoksifiye etmeye çalışır. Bu sayede, ROS'lerin neden olduğu hücre hasarını en aza indirerek bitkilerin çevresel streslere karşı dayanıklılığı artar.

Bununla birlikte, ROS'lerin bitkilerdeki rolü hala tam olarak anlaşılamamıştır ve daha fazla araştırma gerektirmektedir. Bu alandaki araştırmalar, bitkilerin stres koşullarında nasıl adaptasyon mekanizmaları geliştirdiğini daha iyi anlamamıza ve bitki verimliliğini artırmamıza yardımcı olacaktır.

Lipid peroksidasyonu (LPO), hücre membranlarında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından oksidatif hasara uğraması sonucu meydana gelir. Bu reaksiyon, hücre membranlarındaki lipidlerin oksidasyonu ile başlar ve ardından malondialdehit (MDA) gibi reaktif aldehyitlerin oluşmasına yol açar.

MDA, hücrelerdeki oksidatif stresin en önemli belirleyicilerinden biridir ve bitkilerde stres koşullarında yüksek seviyelerde üretilir. Lipid peroksidasyonu, bitki hücrelerinde oksidatif hasarın önemli bir göstergesidir ve stres koşullarına maruz kalan bitkilerde sık sık görülür. Bu süreç, bitki hücrelerindeki membranlarda bozulmaya neden olur ve bu da hücre zarının işlevini etkileyebilir.

Lipid peroksidasyonu, bitkilerin büyümesini, gelişimini ve verimliliğini etkileyebilir. Yüksek seviyelerde MDA, bitki büyümesinde azalmaya, fotosentez oranında düşüşe ve bitki verimliliğinde kayıplara neden olabilir. Bunun yanı sıra, lipid peroksidasyonu bitki metabolizmasında geniş kapsamlı değişikliklere de yol açabilir ve bitkilerin çevresel streslere uyum sağlamasını engelleyebilir.

Bu nedenle, lipid peroksidasyonu (MDA seviyelerinin), ROS ieriklerinin ve antioksidan enzim aktivitelerinin ölçülmesi, bitkilerin stres koşullarına nasıl tepki verdiğini anlamak için yaygın bir yöntemdir.

Fitoremidasyonda Kullanılan Yabani Bitkiler

Bu çalışmada, 2,4-DKF ile kirlenmiş toprakların ve sulak alanların temizlenmesi için fitoremidasyon teknolojisi kullanılarak sürdürülebilir, etkili ve ekonomik bir arıtım stratejisi seçilmiştir.

Bu amaçla; fitoremidasyon kapasiteleri, farklı çevre koşullarına ve toksik bileşiklere toleransları yüksek üç farklı *Sinapis arvensis*, *Amaranthus retroflexus* ve *Datura stramonium* yabani bitki türü kullanılmıştır. Çalışmada bu yabani bitkiler farklı konsantrasyonlarda 2,4-DKF içeren hidroponik (topraksız su kültürü) sistemde yetiştirilmiştir. Çalışılan 2,4-DKF konsantrasyon aralığı yapılan ön çalışmalarla belirlenmiştir. Bu bitkilerin 2,4-DKF'yi maksimum düzeyde detoksifiye etme veya depolama kapasiteleri belirlenmiştir. Bu tespitlerin yapılması için önemli **fizyolojik** ve **biyokimyasal** parametreler kullanılmıştır. Çalışma sürecinde, hidroponik sistemde

gelişen bitkiler 3-5 yapraklı olduklarında 2,4-DKF'ye maruz bırakılmıştır. Uygulamadan 4 gün (96 saat) sonra, bitkilerin kök ve gövdelerinde kök-gövde uzunluğu, kuru ağırlık, içsel 2,4-DKF miktarı, yapraklarda klorofil içeriği, lipid peroksidasyon seviyesi (LPO), reaktif oksijen türleri içeriği (H_2O_2 ve O_2^- miktarları) ve antioksidan enzim aktiviteleri (katalaz, glutatyon S-transferaz, peroksidaz ve süperoksid dismutaz) belirlenmiştir. Bu parametreler değerlendirildikten sonra, elde edilen bulgulardan, çalışılan bitkilerle organik bir kirletici olan 2,4-DKF'nin fitoremidasyon teknolojisiyle detoksifiye edilmesinde en uygun yöntem belirlenmiştir.

Tablo 2. Araştırmada Kullanılan Bitkiler ve Özellikleri

Bitki	Özellikleri	Fitoremidasyon Açısından Avantajlı Yönleri
<i>Datura stramonium</i>	1. Yeni sürgün veya çok yıllık olan <i>Datura</i>'da gövde uzunluğu 1-1,5 m ye kadar ulaşabilmektedir 2. 10 farklı türü vardır 3. Çiçekleri kötü kokuludur, trompet şeklindedir, kremsi-menekşe yada beyaz renklidir ve çiçekleri 6 ila 9 cm uzunluğundadır. 4. Yaprakları geniş yüzey alanlıdır (15-20 cm) 5. Kökleri oldukça uzun ve sıktır	Bitkinin hemen her tür arazide hızlı büyümesi, hemen her ortama hızlı adapte olması ve çok hızlı ve çok sayıda tohum üretebilmesi açısından fitoremidasyon çalışmaları için uygun bir bitki olma potansiyeli taşımaktadır.

Tablo 2. (Devamı)

<i>Amaranthus retroflexus</i>	1. Amaranthaceae familyasına ait Orta ve Güney Amerika kökenli tek veya çok yıllık otsu bir bitkidir 2. 1-2 m maksimum yüksekliğe ulaşan dik gövdeli, uzun ömürlü bir bitkidir. 3. Yapraklar büyük bireylerde yaklaşık 15 cm uzunluğunda olup <i>Datura</i> ya göre dar yapraklıdır. 4. Kökleri uzun ve serttir.	Farklı iklim bölgelerinde, tropikal, subtropikal ve ılıman iklimlerde geniş bir yayılım gösterir. Ekolojik esnekliği yüksek olan bir bitkidir. Farklı koşullara, kuraklığa ve toprak yetersizliğine kolaylıkla adapte olabilmesi açısından yine fitoremidasyon çalışmalarına uygundur.
<i>Sinapis arvensis</i>	1. <i>Sinapis arvensis</i> tek yıllık bitki olup, 30-60 cm boyunda, gövdesi bol dallı, alt kısımları genellikle sert tüylü nadiren tüysüzdür. 2. Üst yaprakları parçasız ve sapsız, alt yaprakları ise parçalıdır. 3. Uç kısımlara doğru yaprak parçaları büyümektedir ve yaklaşık 20 cm boyundadır 4. Kökleri diğer ikisine göre zayıf ve narindir.	Hızlı gelişme yeteneğine sahip olan, ışık, su ve minarell maddeler yönünden kültür bitkilerine üstün bir rekabet gücü oluşturan sinapis (yabani hardalın) her tür toprağa çok iyi adapte olması, değişen iklim şartlarından ve ekstrem meteorolojik olaylardan fazla etkilenmemesi ve tohum oluşturma yeteneği yönleriyle fitoremidasyona uygun bir bitkidir.

Datura stramonium

Datura (Tatula, boru çiçeği veya Şeytan elması) bitkisinin anavatanının neresi olduğu bugüne kadar kesin olarak belirlenmiş değildir. Ancak Amerika kıtası ve özellikle Meksika'nın yüksek yaylaları olduğu söylenmektedir. Ayrıca Batı Asya ve daha birçok yerde yayılma alanı içine girdiği belirtilmektedir. Bugün dünyanın birçok yörelerine yayılmış bulunan bu bitkinin kültürü de birçok ülkelerde yapılmaktadır. Tek veya çok yıllık olan *Datura*'da sap 1-1,5 m boyolanabilmektedir. Sap yuvarlak ve genellikle çıplaktır. Kotiledonlar 2-4 cm uzunluğunda, ensiz, büzülmüş, fakat tohum gelişmesi boyunca tohum üzerindedir. Meyvesi, çok tohumlu bir kapsüldür. Bu bitkinin 10 türü vardır. Bunlardan *Datura metel* ve *Datura stramonium* yurdumuzda

özellikle Doğu Akdeniz’de yetişir. Ekolojik açıdan bakıldığında, *Datura* cinsi genellikle azot bakımından zengin topraklarda ve stressli habitatlarda yetişir (Kariňho-Betancourt *et al.* 2014). Meksika’da Balsas Nehir Havzası, dünyadaki en yüksek tür zenginliğine sahip biyocoğrafik bölgelerden biridir ve *Datura* cinsi için çeşitlilik merkezi olarak kabul edilmektedir (Bye and Sosa, 2013). Tüm *Datura* türleri tropane alkaloidleri içerir. Bazı bitkilerin sekonder metabolizmasından türeyen organik azotlu bisiklik bileşikler bulunur. Bunlar alkaloid grubu, *Brugmansia*, *Atropa*, *Mandragora*, *Physallis*, *Withania* gibi *Solanaceae* familyasının diğer cinsleri içinde yaygındır (Bruneton, 2001a). Ayrıca, ABD’de *Datura*’nın *D. ceratocaula*, *D. innoxia*, *D. wrightii*, *D. quercifolia*, *D. stramonium* beş türü vardır (Allred, 2004). Bazı araştırmacılar, insan göçleri ve çevresel değişimlerden sonra Orta Amerika’daki *D. stramonium* ve *D. innoxia*’nın yaygın dağılımını kabul etmektedirler (Nee, 1986, Espinosa and Sarukhán, 1997; Azcárraga, 2001; Calderón and Rzedowski, 2004, Hinton and Hinton, 1995, Medina and Rodriguez, 1993). *Datura* geleneksel tıpta astımsemptomlarını gidermek için ve ameliyat veya kemik iliği sırasında analjezik olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda ürettiği yoğun vizyonlar için enterojen bir şekilde kullanılan güçlü bir halüsinojeniktir. Bu bitkilerde bulunan hem tıbbi hem de halüsinojenik özelliklerden sorumlu tropan alkaloidleri, tıbbi dozajdan sadece biraz daha yüksek miktarlarda ölümcül toksiktir ve dikkatsiz kullanım genellikle hastaneye yatma ve ölümlerle sonuçlanır. *Datura stramonium* genellikle yaz boyunca çiçek açar. Kokulu çiçekler trompet şekilli, kremi veya menekşe beyaz ve 6 ila 9 cm uzunluğundadır. Kaliks uzun ve tüp şeklindedir, altta şişmiş ve keskin açılı beş keskin dişle aşılıdır. Katlanmış ve sadece kısmen açık olan corolla beyaz, huni şeklindedir ve belirgin kaburgalara sahiptir.

Çiçekler geceleri açık, hoş bir koku yayarlar ve gece kelebekleri tarafından tozlaştırılırlar. Bitkinin hemen her arazide hızlı büyümesi, hemen her ortama hızlı adapte olması ve çok hızlı ve çok sayıda tohum üretebilmesi fitoremidasyon çalışmaları için uygun bir bitki olma potansiyeli taşımaktadır. *Amaranthus* (horoz ibiği) yüzyıllardan bu yana yapraklarının sebze olarak, tohumlarının tahıl olarak kullanımının yanı sıra, bahçelerde gösterişli yaprakları ve çiçeklerinden dolayı da yetiştirilmektedir. Sıcığa ve kuru topraklara karşı dayanımı yüksektir. Serin iklimlerde en geç ilkbaharda ekilir ve üretimi genellikle tohumla olmaktadır (Brückner *et al.* 2003; Czerwiński *et al.* 2004). *Amaranthus* (*amaranth*), *Amaranthaceae* familyasına ait Orta ve Güney Amerika kökenli tek veya çok yıllık otsu bir bitkidir (Davis 1967). *Amaranthus* ismi, Yunanca “solmayan çiçek” anlamına gelen “amarantos” kelimesinden türetilmiştir. 60-70 türü bulunan *Amaranthus* yetiştirilme şartlarına ve türlerinin özelliklerine bağlı olarak, besin maddesi, ilaç, boya, süs bitkisi ve yem olarak dünyanın birçok bölgesinde kullanılmaktadır (Teutonico and Knorr, 1985). Farklı iklim bölgelerinde, tropikal, subtropikal ve ılıman iklimlerde geniş bir yayılım gösterir. Ekolojik esnekliği yüksek olan bir bitkidir. Farklı koşullara, kuraklığa ve toprak yetersizliğine kolaylıkla adapte olur. Deniz seviyesinden 2500 m yukarısına kadar uyum sağlayabilir.



Şekil 2. *Datura stramonium*
(İran, Maku şehrinden toplandı ve ayrıca serada yetiştirildi)

Amaranthus retroflexus

Çok hızlı büyür, yüksek verimliliği vardır (çok fazla tohum oluşturur) ve bitki önemli hastalık formlarına sahip değildir (De Macvean and Pöll, 1997; Corderode-los-Santos *et al.* 2005). *Amaranthus retroflexus*, 1-2 m maksimum yüksekliğe ulaşan dik, yıllık bir bitkidir. Yapraklar büyük bireylerde yaklaşık 15 cm uzunluğundadır, sap üzerinde daha yüksek olanları bir mızrak şekline sahiptirler ve bu bitki şeklinde elmas ya da oval şekilli olanlar daha yüksektir. Bitki hem erkek hem de dişi çiçekler taşıyan bireylerden oluşur. Çiçeklenme dikenli yeşil bracts serpiştirilmiş büyük, yoğun bir çiçek kümesidir. Meyve, küçük bir siyah tohumu ortaya çıkarmak için açılan bir "kapak" ile 2 mm'den (0,079 inç) daha kısa bir kapsüldür. *A. retroflexus*'un ortak isimlerinden bir diğeri domuz otudur, çünkü domuzların ota beslendiği yerlerde yetişir. *A. retroflexus*, birçok yerli Amerikan grubu tarafından birçok yiyecek ve tıbbi amaç için kullanılmıştır. Meksika pazarlarında sebze olarak tüketilen türler arasındadır. Genellikle bahçe kültürlerinde, bitki besin maddelerince zengin, bazen kurak topraklarda sıkça görülür. Sıcaktan hoşlanır. Subtropik bölgelerde yaygındır. Ülkemizde Çukurova bölgesinde pamuk, turunçgiller ve sebze alanlarının %50'si *Amaranthus retroflexus*'la bulaşıktır. Bitkinin hemen her arazide hızlı büyümesi, hemen her ortama hızlı adapte olması, çok

hızlı ve çok sayıda tohum üretebilmesi fitoremidasyon çalışmaları için uygun bir bitki olma potansiyeli taşımaktadır.



Şekil 3. *Amaranthus retroflexus*
(Atatürk Üniversitesi çevresinden toplandı ayrıca serada yetiştirildi)

Sinapis arvensis

Sinapis arvensis tek yıllık olup, 30-60 cm boyunda, sap bol dallı, alt kısımları genellikle sert tüylü nadiren tüysüzdür. Üst yaprakları parçasız ve sapsız, alt yaprakları ise parçalıdır. Uç kısımlara doğru yaprak parçaları büyümektedir ve yaklaşık 20 cm boyundadır. Kükürt sarısı renkte çiçeklere sahiptir. Çanak yapraklar sarkıktır. Meyve boğumlu ve 25-40x2,5-3 mm büyüklüğündedir. Tohumlar yuvarlağımsı, parlak siyah-kahverenginde, 1-1,3 mm büyüklüğünde ve uzun süre çimlenmeden toprakta kalabilirler (yaklaşık 10-35 yıl). Optimum çimlenme sıcaklıkları 7 °C olup 25 °C'de de çimlenebilirler (Uygur vd., 1986). Kültür bitkisinin ışığına, suyuna, besinine ortak olup veriminde önemli düşüşlere neden olan *Sinapis arvensis* (yabani hardal), aslında pek çok yönden olumlu özelliklere sahiptir. İlaç yapımında hammadde; hayvanlara yem kaynağı (Kamalak vd., 2005; Başbağ vd., 2010); toprağın verimliliğini artırmak ve strüktürünü korumak için yeşil gübre (Vaughan and Hemingway, 1959); çiçekleri polen yapan böcekler için iyi bir nektar ve polen kaynağı (Anonymous 1992; Kohl 1993; Westrich and Schwenniger, 1997; Baydar ve Gürel 1998; Özer vd., 2001; İlaslan, 2002); yaprakları sebze (Vaughan and Hemingway, 1959; Anonymous, 2012a); ıslah çalışmalarında gen kaynağı (Kaplan, 1989; Mao *et al.* 2012) ve tohumları sofr hardalı

(Yenikalaycı, 2004) olarak kullanılmaktadır. Hızlı gelişme yeteneğine sahip olan, ışık, su ve minarel maddeler yönünden kültür bitkilerine üstün bir rekabet gücü oluşturan yabancı hardalın (Kaplan, 1989; Wu *et al.* 2011) Ülkemiz iklim ve toprağına iyi adapte olması, değışen iklim şartlarından ve ekstrem meteorolojik olaylardan fazla etkilenmemesi ve tohum meydana getirmesi önemini artırmaktadır.



Şekil 4. *Sinapis arvensis*

(Bu çalışma kapsamında, Palandöken dağlarının eteklerinden toplandı ayrıca serada yetiştirildi)

2.GENEL BİLGİLER

Kişisel bakım ürünlerinin (PPCP'ler) üretimindeki sanayi devrimi, son yıllarda halk sağlığını önemli ölçüde iyileştirmiştir. Ancak bu gelişme, bu sentetik kimyasalların istenmeyen şekilde atılması ve kabul edilemez sağlık koşullarının oluşması nedeniyle su kirliliğine de yol açmıştır. Konvansiyonel atık su arıtma sistemleri birçok kirleticiyi ortadan kaldırabilir, ancak PPCP'nin giderilmesinde etkili değildir. Bitki bazlı iyileştirme, mevcut atık su arıtmasını tamamlayabilen basit, ancak oldukça etkili ve çevre dostu bir yaklaşımdır. Kirleticilerin fitoremidasyonu nispeten yeni bir olgudur ve adsorpsiyon ve detoksifikasyon mekanizmaları gibi çeşitli anahtar kavramlar mikrobiyal süreçlere kıyasla nispeten bilinmezliğini korumaktadır (Kurade ve diğerleri, 2021).

Endüstriyel ve tarımsal faaliyetlerden kaynaklanan toprak kirliliği, insan sağlığı ve ekosistemler için ciddi bir tehdit oluşturan bir çevre sorunudur. Kararlı organik kirleticiler (POPs), fotolitik, kimyasal ve biyolojik bozulmaya karşı yüksek dirençleri nedeniyle çevrede uzun süre kalan organik kimyasallardır. POP'lara ek olarak, arsenik, kadmiyum ve kurşun gibi ağır metallerin ve metaloidlerin yüksek konsantrasyonları dünya çapında giderek yaygınlaşmaktadır. Çevredeki organik ve inorganik kirleticileri değiştirme stratejileri dünya çapında dikkat çekmiştir. Organik veya inorganik kirleticiler için, fitoremidasyon tercih edilen stratejidir, çünkü aşırı birikmiş toksik kirleticileri çevreden uzaklaştırmak için bitkileri ve güneş enerjisini kullanan yeşil bir teknolojidir. Bazı bitki türleri, yüksek düzeyde kirletici yetiştirme ve hayatta kalma kapasitesine sahiptir (Tussipkan ve Manabayeva 2022).

Boucard ve arkadaşları (2005), *Lolium perenne* L ile ekilen ve ekilmeyen topraklarda [UL-(14)C]2,4-DKFün (DKF) akıbetini ve davranışını araştırdı.[UL-(14)C]2,4-DKF'nin biyobozunurlukla ilişkili aktivitesi, bir ayrıştırıcı parçalayıcı ile (*Burkholderia* sp.) tarafından (2)CO(14) üretimi ölçülerek değerlendirildi. [UL-(14)C]2,4-DKF bağlantılı aktivitenin ekstrakte edilebilirliği ve mineralizasyonu, ekili ve ekilmemiş topraklarda önemli ölçüde azalmasına rağmen, bitkilerin sekestrasyon sürecini geliştirdiği görülmüştür. 57 gün sonra, ekilmemiş toprakta, 2,4- DKF [UL-(14)C] ile ilgili aktivitenin %27'si *Burkholderia* sp. tarafından kaldı ve sırasıyla %13, 48 ve %38 (14)C CaCl₂, su asetonitril ve DCM ekstrakte edildi ve mineralize edildi. Bu, bitkilerin toprak nemi koşulları üzerindeki etkisinden dolayı olabilir, bu da toprak yapısının ve bileşik tuzağının değişmesine yol açar. Ancak bitkilerin toprağın biyolojik ve kimyasal özellikleri üzerindeki etkisi de yaşlanma sürecinde rol oynayabilir.

Söğüt ağaçlarında (*Salix viminalis*) 2,4- DKF 'nin absorpsiyonu, birikmesi, toksisitesi ve uzaklaştırılması ile atık su ve toprakta kirlilik için bir arıtma yöntemi olarak fitoremidasyonun uygulanma olasılığı arasındaki ilişki araştırılmıştır (Ucisika ve diğerleri, 2007). Söğütler, sabit ışık altında hidroponik solüsyonda 5 ila 150 mg/L arasında ve kumda 9.1 ila 44.4 mg/L arasında farklı konsantrasyonlarda 2,4- DKF'ye maruz bırakıldı. Söğütte birikim daha yüksek konsantrasyonlarla arttı. Hayatta kalan

ağaçlarda sistemden kimyasalların azalması %65'in üzerindeydi. Ağaçsız yapılan deneylerde 2,4- DKF kütle azalması sadece %8-14 oranındaydı. Kökleri kopmuş ağaçlar için, bozulmamış ağaçlarla yapılan deneye kıyasla, deneyin sonunda besin solüsyonunda önemli ölçüde daha yüksek miktarda 2,4- DKF kalmıştır. Kirilenmiş alanları ve yeraltı suyunu arıtmak için bitkilerin kullanılması, fitoremidasyon adı verilen bir yaklaşımdır. Shi vd. (2012) *Salix matsudana*'nın dört klonunda 2,4-DKF'nin toksisitesi, absorpsiyonu, birikmesi ve uzaklaştırılmasının araştırılması ve tarama klonlarını *S. matsudana* kullanarak bitki yetiştirme olasılığını yaptılar. Fideler 96 saat boyunca 10, 20 ve 30 mg/l konsantrasyonlarda 2,4- DKF hidroponik solüsyona maruz bırakıldı. Bu çalışmanın sonuçları, sürgün ve kök biyokütlesinin azaldığını göstermiştir. Klorofil içeriği kontrole göre önemli bir düşüş göstermiştir. Kök morfolojisinin tüm değerleri, klonlar ve farklı konsantrasyonlar arasında değişiklik göstermiştir. *S. matsudana*'nın bitkiciz kontamine solüsyona kıyasla 2,4-DKF'nin uzaklaştırılmasını arttırdığı bulundu. 96 saat sonra, tüm uygulamalarda 2,4-DKF'nin %52.2 ila %73.7'si uzaklaştırıldı. 2,4-DKF, sürgünlerden ziyade esas olarak köklerde birikmiştir. 2,4-DKF'nin ortamdaki uzaklaştırılması, bitki enzimleri tarafından kök bölgesinde parçalanması veya polimerizasyonu nedeniyle olabileceği ileri sürülmüştür. 2,4-DKF'nin *S. matsudana* klonları ile fitoremidasyonu, özellikle daha düşük konsantrasyonlarda uygun bir seçenek gibi görünmektedir. Bu klonlar, 2,4-DKF'yi sulu ortamdaki hızlı ve verimli bir şekilde uzaklaştırabilir. Ayrıca sökme işlemi sırasında ağaçlarda meydana gelen toksik etki ölümcül olmadığı görüldü.

Turp ekstraktının (*Rhaphanus sativus*) polimerizasyon ve fenolün hidrojen peroksit varlığında yapay atık sudan uzaklaştırılmasındaki etkinliği üzerine çalışma Ghaneian ve Ghanizadeh (2009) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, bitki ekstraktının hacminin artmasıyla fenolün giderim etkinliğinin arttığını göstermiştir. Alemzadeh ve Mirzaei (2009) ayrıca, zeytinyağı atık suyundaki fenolik bileşikler uzaklaştırmak için yaban turpu peroksidaz enzimini kullanmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar, oksijenli su konsantrasyonunun optimal miktardan daha fazla arttırılmasının enzimin inaktivasyonuna neden olduğunu ve sonuç olarak fenolün uzaklaştırma etkinliğini azalttığını göstermiştir. Öte yandan, enzim, polietilen glikol ve reaksiyon süresinin arttırılması, uzaklaştırma verimini bir miktar arttırmıştır.

2,4-DKF, çeşitli endüstrilerden gelen atık sularda yaygın olarak bulunur ve yüksek toksisitesi nedeniyle öncelikli kirlenici olarak kabul edilmektedir. Angelini vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, sulu çözeltilerden 2,4-DKF'nin uzaklaştırılması için çeşitli peroksidaz ekstraktlarının kullanımı araştırılmıştır. Yabani ve transgenik tütün tüylü kökleri, domateslerden (TPX1 ve TPX2) ekstrakte edilen bazik peroksidazları, çeşitli peroksidaz ekstraktları elde etmek için kullanıldı. Toplam peroksidazlar, çözünür peroksidazlar ve peroksidazlar hücre duvarına iyonik olarak bağlanırlar. Transgenik bitkilerden elde edilen tüm ekstraktlar, yabani türlerden elde edilen ekstraktlardan daha yüksek peroksidaz aktivitesi göstermiştir. Her iki ekstrakt da farklı 2,4-DKF konsantrasyonlarını oksitleyebilmesine rağmen, transgenik türlerden elde edilen toplam peroksidazların uzaklaştırma verimliliği diğerlerinden daha yüksekti. Polietilen glikol ilavesi, 2,4-DKF'nin uzaklaştırma verimini biraz iyileştirmiştir. Sonuçlar, her iki tütün türünden elde edilen TPx ekstraktlarının, atık sudan 2,4-DKF'nin

uzaklaştırılmasında gelecekteki uygulamalar için umut verici adaylar gibi görüldüğünü göstermiştir. Bu, özellikle bu peroksidaz kaynaklarının düşük maliyetli ve kolaylıkla temin edilebilir olduğu göz önüne alındığında doğrudur. González vd. (2013) fenolik bileşiklerin genellikle su ve toprakta bulunan kirletici maddeler olduğunu belirtmişlerdir. Son yıllarda, kirlenmiş bölgeleri iyileştirmek için fitoremediasyon gibi bazı teknolojiler ortaya çıkmıştır. Bitkiler tek başlarına bazı kirletici maddeleri tamamen ayrıştıramazlar. Bu nedenle, fitoremediasyon potansiyelini artırmak için rizosfer bakterileriyle ilişkileri, rizoremediasyon adı verilen bir yaklaşım önerilmiştir. Araştırmacılar, iki rizobakteri olan *Burkholderia kururiensis* ve *Agrobacterium rhizogenes*'in fenolik bileşikleri tolere etme ve ayrıştırma yeteneklerini incelediler. Her iki mikroorganizmanın da farklı konsantrasyonlarda fenol ve 2,4-DKF'yi ayrıştırarak yüksek fenol ve 2,4-DKF konsantrasyonlarını tolere edebildiğini belirttiler.

Wang vd. (2015) yaptıkları çalışmada Poliklorlu bifeniller (PCB'ler) ve 2,4-DKF'nin (2,4-DKP) genellikle ticari ve tarımsal faaliyetler sonucunda toprak karışımlarının kirlenmesine neden olduğunu ifade etmişlerdir. Çevrede birikmeleri insan ve hayvan sağlığı için birçok risk oluşturmaktadır. Bu nedenle, bu kirleticilerin bertarafı için etkili stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu araştırmacıların çalışmasında, genetik mühendisliği PCB'lerin / 2,4-DKF'nin fitoremediasyonunu geliştirmeye odaklanmaktadır. Elde ettikleri sonuçlar, transgenik hattın PCB'lerin / 2,4-DKF'nin karmaşık kirleticilerine toleransının, transgenik olmayan bitkilere kıyasla önemli ölçüde arttığını gösterdi. Çalışmada kısa sürede güçlü PCB kaybı ve 2,4-DKF'nin yüksek temizleme verimliliğine ulaşıldığı gösterildi. 2,3-dihidroksibifenil-1,2-dioksijenazın (BphC.B) koloni ekspresyonunun, PCB ve 2,4-DKF ile karıştırılmış kirlenmiş topraklarda fitoremediasyonun sağlanmasına yardımcı olacak pratik bir strateji olduğu doğrulandı.

Kurnik ve diğerleri (2018), nişasta endüstrisinin bir yan ürünü olan patates ezmesinin yüksek peroksidaz içeriği nedeniyle potansiyel olarak fenolle kontamine atık suyu dezenfekte etmek için kullanılabileceğini belirtmektedirler. Bir çalışmada, patates küspesinin, peroksidaz katalizli bir reaksiyonda 2,4-DKF çözeltilerinin dekontaminasyonu üzerindeki etkisi değerlendirildi. Patates küspesi, peroksidaz aktivitesi nedeniyle 2,4-DKF giderimi için çok yüksek bir potansiyel gösterdi ve optimal koşullar altında reaksiyon verimi %98'e ulaştı. 2,4-DKF'ye göre peroksidaz aktivitesi, geniş bir sıcaklık ve pH aralığında tutuldu ve nispeten düşük H₂O₂ talebiyle, diğer peroksidaz bazlı sistemlere göre 2,4-DKF delesyonu belirlendi. Deneyisel sonuçlar, patates bitkisi küspesi kullanılarak 2,4-DKF'nin toksisitesinin etkili bir şekilde azaldığını gösterdi.

Al-Baldawi (2018), bir çalışmada yeşil teknoloji kullanarak dikloroetan giderimini incelemiştir. Bu çalışmanın sonuçları, yeşil teknolojinin, 42 gün içinde %100 düzeltme verimliliği ile biyobozunma yoluyla kirlenmiş sudan 1,2-DCA'nın uzaklaştırılmasını iyileştirdiğini göstermiştir. İster kökler yoluyla ister çürüyen biyokütle yoluyla toprak profiline salınan monoterpenlerin organik kirleticilerin biyolojik bozunmasını artırabileceği öne sürülmüştür. Bu çalışmada, toprakta 2,4-DKF katabolizması üzerine biyojenik uçucu organik bileşiklerin (VOC'ler) etkisi araştırılmıştır. Topraklar, çeşitli bitki örtüsü tiplerindeki monoterpenlerin (orman

arazileri) ve monoterpen olmayanların (otlaklar) etrafındaki alanlardan yayılmıştır. Topraklar 10 mg / kg / kg'da 2,4-DKF [UL-14C] ile ilave edildi ve a-pinen, p-simen veya monoterpenlerin bir kombinasyonu (a-pinen, limonen ve p-simen oranında) ile işlendi. 1: 1: 1 Değiştirildi). Daha eski orman topraklarının, daha sonra monoterpenlerin eklenmesiyle artan, VOC ve a-pinen modifikasyonlarının kombinasyonu ile artan 2,4-DKF [UL-14C] [UL-14C] ayrışmasının daha yüksek seviyeleri gösterdiği bulunmuştur [UL-14C] (Rhodes ve diğerleri, 2007).

Pestisitlerle kirlenmiş toprak, toksisiteleri nedeniyle bitki büyümesini azaltabilirler. Yapılan bir çalışmada 4-klorofenol ve 2,4-DKFün ayrışmasının iki ana aracısının, *Zea mayz* ve *Phaseolus vulgaris*'in çimlenmesine etkisi araştırılmıştır. Klorofenollerden en çok etkilenen parametre, *P. vulgaris* tohumlarının en fazla etkiye sahip olduğu çimlenme oranı indeksi olmuştur. 2,4-DKP, her iki bitki için de en zehirli bileşiktir. Test edilen her iki bitki modeli için çimlenme indeksi doza bağımlı bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları, klorofenollerin her iki bitkinin çimlenme hız indeksi üzerinde bir etkisi olduğunu, ancak diğer çimlenme parametreleri üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını göstermiştir (Perez-Portuondo ve diğerleri, 2021).

Ceylan ve diğerleri (2022) tarafından yapılan bir çalışmada, topraktan ve sulak alanlardan 2,4-DKFün *Datura stramonium* L. tarafından fitoremidasyon potansiyeli araştırılmıştır. Fide kültür ortamı hidrofonic sistemde farklı konsantrasyonlarda (sıfır, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 ve 275 ppm 2,4-DKP) ayarlanmıştır. Dört gün sonra, yetiştirme ortamındaki 2,4-DKP, kök gövde uzunluğu, kök gövde kuru ağırlığı, lipid peroksidasyonu (LPO), fidelerin protein ve fotosentetik pigment içerikleri değerlendirilmiştir. *D. stramonium* fideleri tüm konsantrasyonlarda %52-78 arasında 2,4-DKP modifikasyonu göstermiştir. Ayrıca 2,4-DCP uygulamaları özellikle 75-200-275 ppm gibi yüksek konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre kök uzunluğunu ve fide kuru ağırlığını engellemiş, ancak düşük dozlarda bu etkiyi göstermemiştir.

Lukatkin ve diğerleri (2021), tarafından yapılan çalışmada *A. retroflexus*'un kurşun ve nikel ile kirlenmiş toprakların fitoremidasyonu için güçlü bir bitki olduğu sonucuna varmıştır. Kirleticiler genellikle köklerin ve yaprakların protein ve LPO içeriğini biraz arttırdı, ancak klorofil üzerinde hiçbir etkisi olmadı. Bu çalışmanın sonuçları, *D. stramonium*'un 2,4-DKP fitoremidasyon için yüksek bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

3.MATERYAL ve YÖNTEMLER

Bitki Materyali ve Uygulama Koşulları

Fitoremidasyon teknolojisi kullanılarak kontamine ortamdan 2,4-DKF'nin giderimi ve bozunabilirliğini (biyobozunurluğunu) incelemek için, faktöriyel deneme olarak tamamen tesadüfi desende üç tekrarlamalı bir deney düzenlenmiştir. Bu çalışmada, *Amaranthus retroflexus*, *Datura stramonium* ve *Sinapis arvensis*'in yüksek fitoremidasyon kapasitesi ve farklı çevre koşullarına toleranslı üç seviyesindeki bitki türlerinin (yabani bitkiler) birinci faktörü seçilmiştir. İkinci faktör, hidroponik sistem içinde uygulanan 0, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 ve 275 ppm dahil olmak üzere 10 seviyede 2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonları kullanılmıştır.

Deneme planına göre her bitki türü için 30 saksı, yani üç bitki türünden toplam 90 saksı dikilmiştir. Her saksıya sabit sayıda 10 tohum ekilmiştir. Bitkilere ait tohumlar doğal ortamlarda olgun bitkilerden toplanmış ve her bitkinin herbaryumu yapılan örneği Ataherbaryumu'ndaki (Biyoloji Bölümü) örneğiyle karşılaştırılmıştır.

Bitki tohumları önce %5'lik ticari çamaşır suyunda 5 dk steril edilmiş ve sonra 3 kez saf su ile durulanmıştır. Daha sonra tohumlar Hoagland'a göre hazırlanmış bitki besinlerini içeren hidroponik ortama (su kültürü) ekilmiştir. Hidroponik ortamda destek ortamı olarak hidroton yani genişletilmiş kil ve bitki büyüme ortamı olarak ¼ gücünde Hoagland besi çözeltisi kullanılmıştır. Tohumların çimlendirme ve fide gelişimi, ışık (12000 lüks ışık yoğunluğu), sıcaklık (20/25 °C; gece/gündüz ve 16 s fotoperiyot) ve nem (%65) seviyesi ayarlanabilir bir bitki büyütme kabininde gerçekleştirilmiştir. Tablo 3-4'de Hoagland's besin çözeltisi ayrıntısı verilmiştir (Shahverdi *et al.* 2019).

Hoagland Çözeltisi ve hazırlanışı:

Hoagland çözeltisi; bitkilerin kirleticiye tabii tutulduğu standardize koşullara sahip (oda sıcaklığı) makro ve mikro besin maddeleri içeren çözeltidir. Hidroponik ortam hoagland çözeltisi ile desteklenmiştir.

Tablo 3. Hoagland Çözeltisinin Hazırlanmasında Kullanılan Makro Bileşenler ve Besinler

Kombinasyon (mL/L)	Kimyasal Formül	Stok	Stok Çözelti (mL/L)
Potasyum Nitrat	2M KNO ₃	202 gr/L	2.5
Potasyum Fosfat	1M KH ₂ PO ₄ (pH : 6.0)	136 gr/L	0.5
Kalsiyum Nitrat	1M Ca(NO ₃) ₂ •4H ₂ O	236 gr/0.5L	2.5
Amonyum Nitrat	1M NH ₄ NO ₃	80 gr/L	1

Tablo 4. Hoagland Çözeltisinin Hazırlanmasında Kullanılan Mikro Bileşenler ve Besinler

Kombinasyon (mL/L)	Kimyasal Formül	Stok	Stok Çözelti (mL/L)
Demir Şelatı	Iron (Sprint 138 iron chelate)	15 gr/L	1.5
Magnezyum Sülfat	2M MgSO ₄ •7H ₂ O	493 gr/L	1
Borik Asit	H ₃ BO ₃	2.86 gr/L	1
Mangan Klorür	MnCl ₂ •4H ₂ O	1.81 gr/L	1
Çinko Sülfat	ZnSO ₄ •7H ₂ O	0.22 gr/L	1
Bakır Sülfat	CuSO ₄ •5H ₂ O	0.051 gr/L	1
Sodyum Molibdat	Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	0.12 gr/L	1
Molibdat Hidroksit	H ₃ MoO ₄ •H ₂ O	0.09 gr/L	1

2,4-DKF Uygulanmış Hidroponik Ortam içerisinde Her bir Bitkiye Ait Görseller



Şekil 5. 2,4-DKF (0ppm ve 275ppm/96saat) uygulanmış *Datura stramonium* bitkisinin hidroponik ortam içerisindeki görüntüleri



Şekil 6. 2,4-DKF (0ppm ve 275ppm/96saat) uygulanmış *Amaranthus retroflexus* bitkisinin hidroponik ortam içerisindeki görüntüleri



Şekil 7. 2,4-DKF (0ppm ve 275ppm/96saat) uygulanmış *Sinapis arvensis* bitkisinin hidroponik ortam içerisindeki görüntüleri

Çalışmada kullanılan 2,4-DKF konsantrasyonları hem litaretür hem de ön denemeler sonucunda elde edilen verilere göre belirlenmiştir. Bu denemelerden elde edilen sonuçlar değerlendirilerek çalışılan 2,4-DKF konsantrasyonları 0, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 ve 275 ppm olarak kontrol dahil 10 farklı konsantrasyon olarak belirlenmiştir. Çalışılan bitkiler 275 ppm'den daha yüksek 2,4-DKF ortamında ciddi zarar (Şekil5,6,7) görmüştür. Bu nedenle en yüksek doz 275 ppm olarak belirlenmiştir. Ön denemelerde bitkilerin 2,4-DKF'yi en fazla biriktirebildiği veya detoksifiye edebildiği fakat bitkinin bu konsantrasyonlarda gelişimini sürdürebildiği ve öldürücü olmayan konsantrasyonlar belirlenmiştir. Bunun için bitkilerimiz 2,4-DKF'nin en düşük konsantrasyonundan (1 ppm gibi) başlamak üzere bitki için tolere edilemeyecek toksik konsantrasyona kadar bir konsantrasyon ranjında yetiştirilmiştir. Çalışmada 2,4-DKF, stok çözelti için, çok az miktarda alkolde (%96) çözünmüş ve her bir hidroponik kovada uygun 2,4-DKF konsantrasyonu ayarlanacak şekilde su ile seyreltilerek doğrudan bitkinin yetiştirdiği hidroponik ortama ilave edilmiştir. Bitkiler en az 5 yapraklı döneme geldiğinde (21 gün) hidroponik ortama yukarıda verilen 2,4-DKF dozlarının uygulaması yapılmıştır. 2,4-DKF uygulamasından 4 gün sonra, fidelerin kök ve gövdeleri hasat edilerek deneysel materyal için kullanılmıştır. Kontrol bitkilerine

herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Bitki numunelerinin belirli bir kısmı ise -80 °C'lik derin dondurucuya taşınmış ve biyokimyasal ve diğer çalışmalar için saklanmıştır (Shahverdi *et al.* 2019). Hasat edilen bitkilerde aşağıdaki deneyler yapılmıştır.

Yapılan Analizler

Bitkilerin Kök-Gövde-Yapraklarında Yapılan Morfolojik ve Fizyolojik Analizler

Kök-gövde uzunluğu ve kuru ağırlık ölçümü

Hidroponik ortamda yetiştirilen 2,4-DKF uygulamalı ve uygulanmamış fideler (kontrol) 4-5 yağraklı aşamaya geldiğinde, fidelerin kök ve gövde uzunlukları ölçülerek ortalama kök ve gövde uzunlukları belirlenmiştir. Sonra bitki kısımları 48 saat boyunca 75 °C'de bir etüvde inkübe edilerek hassas terazide ortalama kuru ağırlığı belirlenmiştir.

Biyokimyasal ve fizyolojik analizler

Fotosentetik pigment içeriğinin belirlenmesi

Bitki yapraklarından 0,2 gr alınarak üzerine 15 mL %100'lük aseton ilave edilir. Daha sonra bir dakika boyunca homojenizasyon işlemine devam edilir. Homojenize edilen örnekler, 5000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilir. Santrifüj edilen örneklerin üst fazı alınarak spektrofotometrede 470, 645 ve 662 nm'de absorbansları okunur. Fotosentetik pigment içerikleri Lichtenthaler ve Wellburn (1983) tarafından geliştirilen yöntemle göre hesaplanır. Klorofil-a (Kla), klorofil-b (Klb), toplam klorofil (Kla+Klb) ve toplam karotenoid içerikleri mg/gr taze ağırlık olarak belirlendi.

$$\text{Klorofil a (mg/gr doku)} = ((12,7 \times (D663) - 2,69 \times (D645)) \times (V/1000 \times W))$$

$$\text{Klorofil b (mg/gr doku)} = ((22,9(D645) - 4,68 \times (D663)) \times (V/1000 \times W))$$

$$\text{Toplam klorofil (mg/gr doku)} = ((20,2 \times (D645) + 8,02(D663)) \times (V/1000 \times W))$$

$$\text{Karotenoid (mg/gr doku)} = (4,07 \times D450) - (0,0435 \times \text{Kla} + 0,367 \times \text{Klb})$$

Yukarıda verilen eşitliklerde;

D: Klorofil özütünün absorbans değeri,

V: %80'lik asetonun final hacmini,

W: Dokunun yaş ağırlığını (gr) gösterir.

ROS ve Lipid Peroksidasyonu Seviyeleri

Lipid peroksidasyonu (LPO) seviyesinin belirlenmesi

Hücreler toksik bileşiklere maruz kaldığında metabolizmanın dengesizliğinden dolayı üretilen Reaktif Oksijen Türleri (ROT), hücre membranlarındaki doymamış lipidlerin peroksidasyonunu sağlayarak hücre ve dokulara büyük hasar verir. Hücre

zarlarında ortaya çıkan bu hasarın derecesi ölçülerek toksinin hücrelerde ve dokularda oluşturduğu hasar belirlenebilmektedir. Lipidler peroksidede olduklarında Malondialdehid (MDA) olarak adlandırılan bir bileşik açığa çıkar. Dokularda içsel MDA miktarı ölçülerek bir hücrede lipidlerin peroksidede durumları hakkında bilgi edilebilir. Lipid peroksidasyonu Wu vd. (2003) tarafından önerilen metoda göre belirlendi. Buna göre, 0.2 gr doku örneği (yaprak veya kök) önce sıvı azotta ve sonra 2 mL %5'lik TCA içinde iyice homojenize edilir. Sonra elde edilen homojenat 10.000 x g'de 15 dakika santrifüj edilir (+4 °C). Tüpün süpernatant kısmından 500 µL alınır ve üzerine 500 µL %1'lik TBA (Tiobarbutirik asit) çözeltisi ilave edilir. Kör örnek için süpernatant kısmından 500 µL alınır ve üzerine 500 µL saf su konur ve aynı işlemler yapılır. Reaksiyon karışımı 95 °C'de su banyosunda 30 dakika inkübe edilir ve sonra tüpler hemen buz banyosuna alınarak oda sıcaklığına kadar soğutulur. Örnekler tekrar 3000 x g'de 10 dakika santrifüj edilir. Tüplerin süpernatant kısmından 200 µL alınarak absorbansı 440, 532 ve 600 nm'de mikro plate'de okunur. Hesaplama aşağıdaki formüle göre yapılır.

$$\text{MDA (nmol/mL)} = \frac{[(A_{532}-A_{600}) - [(A_{440}-A_{600}) \times (0.0571)]]}{157000} \times 10^6$$

Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi

Bir reaktif bileşik olan H₂O₂ içeriğinin belirlenmesi, stres esnasında ROT artışı veya azalışı hakkında bilgi vermektedir. Bu nedenle çalışmalarımızda içsel H₂O₂ seviyesinin belirlenmesi verilerin tartışılmasında büyük katkı sağlayacaktır. Ölçüm Ti(SO₄)₂ (titanyum disülfat) metoduna göre yapıldı. Bu yöntem diğer yöntemlere göre daha hassas bir yöntemdir (Liu et al., 2007). Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesi için; 0.5 gr bitki dokusu alınarak 10 mL soğuk aseton içinde homojenize edildikten sonra homojenat 10.000 x g'de 10 dakika santrifüj edilir. Daha sonra elde edilen süpernatantın 1.5 mL'si 0.15 mL %5'lik Ti(SO₄)₂ (titanyum disülfat) ve 0.3 mL %19'luk NH₄OH (amonyum hidroksit) ile karıştırılır. Çökelek oluştuktan sonra karışım 10.000 x g'de 10 dakika daha santrifüj edilir. Tüpün süpernatant kısmı uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen pelet 3 mL 2 M'lık H₂SO₄ (sülfürik asit) içinde çözölmüş ve 415 nm'de absorbansı ölçülerek kaydedilir. Bu ortalama absorbans değerleri, daha önceden hazırlanacak standart grafik yardımıyla nanogram cinsinden H₂O₂ miktarına dönüştürülür. Sonuçlar gram yaprak başına düşen H₂O₂ miktarı (ngram/gr yaprak) olarak sunulur (Liu et al. 2007).

Superoksid anyonu (O₂⁻) miktarının belirlenmesi

Reaktif bir bileşik olan O₂⁻ içeriğinin belirlenmesi, stres esnasında ROT artışı veya azalışı hakkında bilgi vermektedir. Bu nedenle çalışmalarımızda içsel O₂⁻ seviyesinin belirlenmesi verilerin tartışılmasında son derece önemlidir. Yöntem Liu vd.'ne (2007) göre yapıldı. Yöntemi kısaca özetleyecek olursak; taze doku (0.5 g) 2 ml 65 mM fosfat tamponunda (pH: 7.8) homojenize edilir. Homojenat 10 dakika süresince 10000 rpm'de santrifüjlenir. Çözelti kısmından 1 ml alınarak üzerine 0.9 ml fosfat tamponu ve 0.1 ml 10 mM hidroksilaminhidroklorür eklenir. Çözelti tamamen karıştırıldıktan sonra 20 dakika süresince 25 °C de inkübasyona tabi tutulur. Bu karışımdan 1 mL alınarak üzerine 1 mL 17 mM aminobenzene sulfonic acid ve 1 mL

17 mM 1-naftilamin eklenip tekrar 20 dakika 25 °C de inkübe edilir.Ünkübasyon sonra 3 mL n-butilalkol eklenerek spektrofotometre de 530 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılır. Nitrozaset (HNO_2) çözeltisinin değişik konsantrasyonlarına karşı çizilen standart grafiğe göre (530 nm) okumalar yapılır (Liu *et al.* 2007). Ekstraksiyon işlemlerinin tümü soğuk şartlarda yapılır.

Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

Antioksidan enzimlerin aktivitelerini düzenlenmesi bir strese adaptasyon mekanizmaları içerisinde en önemli parametrelerden birisidir. Bu enzimler, ROT bileşiklerini zararsız ara bileşiklere dönüştürmektedirler. Bu deneylerden elde edilecek veriler bitki cevabının düzenlenmesi tartışmalarında büyük katkı sağlayacaktır. Çalışmamızda antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), *Askorbat peroksidaz* (APX), glutatyon peroksidaz (GPX) ve Glutatyon S transferaz (GST) aktiviteleri belirlendi.Porselen havan içine konulan taze doku (0.5 g) üzerine 5 mL soğuk homojenat tamponu (%1 PVP ve 1 mM EDTA ihtiva eden 0.1 M KH_2PO_4 pH: 7.0) ilave edilmek suretiyle elde edilen karışım bir santrifüj tüpüne aktararak 15000 rpm ve +4 °C'de 15 dakika süresince santrifüjlendi. Santrifüjden sonra oluşan çözelti(üstteki kısım) kısmında antioksidan enzimlerin aktivite ölçümleri yapıldı (Angelini and Federico, 1989). Her bir antioksidan enzim aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler farklı olduğundan aşağıda kısaca açıklanmıştır.

Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi

Katalazın (CAT) aktivite tayininde ; Luck (1965) ile Havir and Mchale'nin (1987) standart metodu uygulandı. Bu metodda; CAT aktivite ölçüm ortamında H_2O_2 'nin O_2 ve H_2O 'ya dönüşümünü esnasında oluşan absorbans azalışı 240 nm'de ölçülerek izlendi (Havir et al. 1987). Reaksiyonda azalan H_2O_2 miktarını belirlemede kullanılacak olan H_2O_2 standart grafiği önceden hazırlanmıştır.Standart grafik için, 5 mM H_2O_2 çözeltisinden 3 mL'lik spektrofotometre tüplerine sırasıyla; 0.15, 0.3, 0.45, 0.6, 0.75, 0.9, 1.05, 1.2, 1.35 ve 1.5 mL konulmuştur. Tüpün hacmi saf su ile 1.5 mL'ye tamamlanmış ve her tüpe 1.47 mL, 103.5 mM KH_2PO_4 ve 30 μL saf su ilave edilmiştir. Küvet spektrofotometreye yerleştirildikten sonra 240 nm'de absorbans belirlenmiştir. Absorbans değerlerine karşılık gelen μM H_2O_2 değerleri kullanarak bir standart grafik elde edilir. CAT aktivite ölçümü için 3 mL'lik spektrofotometre küvetine, 103 mM KH_2PO_4 tamponundan 1.475 mL ve 40 mM'lık H_2O_2 substrat çözeltisinden 1.5 mL konulduktan sonra, 25 μL enzim ekstraktı ilave edilir. Küvet spektrofotometreye yerleştirildikten sonra 240 nm'de 3 dakika boyunca 0,5 dakika aralıklarla köre karşı absorbansı okunur. Ölçümlerde absorbansın doğrusal olarak azaldığı aralıktan dakika başına absorbans azalması hesaplanır. Bu ortalama absorbans değerleri, standart grafik yardımıyla μmol cinsinden H_2O_2 miktarına dönüştürülür. 25 °C'de, 1 dakika içinde substratı 1 μmol azaltan enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edilir ve sonuçlar mg protein başına düşen enzim ünitesi olarak sunulur (Gong et al. 2001).

Peroksidaz (POX) aktivitesinin belirlenmesi

Peroksidaz (POX) aktivite tayini, guaikol ve H₂O₂'nin substrat olduğu reaksiyonun ürünü olan renkli bileşimin meydana getirdiği absorbans artışının 470 nm'de izlenmesi esasına dayanmaktadır (Angelini et al. 1989). Aktivite ölçümü için spektrofotometre küvetine; 100 mL 0.1 M, NaH₂PO₄ (pH: 5.5) ve 5 mM guaikol içeren substrat çözeltisinden 3 mL konulduktan sonra, üzerine 10 µL enzim ekstraktı ilave edilir. 470 nm'de 5 dakika boyunca absorbans artışı 1 dakika aralıklarla kaydedilmiş ve absorbansın doğrusal olarak arttığı kısımdaki absorbans artışı 1 dakikaya oranlanmıştır. 25 °C'de 1 dakikada, absorbansı 0.01 artıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiş ve sonuçlar gr doku başına düşen enzim ünitesi (EU/g protein) olarak sunulmuştur (Yee et al. 2002).

Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin tayini

Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm'de absorbansdaki azalışa bağlı olarak belirlenir (Nakano and Asada 1981). Enzim aktivitesi, 50 mM Potasyum fosfat tamponu (pH: 7,0), 250 µM askorbik asit (ASA), 5 mM H₂O₂ ve 100 µL enzim ekstraktı içeren 3,1 mL'lik reaksiyon karışımının ölçülmesiyle belirlenir. Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm'de ASA için 2,8 mM-1cm-1 epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplanır. Sonuçlar enzim ünitesi (EU/mg protein) olarak sunulmuştur.

Süperoksid dismutaz aktivitesinin belirlenmesi

Süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesi, nitro blue tetrazoliumun (NBT) fotokimyasal indirgenmesinin inhibisyonunu, spektrofotometrik olarak belirleme esasına dayanır (Agarwal and Pandey 2004; Yordanova et al. 2004). Reaksiyon karışımı (3 mL); 50 mM KH₂PO₄ (pH: 7.8), 13 mM metiyonin, 75 µM NBT, 2 µM riboflavin ve 0.1 mM EDTA içermektedir. Aktivite ölçümü için 3 mL spektrofotometre küvetine yukarıdaki riboflavin içermeyen reaksiyon karışımından 2.84 mL alınmış ve üzerine 100 µL enzim ekstraktı pipetlenmiştir. Reaksiyon, tüp üzerine 100 µM'lık riboflavin çözeltisinden 60 µL pipetlenip karıştırıldıktan hemen sonra, beyaz bir ışık kaynağı önüne yerleştirmek suretiyle başlatılmıştır. Tüp, ışık kaynağının karşısında 15 dk tutulmuş ve reaksiyon ışık kaynağının kapatılmasıyla durdurulmuştur. 15 dk içerisinde NBT'nin renk açılma yoğunluğu 560 nm'de köre karşı okunmuştur. Kör, Aynı işlemin enzimsiz örneğinden oluşmaktadır. SOD aktivitesinin 1 ünitesi, 560 nm'de gözlenen NBT indirgenmesinin %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiş ve değerler enzim ünitesi (EU/mg protein) olarak sunulmuştur.

Glutathione S-transferaz (GST) aktivitesinin belirlenmesi

Glutasyon S-transferaz aktivitei (GST) aktivitesi, Habig yöntemine göre azaltılmış glutasyon ile I-kloro 2,4-dinitrobenzen (CDNB) konjugasyon hızının ölçülmesiyle 340 nm'de spektrofotometrik olarak test edilir. Yöntem aşağıdaki şekildedir.

Bitki dokusu (0.25 gr) önce sıvı azotta ve daha sonra 0.05 mM DTT (1,4-Dithioerythritol), 1 mM EDTA ve %3 PVP içeren 0.1 M pH 7.0 olan potasyum fosfat (KH₂PO₄) tamponunda iyice homojenize edilir. Elde edilen ekstrakt 12000 g'de 20 dk

santrifüj edilir. Süpernatant temiz bir tüpe alınır ve enzim kaynağı olarak kullanılır (Çalışırken sürekli +4 °C'de veya buz üstünde tutulur). Reaksiyon karışımı 100 µL GSH (30 mM), 100 µL CDNB (30 mM) ve 2.7 mL Fosfat tamponundan (0.1 M pH 6.5) oluşur. Aktivite ölçümü, bu reaksiyon karışımı (2.9 mL) üzerine 100 µL enzim ekstaktı ilave edilerek başlatılır. Karışımın absorbansı 340 nm'de 5 dakika boyunca 1'er dakika aralıklarla kaydedilir. GST aktivitesinin bir ünitesi, 1 dakikada 1 mol mol tiyoeter üreten enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır (Habig *et al.* 1974).

Kirleticinin (2,4-DKF) Analizleri

2,4-DKF 'nin hem hidroponik sistemde(su ortamında) geri kalan hem de bitkinin bünyesine geçen miktarları analizlenerek belirlenmiştir.

Hidroponik sistemdeki kirletici analizi hem spektrofotometrik hem de kromatografik olarak ,bitkiye geçen kirletici analizi ise sadece HPLC kromatografik olarak yapılmıştır.

1. UV-VİS Spektrofotometrik Analizi

A. Gerekli Çözeltiler

1. Amonyum Hidroksit (NH₄OH)

0,5 N 35 ml NH₄OH 1 L'ye tamamlanır.

2. Fosfat Tampon Çözeltisi

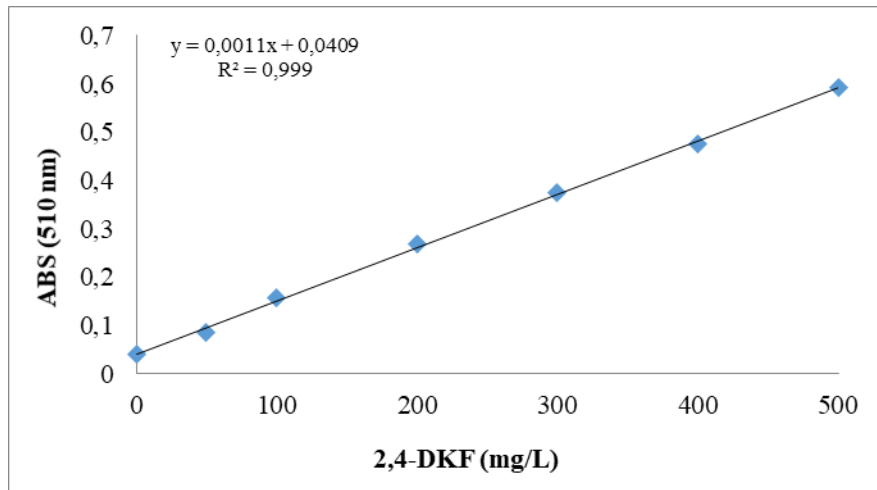
104,5 gr K₂HPO₄ ve 72,3 gr KH₂PO₄ alınır 1 L'ye tamamlanır. Çözeltinin pH'ı yaklaşık 6,8 olmalıdır.

3. Aminoantipirin (C₁₁H₁₃N₃O)

2 gr 4-Aminoantipirin alınıp 100 ml'ye tamamlanır. Çözelti günlük olarak hazırlanır.

4. Potasyum Ferrisiyanid (K₃(Fe(CN)₆))

8 gr K₃(Fe(CN)₆) alınıp 100 ml'ye tamamlanır. Çözelti haftalık olarak hazırlanır. 2,4-DKF içeren numuneden erlene 1 ml eklenir. Üzerine biraz saf su alındıktan sonra Fosfat tampon çözeltisi yavaş yavaş pH 7,9±0,1 olana kadar ilave edilir. Daha sonra 4-Aminoantipirin çözeltisinden 1 ml ve K₃(Fe(CN)₆) çözeltisinden de 1 ml eklenir. 100 mL'ye saf su ile tamamlanır ve 5 dk karıştırılır. Daha sonra spektrofotometrede okuması yapılır.



Şekil 8. 2,4-DKF analizinde kullanılan kalibrasyon eğrisi

HPLC ile Kromatografik Analizler

A. Hidroponik Çözeltide Geri Kalan 2,4-DKF nin Analizi

Hidroponik çözeltiden alınan numuneler 0.22 mikrometre por çapındaki naylon şırınga filtrelerden geçirilerek filtre işlemine tabi tutulduktan sonra UV-Vis detektörlü (4 m², 3.9mm*150mm boyutlarında Novapack-phenyl kolon içeren) HPLC de kantitatif analizi yapılır. Kromatografide mobil faz olarak ta (11mM Sitrik asit/ 0.055mM EDTA) %60'lık sulu çözeltisi ile %40'lık metanol ün karışımı kullanılır. Mobil fazın akış hızı ise 1 ml/dk olarak ayarlanır (2,4-DKF'nin standart analizinin RT'si 15.7 dakikadır). Ayrıca 4 gün boyunca 2,4-DKF ye maruz bırakılmış bitki hidroponik sistemden alınarak kökleri deiyonize su ile iyice yıkanıp aseton ile muamele edilerek köklere adsorbe olmuş 2,4-DKF de ekstrakte edilerek bu ekstrakta aynı kromatografik analize tabii tutulmak üzere hidroponik sistemden ekstrakte edilmiş kirletici ile birleştirilir.

B. Bitkinin Bünyesine Almış Olduğu 2,4-DKF nin Analizi

1. Bitki dokularından 2,4-DKF'nin ekstraksiyonu

4 gün boyunca 2,4-DKF'ye maruz bırakılmış bitki hidroponik sistemden alınarak gövde ve kökleri dikkatlice ayrıştırılarak ağırlıkları kaydedilip -80 °C da sıvı azot yardımıyla derin dondurucuda muhafaza edilir. Derin dondurucuya atmadan önce bitki dokuları (kök ve gövde ayrı ayrı) küçük parçalara kesilerek 3 dakika boyunca bir değirmende olabildiğince toz (pudra) haline getirilir. Pudra haline getirilmiş bitki dokuları hacimce 2:1:0.8 oranlarında hazırlanmış

Metanol: Metilenklorür: Destile su karışımında 4 saat boyunca 200 rpm hızında karanlıkta muamele edildikten sonra -20 °C'de bir gece bekletilir. Elde edilen homojenat 10 dk boyunca 5000 rpm'de karıştırılır. Neticede elde edilen pelet

(ökelek) özücü karışımı ile 2 kez daha yıkandıktan sonra tüm ekstraktlar birleştirilerek HPLC analizi için 2 ayrı fraksiyona bölünür.

Fraksiyonun bir bölümü asit hidrolize işleme tabii tutulduktan sonra diğer bölümü de 0.22 mikrometre naylon şırınga filtresinden süzöldükten sonra yukarıdaki prosedürde anlatıldığı gibi, direk HPLC ile analiz edilir.

2. Asit hidrolize analizi

2,4-DKF'nin bitki ye kökler vasıtasıyla alındıktan sonra kök ya da gövde kısmında metabolitlerine parçalanabilme ihtimaline karşın direk ekstraksiyon değilde asit hidrolize ekstraksiyon alternatifi de çalışılacaktır.

Numuneler kurutulup evapore edildikten sonra 2N 200 mikrolitrelik HCl ile 100 oC'da 2 saat boyunca inkübe edilir. Asitle hidroliz tamamlandıktan sonra numunenin üzerine destile su ilave edilip sulu faza alınan 2,4-DKF, hacimce 1:1'lik kloroform kullanılarak ekstrakte edilir. Organik fraksiyon evapore edilip kurutularak kalan rezidü mobil faz kullanılarak HPLC de analiz edilir.

Yukarıda detayları anlatılmış olan bitki dokularında yapılan analizler kökler ve gövde+yapraklar için ayrı ayrı tekrarlanır.

Asit hidrolize analizin akabinde metabolitlerin oluşup oluşmadığını tam teyit edebilmek için Glutathione S-Transferaz (GST) enziminin analizi yapılır.

4.BULGULAR

Bu araştırmada, hidroponik ortamda gelişen, *Datura stramonium*, *Amaranthus retroflexus* ve *Sinapis arvensis* bitkileri 2,4-DKF'nin farklı dozlarına (0, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 ve 275 ppm) 96 saat boyunca hidrofonik ortamda maruz bırakılmış ve sonra hasat edilen bitkilerde morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve analitik parametreler incelenerek çalışılan bitkilerin 2,4-DKF fitoremidasyon potansiyelleri değerlendirilmiştir. Daha kolay değerlendirme ve yorum yapılabilmesi için her bir bitkiden elde edilen bulgular, ayrı ayrı sunulmuştur.

***Datura stramonium* Bitkisine Ait Bulgular**

Gövdelerin ve köklerin büyüme parametreleri

Datura bitkisi ile ilgili verilerin varyans analizi sonuçlarına göre, farklı konsantrasyonlarda 2,4 diklorofenolün gövde uzunluğuna etkisi %5 olasılık düzeyinde önemli, kök uzunluğu ve tüm bitki üzerinde önemsiz bulunmuştur (Tablo 5). Bu bitkinin ortalama verilerinin karşılaştırılmasının sonuçları, 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun artmasıyla toprak üstü kısımlarının uzunluğunun önemli ölçüde azaldığını, böylece *Datura*'nın en yüksek toprak üstü kısımlarının kontrol muamelesi (21.3 cm) ile ilgili olduğunu göstermiştir. en düşük uzunluk ise 275 PPM konsantrasyonunda olmuş ve ortalama 13.17 cm ile gözlenmiştir. Tabii ki, 75 ila 175 ppm 2,4 diklorofenolün düşük konsantrasyonları 2,4 diklorofenol de en yüksek gövde uzunluğuna sahipti, bunlar kontrol muamelesi ile ortak istatistiksel gruptaydı (Tablo 5). Sayısal ortalama açısından, *Datura* bitkisinde kök uzunluğu 7.83 cm (275 ppm konsantrasyonda) ile 14.33 cm (kontrol uygulamasında) arasında değişmiştir. Ayrıca tüm bitkinin uzunluğu (kök ve gövde toplamı) 21 ila 35.63 cm (sırasıyla 275 ve 0 ppm muamelede) elde edilmiştir (Tablo 5). Genel olarak sonuçlar, 2,4 diklorofenolün yüksek konsantrasyonlarının kök kısımların ve tüm *Datura* bitkisinin ortalama uzunluğunda önemli bir azalmaya yol açtığını göstermiştir. 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının *Datura* bitkisinin yaş ve kuru ağırlığına etkisi %1 olasılık düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 5). Ortalama verilerin karşılaştırılmasının sonuçları, yüksek konsantrasyonlarda 2,4 diklorofenolün bitkinin taze ve kuru ağırlığı üzerinde azaltıcı bir etki göstermiştir. Böylece *Datura* bitkisinin en düşük taze ağırlığı (bitki başına 3.51 ve 3.48 gram) ve kuru ağırlığı (bitki başına 1.74 ve 1.58 gram) 250 ve 275 ppm konsantrasyonlarında gözlenmiştir. Diğer taraftan, 0, 75, 100, 125, 150 ve 175 ppm konsantrasyonları en yüksek ortalama taze ağırlığa ve 0, 75, 100, 125 ve 150 ppm konsantrasyonları *Datura*'nın en yüksek ortalama kuru ağırlığına sahiptir (Tablo 5).

Fotosentetik pigmentlerin (Klorofil a-b-toplam) içeriğinin belirlenmesi

Datura bitkisi ile ilgili veri analizi sonuçları, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının klorofil a, b, toplam klorofil ve ayrıca karotenoidleri içeren fotosentetik pigmentlerin içeriği üzerindeki etkisinin %1 olasılık düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir ancak klorofil a'nın b'ye oranı önemsizdir (Tablo 6). Fotosentetik pigmentlerin ortalama verilerinin karşılaştırılması, artan 2,4 diklorofenol konsantrasyonu koşulları altında klorofil içeriğinde önemli bir azalmanın meydana geldiğini göstermiştir. Böylece en düşük ortalama klorofil a, b, total ve karotenoid pigmentleri (sırasıyla 10.02, 8.56, 18.58 ve 2.03 mikrogram/gram taze ağırlık) en yüksek 2,4 diklorofenol konsantrasyonunda elde edilmiştir. kontrol uygulama, en az 1.5 kat azalma oldu.

Bu pigmentlerin en yüksek ortalaması (sırasıyla taze ağırlığın gramı başına 15.59, 16.62, 32.21 ve 3.39 mikrogram) kontrol uygulamasında (2,4 diklorofenol kullanılmadan) elde edilmiştir. Ayrıca 2,4 diklorofenolün 75, 100 ve 125 ppm konsantrasyonlarının kullanımı da üstün muamele ile ortak istatistiksel gruptaydı ve en yüksek ortalamaya sahipti (Tablo 11-4). Klorofil a'nın b'ye oranı, farklı 2,4 diklorofenol konsantrasyonları nedeniyle önemli bir farklılığa sahip değildi, ancak sayısal ortalama açısından, sırasıyla 125 ve 275 ppm'lik konsantrasyona karşılık gelen 0.88 ila 1.28 arasında değişiyordu (Tablo 6).

Malondialdehit (MDA) içeriği belirlenmesi

Verilerin varyans analizi sonuçları, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının Datura bitkisinin iki gövde ve kökünün malondialdehit içeriği üzerindeki etkisinin %1 olasılık düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir (Tablo 7). Ortalama verileri karşılaştırmanın sonuçları, kültür ortamında 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun artmasıyla birlikte gövdelerde ve köklerde malondialdehit içeriğinin önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Böylece gövdedeki en yüksek malondialdehit içeriği mililitrede 250 ppm (0.33 nM/ml) ve kökte 250 ve 275 ppm (sırasıyla ortalama 0.17 ve 0.18 nM) düzeyindedir. Gözlemlendi kontrol uygulamasına kıyasla her iki kısmında iki kattan fazla arttı. Öte yandan, gövdelerde ve köklerde en düşük malondialdehit ortalaması, kontrol uygulamasıyla ilgilidir (sırasıyla ortalama 0.11 ve 0.08 nM/ml) (Tablo 7). Ayrıca sonuçlar gövdedeki 2,4 diklorofenolün tüm seviyelerindeki malondialdehit içeriğinin köke göre daha yüksek bir ortalamaya sahip olduğunu göstermiştir (Tablo 7).

Protein içeriklerinin belirlenmesi

Verilerin varyans analizinden elde edilen sonuçlara göre, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının datura bitkisinin sürgün ve köklerinin protein içeriği üzerindeki etkisi %1 olasılık düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 7). Ortalama verileri karşılaştırmanın sonuçları, 2,4 diklorofenol kullanımı altında her iki bitki organındaki protein içeriğinin önemli bir düşüş gösterdiğini, böylece gövde kısımlarında 250 ve 275 ppm 2,4 diklorofenol kullanımının (8.7 ve yüzde 7,72) ve kök (yüzde 2,01 ve yüzde 1,98), en düşük ortalama proteinin oluşturulmasına yol açtı. kontrol uygulamasına kıyasla (Uygulanamaz) 1,5 kattan fazla bir azalmaya sahipti.

Toprak üstü kısımlardaki en yüksek protein içeriği, ortalama %20.75 ile 75 ppm konsantrasyonu ile ilgilidir. Kontrol uygulamalarının köklerinde ise 75 ve 100 ppm 2,4 diklorofenol bu özelliğin en yüksek ortalamasına (sırasıyla 3.65, 3.96 ve %3.64) sahiptir (Tablo 7). Verilerin sonuçları, *Datura* bitkisinin toprak üstü kısmındaki protein miktarının, tüm 2,4 diklorofenol seviyelerinde bu bitkinin kökünden 3 kat daha fazla olduğunu göstermiştir (Tablo 7).

Katalaz (CAT) enzim aktivitesi belirlenmesi

2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının etkisi altında *Datura* bitkisinin gövde ve köklerinde katalaz enzim aktivitesi miktarı %1 olasılık düzeyinde önemli bir farklılık göstermiştir (Tablo 7). Buna dayanarak, ortalama verileri karşılaştırmanın sonuçları, 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun artırılmasının, bu enzimin her iki bitki kısımlarında aktivitesinde önemli bir artışa yol açtığını gösterdi. Böylece katalaz enziminin hava kısımlarındaki en yüksek aktivitesi 275 ppm (dakikada miligram protein başına 0.19 enzim birimi) konsantrasyonu ile ilgiliydi. Katalaz enziminin kontrol muamelelerinin gövde kısımlarında daki en düşük aktivitesi 75 ve 100 ppm (dakikada mg protein başına sırasıyla 0.07, 0.06 ve 0.07 enzim birimi) iken, muamele kontrolünün kök kısımlarında ve 75 ppm (Dakikada miligram protein başına 0.07 ve 0.07 enzim birimi) elde edildi (Tablo 7).

Sonuçlar, 275 ppm ve kontrol hariç tüm 2,4 diklorofenol seviyelerinde, kök kısımlarındaki katalaz enzim aktivitesi miktarının, 275 ppm uygulamasında tersi olan gövde kısımların den biraz daha yüksek olduğunu gösterdi. ve kontrol uygulamasinde, aynı aktiviteye sahip olduklarından daha yüksekti (Tablo 7). Kök kısımlarında ise 250 ppm (dakikada miligram protein başına 0.21 enzim birimi) düzeyinde gözlenirken, bu bitkinin kökündeki 200, 225 ve 275 ppm konsantrasyonları bu bitkinin ortalama aktivitesi en yüksek olanıdır. Bu seviyelerin tümü, kontrol uygulamasına kıyasla katalaz enzim aktivitesinde iki kattan fazla artış gösterdi.

Katalaz enziminin kontrol muamelelerinin gövde kısımlarındaki en düşük aktivitesi 75 ve 100 ppm (dakikada mg protein başına sırasıyla 0.07, 0.06 ve 0.07 enzim birimi) iken, muamele kontrolünün kök kısımlarında ve 75 ppm (Dakikada miligram protein başına 0.07 ve 0.07 enzim birimi) elde edildi (Tablo 7). Sonuçlar, 275 ppm ve kontrol hariç tüm 2,4 diklorofenol seviyelerinde, kök kısımlarındaki katalaz enzim aktivitesi miktarının, 275 ppm uygulamasında tersi olan gövde kısımlarındakiden biraz daha yüksek olduğunu gösterdi. ve kontrol uygulamada, aynı aktiviteye sahip olduklarından daha yüksekti (Tablo 7).

Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi belirlenmesi

Datura bitkisinin veri analizinden elde edilen bulgular, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının bu bitkinin gövde ve kökündeki *Askorbat peroksidaz* enziminin aktivitesi üzerindeki etkisinin %1 olasılık düzeyinde önemli bir farklılığa sahip olduğunu göstermiştir (Tablo 8). Ortalama verileri karşılaştırmanın sonuçlarına göre (Tablo 8), bu enzimin aktivitesindeki artış, 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun artırılması koşulları altında meydana geldi, böylece *Askorbat peroksidaz* enziminin en yüksek aktivitesi, gövdelerde ve köklerde 275 ppm konsantrasyonda dakikada protein

miligramı başına ortalama 18.9 ve 79.7 enzim ünitesi ile gözlenmiştir. Ayrıca hava kısımlarında 200, 225 ve 250 ppm konsantrasyonları da üstün muamele ile aynı istatistiksel grupta yer alan bu enzimin en yüksek aktivitesini göstermiştir.

2,4 diklorofenol (kontrol) kullanılmaması ve ayrıca 75 ppm konsantrasyonu bu enzimin gövde kısımlarında (dakikada miligram protein başına sırasıyla 9.81 ve 10.48 enzim birimi) ve kök kısımların da (18.12 ve 18.51) en düşük aktivitesine yol açar. sırasıyla dakikada protein miligramı başına enzim birimleri). Sonuçlara göre, kök organdaki *Askorbat peroksidaz* enzim aktivitesi miktarı, tüm 2,4 diklorofenol seviyelerinde gövde kısımlarındakiden daha yüksekti aralarındaki fark, daha yüksek 2,4 diklorofenol seviyelerinde yüksektir (Tablo 8).

Glutasyon peroksidaz (GPX) enzim aktivitesi belirlenmesi

Verilerin varyans analizi sonuçları, glutasyon peroksidaz enziminin, *Datura* bitkisinin toprak üstü kısımlarında ve köklerinde, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının etkisi altında aktivite seviyesinin, %1 olasılık düzeyinde önemli bir farklılığa sahip olduğunu göstermiştir (Tablo 8). Artan 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun etkisiyle gövde ve kökte glutasyon peroksidaz enzim aktivitesinde bir artış gözlemlendi. Böylece gövde kısımlarındaki (sırasıyla 7.17, 6.41 ve 6.91 enzim birimi/dakikada protein) ve kök kısımlarındaki (mg protein başına 21.63, 18.04 ve 20.67 enzim birimine kadar) 0, 75 ve 100 ppm konsantrasyonları dakika) glutasyon peroksidaz enziminin en düşük aktivitesine sahipti.

Öte yandan, bu enzimin toprak üstü kısımlardaki en yüksek aktivitesi, 225 ve 250 ppm konsantrasyonları (sırasıyla ortalama 14.54 ve 13.58 enzim birimi/dakikada protein miligramı) ile ilişkiliydi ve bu işlem 275 ppm'de de uygulandı. bu uygulamalar ile ortak istatistiksel grup ve en yüksek glutasyon peroksidaz enzim aktivitesine sahipti. Kök kısımlarında, en yüksek aktivite, dakikada proteinin miligramı başına ortalama 48.93 enzim birimi aktivite ile en yüksek 2,4 diklorofenol (275 ppm) konsantrasyonu ile ilgilidir. uygulamada ile karşılaştırıldığında, aktivite iki kattan fazla arttı (Tablo 8). Her iki bitki parçasının veri sonuçları, kök kısımlarında ki glutasyon peroksidaz enziminin aktivite seviyesinin gövde kısımlarında göre daha yüksek bir ortalamaya sahip olduğunu göstermiştir (Tablo 8).

Glutasyon S-transferaz (GST) enzim aktivitesi belirlenmesi

Veri analizi sonuçları, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının, *datura* bitkisinin gövde ve kökündeki glutasyon S-transferaz enzim aktivitesi üzerindeki etkisinin sırasıyla %1 ve %5 olasılık seviyelerinde önemli olduğunu göstermiştir. (Tablo 8). elde edilen verilerin ortalamasını karşılaştırmanın sonuçları, bu enzimin gövde ve kökteki aktivite seviyesinin, farklı konsantrasyonlarda 2,4 diklorofenolün etkisi altında farklı olduğunu, böylece glutasyon S-transferazın en yüksek aktivitesinin gövdede olduğunu göstermiştir. gövdelerin 250 ve 275 ppm seviyelerinde olduğu (sırasıyla ortalama 1453.5 ve 1617.9 enzim ünitesi/miligram protein/dakika) gözlemlendi. Kök gövdede ise en yüksek aktivite 150, 175, 200, 225, 250 ve 275 ppm konsantrasyonları ile ilgilidir. sırasıyla ortalama 8.4665, 9.4668, 0.5712, 7.4848, 1.6502 ve 0.4770 enzim birimi dakikada proteinin miligramı başınadır. Öte yandan, en düşük glutasyon S-

transferaz aktivitesi sürgün ve kökte (dakikada mg protein başına ortalama 0.530 ve 2041.2 enzim ünitesi ile) kontrol uygulamasında (2,4 diklorofenol kullanılmadan) gözlemlendi (Tablo 8). Bu enzimin kök kısımlarındaki aktivite seviyesi, gövde kısımlarında kıyasla, tüm 2,4 diklorofenol seviyelerinde çok daha yüksek bir ortalamaya sahipti (Tablo 8).

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi belirlenmesi

Verilerin varyans analizi sonuçları, datura bitkisinin gövde ve köklerinde 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının etkisi altında süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin seviyesinin %1 olasılık düzeyinde önemli bir farklılığa sahip olduğunu göstermiştir (Tablo 8). Ortalama verileri karşılaştırmanın sonuçları, 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun arttırılmasının bu enzimin aktivitesinde önemli bir artışa yol açtığını gösterdi. Böylece gövde kısımlarındaki en yüksek süperoksit dismutaz enzim aktivitesi, miligram protein başına ortalama 82.24 enzim birimi ile en yüksek 2,4 diklorofenol (275 ppm) konsantrasyonu ile ilişkilirdi. 225 ve 250 ppm konsantrasyonlarının bu muamele ile ortak istatistiksel grupta olduğu ve en yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca kök gövdede 250 ve 275 ppm seviyeleri (sırasıyla ortalama 83.91 ve 82.84 enzim birimi/miligram protein) en yüksek süperoksit dismutaz enzim aktivitesine sahipti ve 150, 175, 200 ve 225 ppm konsantrasyonları da bu uygulamalarla ortak gruptaydı. gövde kısımlarında, sıfır (kontrol) ve 75 ppm konsantrasyonları, en düşük süperoksit dismutaz enzim aktivitesine sahipti (sırasıyla, mg protein başına 56.62 ve 56.53 enzim birimi). Kök kısımlarında iken 0, 75 ve 100 ppm konsantrasyonları (sırasıyla ortalama 0.66, 67.9 ve 67.6 enzim birimi/miligram protein) bu enzimin en düşük aktivitesine sahipti (Tablo 8). Elde edilen sonuçlara göre, 2,4 diklorofenolün tüm seviyelerinde süperoksit dismutaz enziminin gövde kısımlarındaki aktivite seviyesi kök gövdelerde göre daha düşük bir ortalamaya sahipti (Tablo 8).

Hidrojen peroksit içeriği (H₂O₂) belirlenmesi

Veri varyans analizi tablosunun sonuçlarına göre (Tablo 9), 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının Datura bitkisinin toprak üstü kısımlarındaki ve köklerindeki hidrojen peroksit içeriği üzerindeki etkisi %1 olasılık düzeyinde önemliydi. Ortalama verileri karşılaştırmanın sonuçları, gövde kısımlarındaki hidrojen peroksit içeriğinin vücut ağırlığının 0,72 ila 1,73 mmol/g olduğunu gösterdi ve kök kısımlarında, bu ortalama, taze ağırlığın gramı başına 0.85 ila 11.11 mM arasında elde edildi. Ayrıca sonuçlar, bu bitkinin kültür ortamındaki 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun arttırılmasının, her iki bitki kısımlarında hidrojen peroksit içeriğinde bir artışa yol açtığını göstermiştir. Öyle ki bu özelliğin toprak üstü kısımlarında en yüksek ortalaması 225, 250 ve 275 ppm (sırasıyla taze ağırlığın gramı başına ortalama 1,73, 1,69 ve 1,68 milimolar) ve kök organda ise 250 ve 275 ppm (sırasıyla ortalama 1.11 ve 1.06 mmol/g taze ağırlıkla). Ayrıca, gövdede en düşük ortalama hidrojen peroksit kontrol uygulamasında elde edilmiş ve konsantrasyon 75 ppm (sırasıyla 0.76, 0.72 mmol/g taze ağırlık) ve kontrol uygulamasında kökte (85 0.0 mmol/g taze ağırlık) olmuştur. ağırlık) gözlemlendi (Tablo 9). Farklı 2,4 diklorofenol konsantrasyonları altında iki organdaki hidrojen peroksit içeriğinin karşılaştırılması sonuçları, düşük

konsantrasyonlarda bu özelliğin ortalaması açısından önemli farklılıklar olmadığını, ancak yüksek konsantrasyonlarda hidrojen peroksit içeriği olduğunu göstermiştir. gövdede kökten daha fazla elde edilmiştir (Tablo 9).

Süperoksit içeriği (O₂⁻) belirlenmesi

Deney sonuçları, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının Datura bitkisinin gövde ve kökündeki süperoksit içeriği üzerindeki etkisinin %1 olasılık düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir (Tablo 9). Bu bağlamda, ortalama karşılaştırmanın sonuçları, 2,4 diklorofenol konsantrasyonundaki artışla eş zamanlı olarak her iki bitki kısımlarının süperoksit içeriğinde önemli bir artış gösterdi. Böylece en yüksek süperoksit içeriği, en yüksek 2,4 diklorofenol konsantrasyonunda (275 ppm) gövde ve kökte (sırasıyla ortalama 69.5 ve 98.17 nM/g taze ağırlıkla) gözlemlendi. Ek olarak, kök kısımlarında, 250 ppm'lik bir konsantrasyonun kullanılması da en yüksek süperoksit ortalamasına (taze ağırlığın gramı başına 99.09 nanomolar) sahipti. Ayrıca, kök kısımlarındaki 175, 200 ve 225 ppm konsantrasyonları, en iyi muamelelerin yapıldığı ortak istatistiksel gruptaydı ve en yüksek ortalama süperoksiti gösterdi. Datura gövde kısımlarında, en düşük süperoksit sıfır (kontrol), 75 ve 100 ppm (sırasıyla taze ağırlığın gramı başına 51.2, 50.29 ve 49.37 nM) konsantrasyonları ile ilişkiliyken, kök kısmı en düşük süperoksit içeriğini göstermiştir. ortalama 66.45 nM/g taze ağırlık ile kontrol muamelesi (Tablo 9). 2,4 diklorofenolün farklı seviyelerinde iki bitki kısımlarındaki süperoksit miktarının karşılaştırılması sonuçları, kökteki süperoksit içeriğinin gövde göre daha yüksek bir ortalamaya sahip olduğunu göstermiştir (Tablo 9).

Bitkinin bünyesine geçen kirleticinin (2,4-DKF) absorpsiyon oranının belirlenmesi

Veri analizi sonuçlarına göre, 2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonlarına karşı 2,4-DKF'nin etkisi altında Datura bitkisinin yaprak, gövde ve kök kısımlarında absorpsiyon miktarı %1 olasılık düzeyinde önemli bir fark göstermiştir (Tablo 9). Genel olarak, aynı iki bitkinin ortalama verilerini karşılaştırmanın sonuçları, 2,4 diklorofenol konsantrasyonundaki artışla birlikte, bu bileşiğin her üç kısımlarda absorpsiyon miktarının önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Yapraktaki en yüksek absorpsiyon, 275 ppm konsantrasyonunda bu bileşiğin absorpsiyon hızının araştırılmadığı düşünüldüğünde, 225 ve 250 ppm (sırasıyla 69.48 ve 73 ng/ml) konsantrasyonları ile ilgilidir. Kök kısımlarında, bu bileşiğin en yüksek içeriği 250 ve 275 ppm'lik (sırasıyla 481.4 ve 0.497 ng/ml) en yüksek konsantrasyonlarla ilgiliydi ve kök organda en yüksek konsantrasyon (275 ppm) kullanıldı.) bu bileşiğin en yüksek absorpsiyonuna neden oldu (0.3882 ng/ml). Her üç bitki kısımlarını, yaprak, gövde ve kökte, 2,4 diklorofenolün en düşük ortalama absorpsiyonu, sırasıyla 6.74, 131.44 ve 1084.6 ng/ml ortalamalarla en düşük konsantrasyonla (75 ppm) ilişkilidir (Tablo 9). Ortalama verilerin karşılaştırılmasından elde edilen sonuçlara dayanarak, bu bileşiğin Datura bitkisinin farklı kısımlarında 2,4 diklorofenolün tüm seviyelerinde düşükten yükseğe doğru ortalama absorpsiyonu yaprak, gövde ve kök olmuştur (Tablo 9).

Tablo 5. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Datura stramonium*'un Morfolojik Özelliklerine Ait Değişim

2,4-DKF (ppm)	Gövde boyu (cm)	Kök boyu (cm)	Bitki boyu (cm)	yaş ağırlığı (g/plant)	kuru ağırlığı (g/plant)
Kontrol	21.3±1.61 a	14.33±6.51	35.63±8.1	5.49±0.43 a	2.46±0.5 ab
75	20±1 ab	14.17±2.47	34.17±7.32	5.51±0.43 a	2.71±0.51 a
100	19±2.65 abc	13.5±3.28	32.5±3.18	5.16±0.29 a	2.64±0.4 a
125	18.83±2.47 abc	12.67±1.15	31.5±4.25	5.34±0.74 a	2.39±0.27 ab
150	18.5±4.27 abc	12.17±2.75	30.67±5.11	5.14±0.4 a	2.11±0.26 abc
175	17.17±1.76 a-d	11.67±3.06	28.84±5.3	4.7±0.4 ab	2±0.24 bc
200	16.33±1.44 bcd	10±1.73	26.33±2.08	4.13±0.74 bc	1.99±0.44 bc
225	16.17±4.04 bcd	10.17±1.61	26.34±4.37	3.76±0.66 bc	0.83±0.13 d
250	15.33±2.31 cd	10.33±3.21	25.66±5.25	3.51±0.6 c	1.74±0.37 c
275	13.17±2.47 d	7.83±0.29	21±2.65	3.48±0.86 c	1.58±0.24 c
LSD = 0.05	4.43	5.2 (NS)	8.67 (NS)	0.99	0.6

Her sütunda aynı harften sonra gelen ortalamalar (±SD) LSD testine göre %5 düzeyinde anlamlı farklılık göstermemektedir. NS: önemsiz

Tablo 6. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Datura stramonium*'un Fotosentetik Pigmentleri ne Ait Değişim

2,4-DKF (ppm)	Klorofil a (µg/g FW)	Klorofilb (µg/g FW)	Toplam Klorofil (µg/g FW)	Klorofil a/b oran	karotenoidler (µg/g FW)
Kontrol	15.59±0.57 a	16.62±0.51 a	32.21±1.08 a	0.94±0.01	3.39±0.29 a
75	15.39±0.91 ab	16.58±0.79 a	31.97±3.21 a	0.92±0.08	3.16±0.96 ab
100	14.01±1.64 abc	14.48±1.54 ab	28.49±0.68 abc	0.96±0.04	2.9±0.04 abc
125	13.55±1 a-d	15.28±1.24 ab	28.83±0.37 ab	0.88±0.02	2.89±0.19 abc
150	13.4±1.34 bcd	12.37±1.91 bc	25.77±1.68 bcd	1.08±0.02	2.82±0.39 a-d
175	12.35±2.78 cde	12.19±0.3 bc	24.54±2.77 bcd	1.01±0.04	2.64±0.1 b-e
200	11.49±0.08 def	10.99±5.06 cd	22.48±1.03 cde	1.04±0.02	2.32±0.14 cde
225	11.65±0.55 def	10.92±0.5 cd	22.57±2.53 cde	1.06±0.03	2.4±0.31 cde
250	10.96±1.22 ef	10.38±1.55 cd	21.34±7.79 de	0.96±0.47	2.25±0.09 de
275	10.02±0.23 f	8.56±0.45 d	18.58±1.21 e	1.28±0.16	2.03±0.08 e
LSD = 0.05	2.16	3.27	5.16	0.27 (NS)	0.61

Her sütunda aynı harfi takip eden ortalamalar (±SD) %5 düzeyinde LSD testine göre önemli ölçüde farklı değildir.

Tablo 7. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Datura stramonium*'un Fiziolojik ve Biyokimyasal Özelliklerine Ait Değişim

2,4-DKF (ppm)	MDA- Gövde (nM/ml)	MDA- Kök (nM/ml)	Protein- Gövde (%)	Protein - Kök (%)	CAT- Gövde (U/mg protein.min)	CAT- Kök (U/mg protein.min)
Control	0.11±0 g	0.08±0.004 d	16.92±0.808 b	3.65±0.148 a	0.07±0.01 f	0.07±0.032 e
75	0.18±0.05 f	0.11±0.004 c	20.75±4.05 a	3.96±0.63 a	0.06±0.004 f	0.07±0.004 e
100	0.2±0 ef	0.1±0.007 c	14.07±2.103 c	3.64±0.04 a	0.07±0.001 f	0.09±0.004 de
125	0.21±0.01 ef	0.11±0.004 c	14.12±1.738 c	2.67±0.045 bc	0.08±0.005 ef	0.1±0.004 de
150	0.22±0 def	0.11±0.004 c	13.36±0.922 c	2.76±0.17 b	0.1±0.014 e	0.12±0.01 cde
175	0.24±0.01 cde	0.11±0.004 c	12.12±0.59 cd	2.6±0.207 bc	0.11±0.018 d	0.12±0.097 b- e
200	0.26±0.01 bcd	0.14±0.013 b	10.34±0.306 de	2.52±0.07 bc	0.13±0.007 cd	0.15±0.01 a-d
225	0.26±0.01 bc	0.15±0.007 b	9.79±0.701 de	2.36±0.123 cd	0.15±0.01 bc	0.17±0.006 abc
250	0.33±0.01 a	0.17±0.007 a	8.7±0.052 e	2.01±0.017 d	0.16±0.011 b	0.21±0.027 a
275	0.29±0.05 b	0.18±0.03 a	7.72±0.298 e	1.98±0.028 d	0.19±0.014 a	0.18±0.015 ab
LSD = 0.05	3.89	1.76	2.76	0.38	1.86	0.0052

Her sütunda aynı harften sonra gelen ortalamalar (±SD) %5 düzeyinde LSD testine göre önemli ölçüde farklı değildir

Tablo 8. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Datura stramonium*'un Fizyolojik ve Biyokimyasal

2,4-DKF (ppm)	APX- Gövde (U/mg protein.min)	APX- Kök (U/mg protein.min)	GPX- Gövde (U/mg protein.min)	GPX- Kök (U/mg protein.min)	GST- Gövde (U/mg protein.min)	GST- Kök (U/mg protein.min)	SOD- Gövde (U/mg protein)	SOD- Kök (U/mg protein)
Kontrol	9.81±1.418 d	18.12±0.93 f	7.17±1.66 d	21.63±5.6 e	530.0±103.3 f	2041.2±106.4 d	56.62±8.3 d	66.0±2.94 d
75	10.48±1.866 d	18.51±2.004 f	6.41±1.27 d	18.04±2.83 e	598.3±94.6 ef	3512.5±1894.7 cd	56.53±1.17 d	67.9±4.4 d
100	11.78±5.168 cd	18.7±1.926 ef	6.91±0.85 d	20.67±0.6 e	781.8±137.8de	3430.2±656.6 cd	60.53±1.9 cd	67.6±5.3 d
125	13.14±3.03 bcd	28.34±0.578 de	8.91±1.048 cd	21.63±2.1 e	832.74±138.5d	3842.1±779.8 bcd	66.0±4.8 bcd	71.6±1.9 cd
150	14.67±0.187 bc	28.73±1.304 d	9.32±1.254 bcd	21.43±3.2 e	978.7±70.4 cd	4565.8±1250.2abc	65.49±1.6bcd	76.2±1.08bc
175	15.13±0.906 bc	37.4±1.767 d	10.43±0.727 bc	23.07±2.1d e	964.9±37.4cd	4668.9±874.8abc	67.67±5.9 bc	78.0±7.8abc
200	15.27±0.892 abc	50.51±1.016 c	10.22±3.774 bc	28.5±1.56c d	1047.0±238.2c	5712.09±953.3 ab	70.16±9.9 bc	81.9±5.9 ab
225	16.44±1.138 ab	56.16±16.93 c	14.54±2.258 a	34.89±3.5b c	1237.2±122.1b	4848.7±2411.8abc	74.18±9.08ab	81.3±3.7 ab
250	16.61±1.149 ab	67.86±4.114 b	13.58±1.553 a	36.58±8.0 b	1453.5±102.5a	6502.1±1113.6 a	74.13±6.0 ab	83.91±1.6 a
275	18.9±1.65 a	79.72±2.687 a	12.1±1.049 ab	48.93±2.6 a	1617.9±54.8 a	4770.0±509.8 abc	82.24±1.5 a	84.82±3.0 a
LSD = 0.05	3.74	9.71	3	6.52	208.11	2099.4	10.17	7.31

Her sütunda aynı harften sonra gelen ortalamalar (±SD) %5 düzeyinde LSD testine göre önemli ölçüde farklı değildir.

Tablo 9. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Datura stramonium*'un Fizyolojik ve Biyokimyasal

2,4- DKF (ppm)	H ₂ O ₂ - Gövde (mM/g FW)	H ₂ O ₂ - Kök (mM/g FW)	O ₂ ⁻ - Gövde (nM/g FW)	O ₂ ⁻ - Kök (nM/g FW)	2,4-D- Yaprak (ng/ml)	2,4-D-Stem (ng/ml)	2,4-D- Kök (ng/ml)
Control	0.76±0.04 e	0.85±0.004 d	51.2±1.057 d	66.45±5.04 d	ND	ND	ND
75	0.72±0.01 e	0.87±0.026 cd	50.29±1.905 d	77.43±2.941 c	6.74±0.28 e	131.44±3.373g	1084.67±39.66 f
100	0.89±0.03 d	0.89±0.01 bcd	49.37±1.398 d	81.7±0 c	13.23±2.99 d	183.49±12.24	1241.25±15.376 ef
125	0.87±0.004 d	0.89±0.045 bcd	58.83±0.915 c	90.24±4.695 b	35.27±4.528 c	243.9±6.094 e	1273.24±279.652 e
150	0.94±0.024 d	0.94±0.04 bc	57±0.915 c	91.46±1.905 b	39.88±3.455 c	266.46±1.20 e	1951.47±56.261 d
175	1.07±0.158 c	0.93±0.04 bc	59.44±1.057 bc	92.99±3.213 ab	ND	280.77±2.371d	1980.09±74.672 d
200	1.51±0.043 b	0.95±0.029 bc	60.35±3.21 bc	92.99±3.213 ab	54.36±3.35 b	339.1±28.70 c	2741.5±38.005 c
225	1.73±0.03 a	0.95±0.022 b	61.57±0.915 bc	95.12±6.988 ab	69.48±4.72 a	433.07±16.1 b	2601.18±6.101 c
250	1.69±0.042 a	1.11±0.063 a	64.32±3.299 b	99.09±1.83 a	73±3.066 a	481.4±17.102a	3143.85±148.388 b
275	1.68±0.039 a	1.06±0.097 a	69.5±7.452 a	98.17±0.915 a	ND	497.08±19.8 a	3882.06±30.78 a
LSD = 0.05	9.97	0.07	5.02	6.22	4.94	23.9	181.2

Her sütunda aynı harften sonra gelen ortalamalar (±SD) %5 düzeyinde LSD testine göre önemli ölçüde farklı değildir. ND: algılanmadı

***Amaranthus Retroflexus* Bitkisine Ait Bulgular**

Gövdelerin ve köklerin büyüme parametreleri

Veri varyans analizi tablosunun sonuçlarına göre, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının gövde uzunluğu ve bitki uzunluğu üzerindeki etkisi %5 olasılık düzeyinde önemli iken kök uzunluğu üzerinde önemsiz bulunmuştur (Tablo 10). Ortalama verileri karşılaştırmanın sonuçları, ortamdaki 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun artmasının gövde, kök ve tüm bitki uzunluğunda (toplam kök ve gövde uzunluğu) bir azalmaya yol açtığını göstermiştir. 75 ppm 2,4 diklorofenol kullanımı en uzun gövde uzunluğu (14 cm) ile sonuçlanmıştır ve 0, 100, 125, 150, 175 ve 200 ppm konsantrasyonları ise en iyi uygulama gören eklem grubunda olup en yüksek ortalama göstermiştir. , gövde kısmının en düşük uzunluğu, ortalama 9,67 cm ile en yüksek konsantrasyonla ilişkilendirilmiştir (Tablo 6). Sayısal ortalama açısından, horoz ibiği bitkisinde kök uzunluğu 9 cm ile 12,5 cm arasında değişmektedir en düşük kök uzunluğu, en yüksek 2,4 diklorofenol konsantrasyonu ile ilişkiliyken, en yüksek uzunluk 125 ppm'de elde edilmiştir. Sonuçlar, konsantrasyonun 125 ppm'ye kadar artırılmasının bu bitkide ortalama kök uzunluğunu arttırdığını göstermiştir (Tablo 10).

Toplam bitki uzunluğunun ortalama verilerini karşılaştırmanın sonuçları, 225, 250 ve 275 ppm uygulamalarının sırasıyla ortalama 20.5, 19.66 ve 18.67 ile en düşük bitki uzunluğuna sahip olduğunu göstermiştir. Sıfır, 75, 100 ve 125 ppm konsantrasyonları ise en uzun bitki boyunu göstermiştir. Ayrıca 150, 175 ve 200 ppm konsantrasyonları en iyi muamelelerin yapıldığı ortak istatistiksel grupta yer almış ve en uzun bitki boyunu göstermiştir (Tablo 10). Veri varyans analizi sonuçlarına göre, farklı 2,4 diklorofenol konsantrasyonlarının etkisi altındaki bitkinin kuru ağırlığı %5 olasılık düzeyinde önemli bir farklılık gösterirken, bitkinin yaş ağırlığı önemsiz bir olasılık düzeyinde bulunmuştur (Tablo 10). Sayısal ortalama açısından, cocklebur bitkisinin taze ağırlığı bitki başına 2.97 gramdan bitki başına 4.45 grama kadar değişmekte olup, en düşük ortalama en yüksek 2,4 diklorofenol konsantrasyonunda ve en yüksek ortalama ise kontrol uygulamasına ilişkindir. Sonuçlar, 2,4 diklorofenol kullanımının bitkinin ortalama taze ağırlığında bir azalmaya yol açtığını göstermiştir (Tablo 10). Bitkinin en yüksek kuru ağırlığı sıfır, 100 ve 125 ppm (bitki başına sırasıyla ortalama 1.71, 1.64 ve 1.66 gram) konsantrasyonlarında elde edilmiştir ve 75, 150, 175 ve 200 ppm'lik uygulamalarla ortak istatistiksel gruptaydı Bitkinin en düşük ortalama kuru ağırlığı, en yüksek 2,4 diklorofenol konsantrasyonunda (bitki başına 1 gram) gözlenmiştir (Tablo 10).

Fotosentetik pigmentlerin (Klorofil a-b-toplam) içeriğinin belirlenmesi

Veri varyans analizi tablosunun sonuçlarına göre (Tablo 11), farklı konsantrasyonlarda 2,4 diklorofenolün klorofil a, b, toplam klorofil içeriği ve ayrıca karotenoid içeriği üzerindeki etkisi önemsiz bulunmuştur, ancak klorofil a'nın b'ye oranında %5 olasılık düzeyinde anlamlıydı. Genel olarak, verilerin sayısal ortalamasını karşılaştırmanın sonuçları, büyüme ortamındaki 2,4 diklorofenol konsantrasyonundaki artışın, klorofil a, b, toplam klorofil ve karotenoid içeriği ortalamasında önemli bir

düşüşe neden olduğunu göstermiştir. Böylece en düşük ortalama klorofil a, b, toplam ve ayrıca karotenoid içeriği (sırasıyla ortalama taze ağırlık başına 6.8, 2.25, 9.05 ve 3.74 mikrogram) en yüksek 2,4 diklorofenol konsantrasyonu (275 ppm) ile ilgiliydi. Öte yandan, en yüksek sayısal ortalama klorofil a, b ve toplam 100 ppm muamelesinde (sırasıyla taze ağırlık gramı başına ortalama 8.76, 2.87 ve 11.63 mikrogram ile) gözlemlendi. Ve 75 ppm'lik konsantrasyon en yüksek ortalama karotenoid (4.86 µg/g taze ağırlık) sahipti (Tablo 11). Klorofil a'nın b'ye en düşük oranı 250 ppm'lik konsantrasyonla ilgilidir. ve diğer uygulama seviyeleri daha yüksek bir ortalamaya sahipti (Tablo 11).

Malondialdehit (MDA) içeriğinin belirlenmesi

Sonuçlar, farklı 2,4 diklorofenol konsantrasyonlarının etkisi altında, cocklebur bitkisinin sürgün ve kökündeki malondialdehit içeriğinin %1 olasılık düzeyinde önemli bir farklılığa sahip olduğunu göstermiştir (Tablo 12). Sonuçlar gösterdi 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının etkisi altında horoz ibiği bitkisinin gövde ve köklerindeki malondialdehit içeriğinin %1 olasılık düzeyinde önemli bir farklılığa sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 12).

Ortalama verileri karşılaştırmanın sonuçları ayrıca büyüme ortamında 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun arttırılmasının hem gövdelerde hem de köklerde ortalama malondialdehitte önemli bir artışa yol açtığını göstermiştir. Böylece sürgünlerde ve köklerde en yüksek ortalama malondialdehit (sırasıyla 1.13 ve 0.31 nmol/ml), en yüksek 2,4 diklorofenol konsantrasyonu (275 ppm) ile ilişkiliydi. kontrole kıyasla iki katından fazla artmıştır. En düşük malondialdehit ortalaması, kontrol uygulamasında (0.56 nmol/ml) gövdelerde ve sıfır ve 75 ppm uygulamalarına karşılık gelen köklerde (sırasıyla 0.18 ve 0.18 nmol/ml) olmuştur (Tablo 7). İki toprak üstü kısım ve kök karşılaştırıldığında, toprak üstü kısımlardaki malondialdehit içeriğinin tüm 2,4 diklorofenol seviyelerinde kökten daha yüksek olduğu gözlemlendi (Tablo 12).

Protein içeriğinin belirlenmesi

Verilerin varyans analizi sonuçları, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının gövde ve köklerin protein içeriği üzerindeki etkisinin %1 olasılık düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir (Tablo 12). Tablo 8'te sunulan sonuçlara göre, horoz ibiği gövde kısımlarındaki en yüksek protein içeriği, ortalama %22.31 ile 75 ppm'lik konsantrasyonla ilgilidir. elbette sıfır (kontrol), 100 ve 125 ppm konsantrasyonları da en iyi muameleye sahip ortak istatistiksel gruptaydı ve bu özelliğin en yüksek ortalamasını gösterdi. horoz ibiği kök kısmında en yüksek protein içeriği ortalama %6.78 ile kontrol uygulama gözlemlendi. Ve diğer uygulama seviyelerinde daha düşük ortalama protein vardı. Böylece gövde ve köklerde en düşük protein içeriği (%16.43 ve %4.39) en yüksek 2,4 diklorofenol seviyesinde elde edilmiştir (Tablo 12). Sonuçlar, düşük konsantrasyonlarda 2,4 diklorofenolün, toprak üstü kısımlarda protein içeriğinde bir artışa yol açtığını gösterdi. Ayrıca gövde lerdeki protein miktarı da köklere göre daha fazlaydı (Tablo 12).

Katalaz (CAT) enzim aktivitesi belirlenmesi

Elde edilen verilerin varyans tablosu analizi sonuçları, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının etkisi altında horoz ibiği bitkisinin gövde ve kökündeki katalaz enzim aktivitesinin seviyesinin %1 olasılık düzeyinde önemli bir farklılığa sahip olduğunu göstermiştir (Tablo 12). Elde edilen ortalama verilerin karşılaştırılması sonuçlarına göre, horoz ibiği bitkisinin yetiştirme ortamındaki 2,4 diklorofenol konsantrasyonundaki artış, katalaz enziminin toprak üstü kısımlarında ve köklerinde ortalama aktivitesinde önemli bir artışa yol açmıştır. Böylece gövdelerde ve köklerde katalaz enziminin en yüksek aktivitesi, dakikada protein başına ortalama 0.48 ve 1.24 enzim birimi ile en yüksek 2,4 diklorofenol (275 ppm) konsantrasyonu ile ilgilidir. Ek olarak, 250 ppm'lik toprak üstü kısımlardaki konsantrasyon da bu enzimin en yüksek ortalama aktivitesine sahipti. Katalaz enziminin en düşük aktivitesi kontrol uygulamasında (dakikada miligram protein başına sırasıyla ortalama 2.91 ve 4.82 enzim birimi ile) gözlemlendi (Tablo 12). gövde ve kökün enzim aktivitesinin karşılaştırılması, bu enzimin tüm 2,4 diklorofenol seviyelerindeki aktivitesinin gövdede kökten daha düşük olduğunu göstermiştir (Tablo 12).

Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi belirlenmesi

Verilerin varyans analizi sonuçları, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının *Askorbat peroksidaz* enziminin gövde ve kökteki aktivitesi üzerindeki etkisinin %1 olasılık düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir (Tablo 13). Veri ortalamalarını karşılaştırmanın sonuçlarına dayanarak, horoz ibiği hava gövde kısımlarında, en düşük *Askorbat peroksidaz* enzim aktivitesi, dakikada proteinin miligramı başına ortalama 0.55 enzim ünitesi ile kontrol tedavisi ile ilgiliydi. 75 ppm 2,4 diklorofenol kullanımının da bu tedavi ile ortak istatistiksel grupta yer aldığı görüldü. Diğer uygulama seviyeleri, en yüksek *Askorbat peroksidaz* enzim aktivitesine sahipti. (Tablo 13).

Bu bitkinin kökünde, en yüksek *Askorbat peroksidaz* aktivitesi, dakikada proteinin miligramı başına ortalama 81.26 enzim birimi ile en yüksek 2,4 diklorofenol seviyesinde kaydedildi. En düşük ortalama ise kontrol işleminde ve 75 ppm 2,4 diklorofenol kullanımında gözlemlendi (sırasıyla ortalama 34.22 ve 37.02 enzim birimi/mg protein/dakika) (Tablo 13). İki bitki organı arasındaki karşılaştırmanın sonuçları, horoz ibiği bitkisinin kökündeki *Askorbat peroksidaz* enziminin aktivite seviyesinin, gövde kısmından çok daha yüksek olduğunu göstermiştir (Tablo 13).

Glutatyon peroksidaz (GPX) enzim aktivitesi belirlenmesi

Horoz ibiği bitkisinin verilerinin varyans analizi sonuçlarına göre, farklı konsantrasyonlarda 2,4 diklorofenolün bitkinin gövde ve kökündeki glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi düzeyine etkisi %1 olasılık düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 13). Ortalama verileri karşılaştırmanın sonuçları, bitki yetiştirme ortamındaki 2,4 diklorofenol konsantrasyonundaki artışın, horoz ibiği bitkisinin gövde ve kökünde glutatyon peroksidaz enziminin aktivitesinde bir artışa yol açtığını göstermiştir. Böylece bu enzimin hava kısımlarındaki en yüksek aktivitesi 125, 150, 175, 200, 225, 250 ve 275 ppm konsantrasyonları ile ilgilidir ve en düşük aktivite, dakikada miligram protein başına ortalama 1.09 enzim birimi ile gövde kısmında gözlemlendi. Bu

enzimin en yüksek aktivitesi, , horoz ibiği bitkisinin kök organında 250 ve 275 ppm (sırasıyla, ortalama 23.62 ve 21.52 enzim birimi/dakikada protein) konsantrasyonları ile ilişkilirdi ve en düşük aktivite kontrolde idi. ve 75 ppm muamelelerinde, dakikada protein miligramı başına enzim birimleri ortalama 16.82 ve 15.98 olarak kaydedilmiştir (Tablo 13). *Askorbat peroksidaz* gibi glutatyon peroksidaz enziminin kök organdaki aktivite düzeyi sürgün organına göre çok daha yüksek bir ortalama sahipti (Tablo 13).

Glutatyon S-transferaz (GST) enzim aktivitesi belirlenmesi

Verilerin varyans analizi sonuçları, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının horoz ibiği bitkisinin kökündeki glutatyon S-transferaz enziminin aktivitesi üzerindeki etkisinin %1 düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir ancak hava organlarında önemli değildi (Tablo 13). Ortalama veri karşılaştırma sonuçlarına göre, büyüme ortamındaki 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun artmasıyla glutatyon S-transferaz enziminin aktivitesinde bir artış gözlemlendi. Böylece bu enzimin kök organdaki en yüksek ortalama aktivitesi 250 ve 275 ppm (sırasıyla ortalama 1495.4 ve 1540.0 enzim birimi/dakikada protein miligramı ile) ile ilgilidir bunun yanı sıra 175, 200 ve 225 ppm konsantrasyonları da en yüksek ortalamalara sahip ortak istatistiksel grupta yer aldı en düşük glutatyon S-transferaz aktivitesi seviyesi, dakikada protein miligramı başına ortalama 709.9 enzim birimi ile kontrol uygulamada gözlemlendi (Tablo 13). gövde kısmındanda durumunda, glutatyon S-transferaz enzim aktivitesinin seviyesi, dakikada proteinin miligramı başına 608.2 ila 1338.6 enzim birimi arasında değişmektedir kontrol muamelesinde gözlenen ve sırasıyla 275 ppm 2,4 diklorofenol seviyesi (Tablo 13). bu enzimin iki bitki kısmındandaki aktivite seviyesinin karşılaştırılması sonuçları, kök kısmındandaki glutatyon S-transferazın aktivite seviyesinin, gövde kısmındanda kıyasla tüm 2,4 diklorofenol seviyelerinde daha yüksek bir ortalama sahipti olduğunu göstermiştir (Tablo 13).

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi belirlenmesi

Verilerin varyans analizi sonuçları gösterdi ve 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının etkisi altında horoz ibiği bitkisinin iki gövde kısmı ve köklerindeki süperoksit dismutaz enzim aktivitesi miktarının sırasıyla %1 ve %5 olasılık düzeyinde önemli bir farklılığa sahip olduğu görülmüştür (Tablo 13). Ortalama veri karşılaştırma sonuçlarına göre, en yüksek süperoksit dismutaz enzim aktivitesi, miligram protein başına ortalama 56.62 enzim birimi ile 250 ppm konsantrasyonu ile ilgilidir ve diğer uygulama seviyeleri, bu enzimin gövde kısmında en düşük aktivitesine sahipti (Tablo 8). Kök kısmında farklı sonuçlar elde edilmiş, böylece en yüksek aktivite miligram protein başına ortalama 83.4 enzim ünitesi ile 275 ppm konsantrasyonunda gözlenmiştir ve 250, 225, 200 ve 175 ppm konsantrasyonlarının da en iyi uygulama ile ortak istatistiksel grupta olduğu başka bir deyişle, kök kısmındaki süperoksit dismutaz enziminin en yüksek ortalama aktivitesine sahiplerdi. Süperoksit dismutazın en düşük aktivitesi, miligram protein başına ortalama 63.36 enzim ünitesi ile kontrol muamelesinde horoz ibiği kökünde de gözlemlendi (Tablo 13). Tüm 2,4 diklorofenol seviyelerinde, süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin miktarı, kök kısmında gövde kısmında daha yüksekti (Tablo 13).

Hidrojen peroksit içeriği (H₂O₂) belirlenmesi

Verilerin varyans analizi sonuçları, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının horoz ibiği bitkisinin toprak üstü kısımlarındaki ve köklerindeki hidrojen peroksit içeriği üzerindeki etkisinin %1 olasılık düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir (Tablo 14).

Ortalama karşılaştırma verileri, 2,4 diklorofenol konsantrasyonundaki artışın, her iki bitki kısmında da hidrojen peroksit içeriğinde önemli bir artışa yol açtığını, böylece gövde kısmındaki en yüksek hidrojen peroksit içeriğinin 275 konsantrasyona karşılık geldiğini gösterdi. taze ağırlığın gramı başına ppm (1.82 mM) ve kökte 250 ppm (1.37 mmol/g taze ağırlık) konsantrasyonu ile ilişkiliydi. Kontrol uygulamasında en düşük hidrojen peroksit içeriği uygulama ve kökte gözlemlendi (sırasıyla ortalama 1.02 ve 0.62 mmol/g taze ağırlıkla) (Tablo 14). 2,4 diklorofenolün tüm konsantrasyonlarında hidrojen peroksit miktarı köklerin toprak üstü kısımlarında çok daha yüksekti (Tablo 14).

Süperoksit içeriği (O₂⁻) belirlenmesi

Verilerin varyans analizi sonuçları, 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun horoz ibiği bitkisinin gövde ve kökündeki süperoksit içeriği üzerindeki etkisinin %1 olasılık düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir (Tablo 14). Sonuçlara göre, 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun arttırılması, her iki bitki kısmında süperoksit içeriğinde önemli bir artışa yol açmıştır. gövde kısımlarındaki en yüksek süperoksit içeriği 225, 250 ve 275 ppm (sırasıyla ortalama 97.26, 97.26 ve 96.95 nmol/g taze ağırlık) konsantrasyonlarıyla ilgilidir ve bu bileşiğin en düşük içeriği, gövde kısımlarında 0 ve 75 ppm konsantrasyonda (sırasıyla taze ağırlığın gramı başına 87.5 ve 88.72 nmol) gözlemlendi (Tablo 14).

horoz ibiği kök gövdenda, 250 ppm'lik bir konsantrasyon kullanılması, en yüksek ortalama süperoksitin (84.45 nmol/g taze ağırlık) oluşturulmasına yol açmıştır ve 225 ve 275 ppm'lik konsantrasyonlar da bu muamele ile ortak istatistiksel grupta en yüksek ortalamaya sahipti. Kökün en düşük süperoksit içeriği, kontrol uygulamalarının hava kısmına benzer şekilde 75 ppm'dir (sırasıyla ortalama 73.47 ve 74.08 nanomol/gram taze ağırlık ile) (Tablo 8). İki bitki organındaki süperoksit miktarının karşılaştırılması sonuçları, horoz ibiği bitkisinin toprak üstü kısımlarındaki süperoksit miktarının tüm 2,4 diklorofenol konsantrasyonlarında kök ortalamasından daha yüksek olduğunu göstermiştir (Tablo 14).

Bitkinin bünyesine geçen kirleticinin (2,4-DKF) absorpsiyon oranının belirlenmesi

Horoz ibiği bitkisinin farklı organlarında 2,4 diklorofenolün absorpsiyonu ile ilgili verilerin varyans analizinin sonuçları, bu bitkinin yapraklarında saptanabilir bir 2,4 diklorofenol absorpsiyonu olmadığını göstermiştir. Bu nedenle, varyans analizi tablosunun sonuçlarına göre, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının etkisi altında horoz ibiği bitkisinin gövde ve kök organlarında 2,4 diklorofenol absorpsiyon miktarı, olasılık düzeyinde önemli bir farklılığa sahipti. %1 oranında (Tablo 14). Ortalama veri karşılaştırma sonuçlarına göre, 2,4 diklorofenol

konsantrasyonundaki artış, horoz ibiği bitkisinin gövde ve kök organlarında bu bileşiğin emiliminde bir artışa yol açmıştır böylece bu bileşiğin hem gövde hem de kök organlarındaki en yüksek ortalaması, ortalama 156.21 ve 759.12 ng/ml ile en yüksek konsantrasyonla (275 ppm) ilişkilendirilmiştir. Saptaki en düşük absorpsiyon, ortalama 17.05 ng/ml ile en düşük 2,4 diklorofenol (75 ppm) konsantrasyonu ve kök organda 75 ve 100 ppm (sırasıyla ortalama 249.2) konsantrasyonlara karşılık gelir. ve 271.2 ng/ml) (Tablo 14). 2,4 diklorofenolün tüm uygulaması seviyelerinde, bu bileşiğin kök kısımlarındaki absorpsiyon miktarı, gövdedekinden çok daha yüksekti (Tablo 14).

Tablo 10. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Amaranthus retroflexus*'un Morfolojik Özelliklerine Ait Değişim

2,4-DKF (ppm)	gövde (cm/bitki)	Kök (cm/bitki)	Bitki boyu (cm/bitki)	yaş ağırlığı (gr/plant)	kuru ağırlığı (gr/plant)
Kontrol	13±1.323 ab	11±1	24±1.258 a	4.45±1.025	1.71±0.165 a
75	14±2.179 a	10.83±2.517	24.83±1.04 a	3.85±0.882	1.48±0.4 ab
100	13±1.803 ab	11±1.5	24±2.784 a	3.78±0.74	1.64±0.211 a
125	13±0.866 ab	12.5±1.323	25.5±1 a	3.74±0.749	1.66±0.327 a
150	12.67±1.528 abc	10.5±1.323	23.17±2.255 ab	3.71±0.385	1.51±0.243 ab
175	12.67±1.155 abc	10.5±1	23.17±2.291 ab	3.64±0.295	1.38±0.172 abc
200	11.83±1.04 a-d	10.17±1.258	22±3.464 ab	3.41±0.863	1.3±0.325 abc
225	11.17±1.756 bcd	9.33±1.04	20.5±4.163 b	3.17±0.425	1.17±0.187 bc
250	10.33±1.041 cd	9.33±0.577	19.66±1.732 b	3.18±0.293	1.13±0.107 bc
275	9.67±0.577 d	9±2.598	18.67±0.577 b	2.97±0.845	1±0.166 c
LSD = 0.05	2.39	2.62 (NS)	3.97	2.19	0.42

Her sütunda aynı harften sonra gelen ortalamalar (±SD) %5 düzeyinde LSD testine göre önemli ölçüde farklı değildir.

NS: önemsiz

Tablo 11. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Amaranthus retroflexus*'un Fotosentetik Pigmentleri ne Ait Değişim

2,4-DKF (ppm)	Klorofil a (µg/g FW)	Klorofil b (µg/g FW)	Toplam Klorofil (µg/g FW)	Klorofil a/b oranı	karotenoidler (µg/g FW)
Kontrol	8.41±0.13	2.79±0.19	10.29±0.6	2.91±0.02ab	4.82±0.33
75	8.35±0.35	2.7±0.09	11.05±0.88	3.09±0.13a	4.86±0.21
100	8.76±0.6	2.87±0.16	11.63±0.44	3.05±0.03a	4.67±0.07
125	8.16±0.57	2.68±0.04	10.84±0.7	3.04±0.18a	4.57±0.33
150	7.75±0.28	2.65±0.17	10.4±0.36	2.92±0.04ab	4.43±0.36
175	7.56±0.73	2.53±0.08	10.09±0.76	2.98±0.04ab	4.33±0.16
200	7.73±0.46	2.56±0.14	10.29±0.96	3.01±0.03a	4.19±0.25
225	7.09±0.74	2.38±0.72	9.47±3.02	2.97±0.24ab	3.84±0.41
250	6.8±2.31	2.36±0.23	9.16±0.85	2.88±0.04b	3.97±1.27
275	6.8±0.66	2.25±0.19	9.05±0.17	3.02±0.02a	3.74±0.37
LSD = 0.05	1.51 (NS)	0.46 (NS)	1.96 (NS)	0.18	0.83 (NS)

Her sütunda aynı harften sonra gelen ortalamalar (±SD) LSD testine göre %5 düzeyinde anlamlı farklılık göstermemektedir.

NS: önemsiz

Tablo 12. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Amaranthus retroflexus*'un Fizyolojik ve Biyokimyasal Özelliklerine Ait Değişim

2,4-DKF (ppm)	MDA- gövde (nM/ml)	MDA- Kök (nM/ml)	Protein- gövde (%)	Protein - Kök (%)	CAT- gövde (U/mg protein.min)	CAT- Kök (U/mg protein.min)
Control	0.56±0.01 g	0.18±0.004 e	20.99±0.554 ab	6.78±0.401 a	0.22±0.03 d	0.78±0.052 e
75	0.69±0.01 f	0.18±0.008 e	22.31±1.38 a	5.87±0.129 b	0.27±0.045 cd	0.86±0.082 de
100	0.71±0.016 ef	0.19±0.007 e	20.68±0.358 ab	5.56±0.307 bc	0.27±0.008 cd	0.92±0.057 cd
125	0.73±0.029 def	0.22±0.007 d	20.54±1.161 abc	5.44±0.07 c	0.28±0.044 cd	0.94±0.05 cd
150	0.73±0.02 de	0.23±0.004 cd	19.45±0.353 bcd	5.22±0.075 cd	0.29±0.052 bcd	0.96±0.065 bcd
175	0.74±0.029 d	0.25±0.022 c	18.58±1.013 cde	5.16±0.26 cde	0.29±0.095 bcd	0.98±0.067 bc
200	0.8±0.02 c	0.28±0.013 b	18.29±0.469 def	4.99±0.215 de	0.34±0.045 bc	1.02±0.04 bc
225	0.83±0.023 bc	0.28±0.004 b	17.55±0.762 def	4.87±0.319 de	0.32±0.039 bc	1.01±0.031 bc
250	0.84±0.016 b	0.27±0.004 b	16.89±2.187 ef	4.78±0.146 ef	0.39±0.041 ab	1.06±0.058 b
275	1.13±0.026 a	0.31±0.017 a	16.43±1.736 f	4.39±0.228 f	0.48±0.107 a	1.24±0.124 a
LSD = 0.05	0.03	0.08	1.94	0.4	0.09	0.11

Her sütunda aynı harften sonra gelen ortalamalar (±SD) %5 düzeyinde LSD testine göre önemli ölçüde farklı değildir.

Tablo 13. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Amaranthus retroflexus*'un Fizyolojik ve Biyokimyasal

2,4-DKF (ppm)	APX-- gövde (U/mg protein.min)	APX- Kök (U/mg protein.min)	GPX- gövde (U/mg protein.min)	GPX- Kök (U/mg protein.min)	GST- gövde (U/mg protein.min)	GST- Kök (U/mg protein.min)	SOD- gövde (U/mg protein)	SOD- Kök (U/mg protein)
Control	0.55±0.119 c	34.22±0.884 f	1.09±0.172 d	16.82±0.58 d	608.2±127.36	709.96±42.7 f	15±11.82 b	63.36±3.8 d
75	0.81±0.08 bc	37.02±4.489 f	1.31±0.17 cd	15.98±1.89d	751.39±133.2	820.18±180.2 ef	15.53±2.2 b	68.49±8.9 cd
100	1.58±0.227 abc	43.09±3.891 ef	1.52±0.233 bc	17.57±1.35cd	758.06±64.451	1026.33±91.4 de	16.22±4.03b	70.2±1.0 bcd
125	1.69±0.355 ab	50.83±20.49 de	1.69±0.181 abc	17.62±1.41cd	779.57±19.192	1114.87±291.0cde	18.42±1.2 b	71.3±3.7 bcd
150	1.9±0.155 a	55.04±7.437 cde	1.68±0.127 abc	19.08±1.0 c	791.24±389.6	1164.42±92.7 bcd	17.67±1.7 b	70.51±6.7bcd
175	1.96±0.35 a	56.49±1.304 bcd	1.74±0.212 ab	19.56±0.25bc	819.99±227.1	1236.2±191.0 a-d	18.16±1.0 b	73.6±10.5a-d
200	2.47±0.362 a	57.93±3.389 bcd	1.75±0.41 ab	21.52±1.6 b	858.65±72.675	1367.3±300.2 abc	20.91±4.0 b	77.4±4.75abc
225	2.61±0.518 a	64.3±0.884 bc	1.91±0.111 ab	21.18±1.54 b	1055.31±618.0	1463.74±194.1 ab	19.91±3.9 b	79.6±7.0 ab
250	2.65±1.127 a	68.15±3.389 b	1.92±0.267 a	23.62±0.7 a	1078.64±114.9	1495.46±52.8 a	56.62±8.3 a	79.76±8.3 ab
275	2.26±1.438 a	81.26±5.54 a	2.01±0.271 a	21.52±0.9 ab	1338.68±272.1	1540.07±123.8 a	21.96±3.0 b	83.4±2.936 a
LSD = 0.05	1.08	12.82	0.43	2.09	455.8 (NS)	303.9	8.98	11.03

Her sütunda aynı harften sonra gelen ortalamalar (±SD) LSD testine göre %5 düzeyinde anlamlı farklılık göstermemektedir.

NS: önemsiz

Tablo 14. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Amaranthus retroflexus*'un Fizyolojik ve Biyokimyasal

2,4-DKF (ppm)	H ₂ O ₂ - gövde (mM/g FW)	H ₂ O ₂ - Kök (mM/g FW)	O ₂ ⁻ - gövde (nM/g FW)	O ₂ ⁻ - Kök (nM/g FW)	2,4-D- Yaprak (ng/ml)	2,4-D-Stem (ng/ml)	2,4-D- Kök (ng/ml)
Control	1.02±0.023 f	0.62±0.01 f	87.5±3.698 e	73.47±0.915 d	ND	ND	ND
75	1.04±0.023 ef	0.77±0.013 e	88.72±1.905 e	74.08±2.303 d	ND	17.05±15.4 e	249.22±1.598 f
100	1.06±0.04 def	0.78±0.016 de	89.63±0.528 de	77.43±1.057 c	ND	ND	271.29±3.025 f
125	1.07±0.036 def	0.76±0.121 e	92.07±1.905 cd	78.65±0.53 c	ND	31.51±4.0 de	400.8±7.664 e
150	1.11±0.181 def	0.81±0.051 de	93.29±2.303 bc	78.65±0.528 c	ND	42.2±2.877 cd	416.61±2.708 e
175	1.2±0.136 d	0.89±0.034 cd	95.12±1.398 abc	82.31±1.398 b	ND	53.92±13.22 c	523.49±52.77 d
200	1.17±0.036 de	0.95±0.09 c	96.34±0 ab	82.31±0.528 b	ND	0.82±1.394 fg	532.71±10.199 cd
225	1.38±0.043 c	0.95±0.055 c	97.26±1.58 a	82.62±0.915 ab	ND	97.97±5.351 b	565.07±21.277 c
250	1.6±0.052 b	1.37±0.088 a	97.26±0 a	84.45±0.915 a	ND	105.12±18.9 b	619.38±19.5 b
275	1.82±0.11 a	1.18±0.053 b	96.95±2.113 a	82.92±1.905 ab	ND	156.21±9.7 a	759.12±44.594 a
LSD = 0.05	0.14	0.1	3.2	2.11	-	16.37	40.9

Her sütunda aynı harften sonra gelen ortalamalar (±SD) %5 düzeyinde LSD testine göre önemli ölçüde farklı değildir

ND: algılanmadı

***Sinapis arvensis* Bitkisine Ait Bulgular**

Gövdelerin ve köklerin büyüme parametreleri

Bulgulara göre, 2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonlarının gövde uzunluğu, kök uzunluğu, bitki uzunluğu, bitki ağırlığı ve kuru madde üzerindeki etkisi istatistik olarak önemsiz ($P>0.05$) bulunmuştur. Hemen hemen tüm 2,4-DKF uygulamaları yukarıda verilen parametreleri kontrole göre genelde düşürmüştür. Sadece 2,4-DKF uygulamasının fide taze ağırlığı üzerindeki etkisi %5 olasılık düzeyinde önemli ($P<0.05$) olduğu görülmüştür (Tablo 15). Tablodan da görülebildiği gibi 2,4-DKF uygulamalarının hemen hepsi konsantrasyon artışına bağlı olarak kontrole göre taze ağırlığı genelde düşürmüştür (Tablo 15). Elde edilen ortalamalara göre, 75 ppm 2,4-DKF kullanımı, kontrole kıyasla kök ve tüm bitkinin ortalama uzunluğunda artışa neden olmuştur. Başka bir deyişle, bu konsantrasyonun kullanımı, en yüksek ortalama kök uzunluğu ve bütün bitki özelliklerini göstermiştir. Öte yandan bitki yetiştirme ortamındaki 2,4-DKF konsantrasyonunun artmasıyla birlikte gövde, kök ve tüm bitkinin ortalama uzunluğunda bir azalma gözlenmiştir. Böylece en düşük ortalama gövde uzunluğu (8,67 cm), kök uzunluğu (10,83 cm) ve bitki uzunluğu (19,5 cm) bu bileşiğin en yüksek konsantrasyonunda (275 ppm) gözlenmiştir.

Bitkinin yaş ağırlığı ile aynı eğilim, bitkinin kuru ağırlığı özelliğinde de gözlenmiştir ancak uygulama düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu. Kontrolde en yüksek bitki kuru ağırlığına (2,98 gr/bitki) ve 250 ppm konsantrasyonu en düşük bitki kuru ağırlığına (2,06 g/bitki) sahipti (Tablo 4).

Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler

Fotosentetik pigmentlerin (Klorofil a-b-toplam) içeriğinin belirlenmesi

2,4-DKF uygulamalarının fotosentetik pigment içeriği üzerine etkisi Tablo 4.2'de sunulmuştur. Tablo incelendiğinde genel olarak 2,4-DKF uygulamalarının klorofil-a (Kla), klorofil-b (Klb) ve toplam klorofil (Tkl) içeriğini kontrole kıyasla düşük konsantrasyonlarda önemsiz ($P>0.05$) ancak konsantrasyon artışına bağlı olarak özellikle 250 ve 275 ppm 2,4-DKF uygulamalarında kontrole göre anlamlı ($P<0.05$) seviyede düşürmüştür (Tablo 16). Örneğin, kontrolde Kla ve Klb sırasıyla 11,71 ve 8,02 mg olurken, 275 ppm 2,4-DKF uygulamasında kök ve gövdede sırasıyla 6,77 ve 1,78 mg olduğu görülmektedir. Tabloda ayrıca 2,4-DKF uygulamasının Kla'dan ziyade Klb üzerinde daha güçlü inhibisyona neden olduğu görülmektedir. Bu durum Kla/Klb oranları incelendiğinde daha açık görülebilmektedir (Tablo 4.2). Diğer bir fotosentetik pigment olan karotenoid içeriği incelendiğinde 2,4-DKF uygulamalarının karotenoid içeriğini özellikle 200 ppm'e kadar artırdığını ve bu konsantrasyondan sonra genel olarak düşürdüğü görülmektedir (Tablo 4). En yüksek karotenoid içeriği 150 ppm 2,4-DKF uygulamasında belirlenmiştir. Örneğin kontroldeki karotenoid içeriği 3,92 mg olurken, 150 ve 200 ppm 2,4-DKF uygulamalarında sırasıyla 5,44 ve 4,36 mg olduğu görülmektedir. 2,4-DKF uygulamalarının fotosentetik pigmentler üzerine etkileri genel olarak değerlendirildiğinde, 2,4-DKF'nin özellikle yüksek dozları klorofil içeriğini

genelde düşürürken, buna karşılık karotenoid içeriğini artırdığı ileri sürülebilir (Tablo 16).

Malondialdehit (MDA) içeriği belirlenmesi

Verilerin varyans analizi sonuçları, 2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonlarının gövde ve köklerdeki MDA içeriği üzerindeki etkisinin %5 olasılık düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir (Tablo 17). Tablo incelendiğinde, MDA içeriği, hem kök hem de gövdede 2,4-DKF uygulamalarının artan dozlarına paralel olarak artmıştır. Böylece en yüksek gövde MDA içeriği ortalamasının 275 ppm (0.45 nmol/mL) ile ilişkili olduğu ve en yüksek ortalama sahip olduğu belirlendi. Kökte, 250 ve 275 ppm'lik konsantrasyonların kullanımı, en yüksek ortalama MDA (0.23 ve 0.21 nmol/mL) ile sonuçlandı. İki bitki organı arasındaki karşılaştırmada, tüm 2,4-DKF konsantrasyonlarında, gövde kısmındaki malondialdehit içeriği, kök kısmına kıyasla daha yüksek bir ortalama (iki kattan fazla) sahipti (Tablo 17). *S. arvensis* bitkisinde MDA içeriği genel olarak değerlendirildiğinde, MDA içeriği 2,4-DKF uygulamalarıyla bitkinin kök ve gövdelerinde arttığı görülmüştür.

Protein içerikli belirlenmesi

S. arvensis bitkisinde protein içeriğine ait bulgular Tablo 5'te sunulmuştur. Elde edilen verilere göre 2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonlarının gövde ve kök protein içeriği üzerindeki etkisi $P < 0.05$ önemlilik seviyesinde anlamlıydı. Tablo 5 incelendiğinde kontrole kıyasla 2,4-DKF uygulamalarının artan dozlarına bağlı olarak kök ve gövdede çözünebilir protein içeriğinin önemli oranda düştüğü görülmektedir. Örneğin kontrol bitkilerinin kök ve gövdesinde protein içeriği sırasıyla 14.05 ve 3.92 mg olarak belirlenirken, 275 ppm 2,4-KF'nin 275 ppm dozunda aynı organlarda sırasıyla 12.3 ve 1.72 mg olarak belirlenmiştir. Bitkilerin farklı kısımlarındaki protein içeriği karşılaştırıldığında, sonuçlar, toprak üstü kısımlardaki protein içeriğinin kök kısımlara kıyasla daha yüksek bir ortalama sahip olduğunu göstermiştir. *S. arvensis* bitkisinde protein içeriği genel olarak değerlendirildiğinde, protein içeriği 2,4-DKF uygulamalarıyla bitkinin kök ve gövdelerinde arttığı görülmüştür.

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi bulguları

2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi altındaki *S. arvensis* bitkisinin SOD enzim aktivitesi, bitkinin kök ve gövdesinde kontrole kıyasla genel olarak arttığı görülmektedir (Tablo 17). Ancak artışların kökte istatistik olarak daha anlamlı olduğu ve gövdede ise anlamlı ($p > 0.05$) olmadığı görülmüştür (Tablo 17). SOD aktivitesindeki artışların kök ve gövdede 2,4-DKF konsantrasyonları artışıyla paralel olması ise aktivitedeki artışın konsantrasyona bağımlı olduğuna işaret etmektedir. Örneğin gövdede kontrol bitkilerinde aktivite 29.13 U/mg olarak belirlenirken, aynı organda 75 ve 275 ppm 2,4-DKF dozlarında aktivite sırasıyla 31.0 ve 41.18 U/mg olarak ölçülmüştür. Aynı bitkinin köklerinde ise kontrol bitkilerinde aktivite 26.84 U/mg olarak belirlenirken, 75 ve 275 ppm 2,4-DKF dozlarında aktivite sırasıyla 41.18 ve 55.44 U/mg olarak ölçülmüştür. *S. arvensis* bitkisinde SOD aktivitesi genel olarak değerlendirildiğinde, aktivite 2,4-DKF uygulamalarıyla bitkinin kök ve gövdelerinde

arttığı görülmüştür. Ayrıca SOD aktivitesindeki artışların özellikle köklerde daha anlamlı olduğu belirlenmiştir (Tablo 17).

Katalaz (CAT) aktivitesine ait bulgular

Varyans analizi sonuçları, 2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonlarının gövde ve kökteki CAT enziminin aktivitesi üzerindeki etkisinin sırasıyla %5 ve %1 olasılık seviyelerinde önemli olduğunu göstermiştir (Tablo 17). Ortalama veriler karşılaştırıldığında, gövde ve kökte kontrol uygulamasına ilişkin CAT aktivitesi sırasıyla 0.99 ve 0.14 U/mg oldu. Her iki bitki kısmında da 2,4-DKF konsantrasyonunun arttırılması, bu enzimin ortalama aktivitesinde önemli bir artışa yol açmıştır (Tablo 17). İlave olarak, gövde kısımlarındaki en yüksek CAT aktivitesi, 225 ve 250 ppm 2,4-DKF dozlarında sırasıyla 1.39 ve 1.41 U/mg olarak belirlenmiştir., Kökte ise 2,4-DKF uygulamalarının CAT aktivitesi üzerindeki artırıcı etkisi istatistik olarak daha anlamlıydı ve aktivitedeki artış artan 2,4-DKF dozları artışına paralel oldu (Tablo 17). CAT enziminin en yüksek aktivitesi, 1.08 U/mg olarak 275 ppm konsantrasyonunda belirlendi ve bu artış kontrole göre 87'lik bir atışı. *S. arvensis* bitkisinde CAT aktivitesi genel olarak değerlendirildiğinde, aktivite 2,4-DKF uygulamalarıyla bitkinin kök ve gövdelerinde arttığı görülmüştür. Ayrıca CAT aktivitesindeki artışların özellikle köklerde daha anlamlı olduğu belirlenmiştir (Tablo 17).

Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi bulguları

2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi altında APX enzim aktivitesi düzeyi, gövde ve köklerde %1 olasılık düzeyinde önemli bir farklılığa sahipti (Tablo 18). Ortalama verilerin karşılaştırılmasında sonuçlar, 2,4-DKF konsantrasyonundaki artışla eş zamanlı olarak APX enzim aktivitesinde bir artış olduğunu gösterdi. Tablo 5 incelendiğinde kontrole kıyasla 2,4-DKF uygulamalarının artan dozlarına bağlı olarak kök ve gövdede APX aktivitesinin önemli oranda arttığı görülmektedir. Örneğin kontrol bitkilerinin kök ve gövdesinde APX aktivitesi 14.18 ve 1.45 U/mg olarak belirlenirken, 2,4-DKF'nin 275 ppm dozunda aynı organlarda sırasıyla 32.43 ve 24.87 U/mg olarak belirlenmiştir. *S. arvensis* bitkisinde APX aktivitesi genel olarak değerlendirildiğinde, aktivite 2,4-DKF uygulamalarıyla bitkinin kök ve gövdelerinde önemli seviyede arttığı görülmüştür. Ayrıca APX aktivitesindeki artışların kontrole kıyaslandığında özellikle köklerde gövdeye oranla dahayüksek arttığı belirlenmiştir (Tablo 18).

Glutasyon peroksidaz (GPX) aktivitesi bulguları

2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi altındaki *S. arvensis* bitkisinin GPX enzim aktivitesi, bitkinin kök ve gövdesinde kontrole kıyasla genel olarak arttığı görülmektedir (Tablo 18). Ancak artışların kontrole kıyasla kökte istatistik olarak daha anlamlı olduğu ve gövdede ise anlamlı ($P>0.05$) olmadığı görülmüştür (Tablo 18). İlave olarak GPX aktivitesindeki artışların kök ve gövdede 2,4-DKF konsantrasyonları artışıyla 175 ppm'e kadar doğru orantılı arttığı ve daha sonra 275 ppm'e kadar bir düşme eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. Örneğin gövdede kontrol bitkilerinde aktivite

7.02 U/mg olarak belirlenirken, aynı organda 75, 175 ve 275 ppm 2,4-DKF dozlarında aktivite sırasıyla 9.48, 17.76 ve 11.27 U/mg olarak ölçülmüştür. Aynı bitkinin köklerinde ise kontrol bitkilerinde aktivite 124.6 U/mg olarak belirlenirken, 75, 175 ve 275 ppm 2,4-DKF dozlarında aktivite sırasıyla 158.14, 179.4 ve 212.7 U/mg olarak ölçülmüştür. *S. arvensis* bitkisinde GPX aktivitesi genel olarak değerlendirildiğinde, aktivite 2,4-DKF uygulamalarıyla bitkinin kök ve gövdelerinde genel olarak arttığı görülmüştür. Ayrıca GPX aktivitesindeki artışların özellikle köklerde daha yüksek ve kontrole göre daha anlamlı artışlar yaptığı belirlenmiştir (Tablo 18).

Glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi bulguları

2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi altındaki *S. arvensis* bitkisinde GST enzim aktivitesi, gövde ve köklerde kontrole göre kıyaslandığında önemli ($P<0.05$) oranda etkilendiği belirlenmiştir (Tablo 5). Elde edilen verilerin ortalamalarına göre, GST aktivitesi 2,4-DKF uygulamalarıyla artmıştır. Tablo 5 incelendiğinde ayrıca kontrole kıyasla 2,4-DKF uygulamalarının artan dozlarına bağlı olarak kök ve gövdede GST aktivitesinin önemli oranda arttığı da görülmektedir. Örneğin kontrol bitkilerinin kök ve gövdesinde GST aktivitesi sırasıyla 697.5 ve 1430 U/mg olarak belirlenirken, 2,4-DKF'nin 275 ppm dozunda aynı organlarda sırasıyla 1905.3 ve 2457.2 U/mg olarak belirlenmiştir. *S. arvensis* bitkisinde GST aktivitesi genel olarak değerlendirildiğinde, GST aktivitesi 2,4-DKF uygulamalarıyla bitkinin kök ve gövdelerinde önemli seviyede arttığı görülmüştür. Ayrıca APX aktivitesindeki artışların kontrole kıyaslandığında özellikle gövdede köke oranla daha yüksek oranda olduğu belirlenmiştir (Tablo 18).

Hidrojen peroksit (H_2O_2) içeriği bulguları

Çalışmamızda 2,4-DKF uygulamalarının H_2O_2 içeriği üzerine etkisi Tablo 5'de sunulmuştur. Tablo incelendiğinde genel olarak 2,4-DKF uygulamaları sonucunda H_2O_2 içeriği kök ve gövdede kontrole kıyasla düşük konsantrasyonlarda (125 ppm'e kadar) önemsiz ($P>0.05$), ancak 125 ppm'den sonra konsantrasyon artışına bağlı olarak kontrole göre anlamlı ($P<0.05$) seviyede artmıştır (Tablo 19). Örneğin, kontrolün kök ve gövdesinde H_2O_2 içeriği sırasıyla 0,43 ve 0,32 mM olurken, 125 ppm 2,4-DKF uygulamasında kök ve gövdede sırasıyla 0.45 ve 0.33 mM olduğu görülmektedir. Aynı organlarda 275 ppm 2,4-DKF uygulamasında ise sırasıyla 0,60 ve 0,40 mM olarak belirlenmiştir. 2,4-DKF uygulamalarının H_2O_2 içeriği üzerine etkileri genel olarak değerlendirildiğinde, 2,4-DKF'nin özellikle yüksek dozlarında H_2O_2 içeriğinin anlamlı seviyede arttığı belirlenmiştir (Tablo 19). Ayrıca H_2O_2 içeriği artışlarının kontrole kıyaslandığında özellikle gövdede köke oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 19).

Süperoksit anyonu içeriği ($O_2^{\cdot-}$) içeriği bulguları

$O_2^{\cdot-}$ içeriği üzerine 2,4-DKF uygulamalarının etkisi Tablo 5'de sunulmuştur. Tablo incelendiğinde genel olarak 2,4-DKF uygulamaları sonucunda $O_2^{\cdot-}$ içeriği kök ve gövdede kontrole kıyasla genelde artmıştır. Ancak belirlenen artışların 225 ppm uygulamaya kadar önemsiz ($P>0.05$), 225 ppm'den sonra anlamlı ($P<0.05$) seviyede

olduğu belirlenmiştir (Tablo 4). Örneğin, kontrolün kök ve gövdesinde O_2^- içeriği sırasıyla 265 ve 62.18 mM olurken, 225 ppm 2,4-DKF uygulamasında kök ve gövdede sırasıyla 603 ve 86.9 nM olduğu görülmektedir. Aynı organlarda 275 ppm 2,4-DKF uygulamasında ise sırasıyla 926.5 ve 127.8 nM olarak belirlenmiştir. *S. arvensis* bitkisinde O_2^- içeriğindeki değişim genel olarak değerlendirildiğinde, 2,4-DKF'nin özellikle yüksek dozlarında O_2^- içeriği anlamlı seviyede arttığı belirlenmiştir. Ayrıca H_2O_2 içeriği artışların kontrolle kıyaslandığında özellikle gövdede köke oranla daha yüksek oranda olduğu belirlenmiştir (Tablo 19). Ayrıca H_2O_2 içeriği artışların kontrolle kıyaslandığında, özellikle gövdede daha yüksek oranda olduğu belirlenmiştir (Tablo 19).

Bitkinin bünyesine geçen kirleticinin (2,4-DKF) absorpsiyon oranının belirlenmesi

2,4 diklorofenolün ortalama absorpsiyonu yaprak, gövde ve kök organlarında ölçülmüştür ve varyans analizlerinin sonuçları, 2,4 diklorofenolün farklı konsantrasyonlarının bu bileşiğin gövde, yaprak ve kök organlarındaki absorpsiyon miktarı üzerindeki etkisinin %1 olasılık düzeyinde önemli bir farklılığa sahip olduğunu göstermiştir (Tablo 19). Ortalama veri karşılaştırma sonuçlarına göre, ortamdaki 2,4 diklorofenol konsantrasyonunun artmasıyla, bu bileşiğin her üç organda da emilimi ve içeriği arttı. Öyle ki yapraklarda, gövdelerde ve köklerde en yüksek 2,4 diklorofenol miktarı (sırasıyla 236.7, 3806.4 ve 9469.9 ng/ml ortalama ile) 275 ppm konsantrasyonu ile ilgilidir. Ve bu bileşiğin her üç organdaki en düşük ortalaması sırasıyla 56.6, 106.5 ve 2125.1 ng/ml olup, en düşük 2,4 diklorofenol (75 ppm) ortalamasına tekabül etmektedir. Bu bileşiğin kontrol işleminde (2,4 diklorofenol kullanılmadan) tespit edilmediğine dikkat edilmelidir (Tablo 19) Bu bileşiğin absorpsiyon miktarı açısından bitki organları arasında yapılan karşılaştırmada, büyük bir farkla en yüksek absorpsiyon kökte, gövdede ve tüm tedavi seviyelerinde en düşük miktar yaprakla ilgili olmuştur (Tablo 19).

Tablo 15. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Sinapis arvensis*'in Morfolojik Özelliklerinin Değişimi

2,4-DKF (ppm)	Gövde (cm/bitki)	Kök (cm/bitki)	Bitki boyu (cm/bitki)	Taze ağırlık (gr/bitki)	Kuru ağırlık (gr/bitki)
Kontrol	13.33±4.04	14.33±1.893	27.66±2.784	8.94±1.153 a	2.98±0.345
75	11.5±1.5	16.5±3.04	28±7.08	7.14±1.987 b	2.69±0.484
100	11±2	13±4.583	24±3.279	6.16±0.34 bc	2.76±0.095
125	11±1	12±1.803	23±6.11	6.18±0.44 bc	2.57±0.64
150	10.67±1.041	12.33±0.289	23±6.062	6.13±1.251 bc	2.54±0.423
175	10.17±2.566	11.83±4.537	22±0.289	6.02±0.325 bcd	2.43±0.678
200	9.67±2.93	11.33±3.253	21±6.062	5.56±0.296 bcd	2.39±0.38
225	9.67±1.528	11.33±1.528	21±3	5.55±0.988 bcd	2.33±0.316
250	9±0	11±1	20±6.265	5±0.774 cd	2.06±0.225

275	8.67±1.893	10.83±3.753	19.5±2.517	4.44±0.416 d	2.07±0.231
LSD = 0.05	3.64 (NS)	4.98 (NS)	8.24 (NS)	1.64	0.71 (NS)

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır. NS: Önemsiz

Tablo 16. ' . 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Sinapis arvensis* Fotosentetik Pigmentleri ne Ait Değişim

2,4-DKF (ppm)	Klorofil a (mg/gr FW)	Klorofil b (mg/gr FW)	Toplam Klorofil (mg/gr FW)	Klorofil a/b	Karotenoidler (mg/gr FW)
Kontrol	11.71±1.515 a	8.02±2.08 ab	19.73±3.59 a	1.46±0.18 b	3.92±0.49 bc
75	12.71±1.742 a	8.71±4.1 ab	21.42±0.51 a	1.45±0.11 b	3.99±0.34 bc
100	12.88±0.985 a	9.8±1.5 a	22.68±4.44 a	1.31±2.07 b	3.54±0.55 bc
125	12.69±1.397 a	9.31±2.26 ab	22±3.09 a	1.36±0.33 b	4.5±0.78 ab
150	12.12±1.132 a	8.1±1.85 ab	20.22±2.88 a	1.49±0.21 b	5.44±1.2 a
175	12.15±1.107 a	7.29±2.85 ab	19.44±3.4 ab	1.66±0.71 b	4.36±0.67 ab
200	11.97±0.784 a	6.86±1.9 ab	18.83±2.48 ab	1.74±0.11 b	4.4±0.82 ab
225	11.07±1.228 a	6.51±2.56 ab	17.58±3.64 ab	1.70±0.49 b	3.96±0.35 bc
250	7.06±1.337 b	5.4±3.62 bc	12.46±3.12 c	1.3±0.36 b	4.13±0.73 bc
275	6.77±0.43 b	1.78±0.09 c	8.55±3.89 c	3.80±0.22 a	3.05±0.5 c
LSD = 0.05	2.07	4.28	5.05	1.25	1.16

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.

Tablo 17. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Sinapis arvensis*'in Fizyolojik ve Biyokimyasal Özelliklerine Ait Değişim

2,4-DKF (ppm)	MDA- Gövde (nM/mL)	MDA- Kök (nM/mL)	Protein - gövde (mg/gr FW)	Protein - Kök (mg/gr FW)	CAT- gövde (U/mg protein)	CAT- Kök (U/mg protein)
Kontrol	0.29±0.004 f	0.13±0.016 e	14.05±0.491 abc	3.92±0.166 a	0.99±0.3 c	0.14±0.008 d
75	0.33±0.016 ef	0.12±0.004 e	14.21±0.21 ab	3.42±0.068 ab	1.05±0.044 bc	0.23±0.021 cd
100	0.34±0.01 def	0.14±0.004 de	14.33±0.289 a	3.35±0.47 b	1.09±0.166 bc	0.23±0.029 cd
125	0.36±0.004 cde	0.15±0.01 cd	14.03±0.231 abc	2.71±0.015 c	1.13±0.127 bc	0.23±0.018 cd
150	0.38±0.004 b-e	0.15±0.017 cd	13.38±0.603 b-e	2.04±0.104 de	1.12±0.105 bc	0.26±0.147 cd
175	0.39±0.065 bcd	0.16±0.01 c	13.9±0.258 a-d	2.4±0.077 cd	1.2±0.182 abc	0.29±0.014 c
200	0.41±0.06 abc	0.16±0.01 c	13.09±0.862 def	1.9±0.26 de	1.21±0.033 abc	0.29±0.014 c
225	0.42±0.004 ab	0.19±0.016 b	13.17±0.519 c-f	1.95±0.065 de	1.39±0.077 a	0.79±0.053 b
250	0.42±0.043 ab	0.23±0.01 a	12.98±0.626 ef	1.79±0.081 e	1.41±0.087 a	0.66±0.03 b
275	0.45±0.013 a	0.21±0.007 a	12.3±0.633 f	1.72±0.743 e	1.24±0.029 ab	1.08±0.21 a
LSD = 0.05	0.056	0.018	0.87	0.51	0.23	0.14

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.

Tablo 18. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Sinapis arvensis*'in Fizyolojik ve Biyokimyasal)

2,4-DKF (ppm)	APX- gövde (U/mg protein)	APX- Kök (U/mg protein)	GPX- gövde (U/mg protein)	GPX- Kök (U/mg protein)	GST- gövde (U/mg protein)	GST- Kök (U/mg protein)	SOD- gövde (U/mg protein)	SOD- Kök (U/mg protein)
Kontrol	14.18±3.665 d	1.45±0.501 d	7.02±0.331 e	124.62±9.124	697.55±69.82	1430.76±533.4	29.13±7.4	26.84±4.5 e
75	17.89±3.752 cd	1.54±0.167 d	9.48±2.05 d	158.14±10.5	733.4±59.839	1431.13±320.8	31.0±0.6	27.87±4.5 e
100	18.94±8.726 bcd	1.93±0.334 d	9.45±1.718 d	161.1±20.3	818.3±96.731	1600.1±416.78	31.49±3.2	30.98±6.8de
125	19.98±3.159 bcd	1.74±0.289 d	11.43±0.461 cd	170.45±7.8	863.4±40.61	1638.6±280.2	35.5±6.7	31.89±0.8de
150	20.9±3.74 bcd	5.4±0.334 cd	14.92±0.695 b	212.7±116.4	1019.45±580.2	1780.4±346.2	34.93±1.4	32.33±1.6cde
175	22.45±1.057 bc	3.18±0.765 cd	17.76±1.514 a	197.43±19.9	1099.3±389.1	1965.3±826.9	34.7±6.01	37.2±4.9 bcd
200	22.09±4.442 bc	6.94±7.012 cd	14.71±1.475 b	172.83±28.6	1250.5±678.9	2010.6±743.4	36.2±4.7	41.6±5.27 b
225	25.33±2.006 b	9.45±0.884 c	12.85±1.13 bc	170.34±8.2	1369.5±592.2	2463.2±837.6	38.7±4.6	41.4±5.2 bc
250	35.57±2.279 a	33.3±7.99 a	11.46±0.366 cd	155.49±20.3	1381.4±328.1	2819.51±1420.1	40.82±4.3	56.27±7.67 a
275	32.43±1.81 a	24.87±6.223 b	11.27±2.179 cd	133.3±11.9	1905.31±1244.2	2457.21±569.2	41.18±3.44	55.44±7.56 a
LSD =0.05	6.83	6.67	2.32	68.28 (NS)	929 (NS)	1209 (NS)	11.86 (NS)	9.11

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır. NS: Önemsiz

Tablo 19. 2,4-DKF'nin Farklı Konsantrasyonlarına Maruz Kalan *Sinapis arvensis*'in Fizyolojik ve Biyokimyasal

2,4-DKF (ppm)	H ₂ O ₂ - gövde (mM/gr FW)	H ₂ O ₂ - Kök (mM/gr FW)	O ₂ ⁻ - gövde (nM/gr FW)	O ₂ ⁻ - Kök (nM/g FW)	2,4-DKF-Yaprak (ng/ml)	2,4-DKF-Sürgün (ng/ml)	2,4-DKF- Kök (ng/ml)
Kontrol	0.43±0.004 g	0.32±0.004 f	265.01±106.133 c	62.18±1.057	ND	ND	ND
75	0.43±0.011 g	0.33±0.017 ef	266.53±81.188 c	71.94±3.464	56.66±2.59 c	106.5±8.1 g	2125.18±228.54 h
100	0.46±0.004 f	0.33±0.004 def	380.6±178.44 c	72.25±1.057	ND	116.13±6.8 fg	2804.26±40.5 g
125	0.45±0.013 fg	0.33±0.004 def	327.23±41.138 c	72.86±1.398	12.96±4.639 d	161.01±8.5 f	3630.81±12.221 f
150	0.48±0.011 e	0.34±0.01 cde	432.76±157.349 bc	73.77±1.398	108.66±8.269 b	366.21±12.5 e	4117.95±31.871 e
175	0.53±0.007 d	0.34±0.007 cde	464.48±118.174 bc	78.35±5.811	115.2±9.993 b	747.8±185.5 d	4535.93±70.39 d
200	0.54±0.013 cd	0.35±0.007 cd	530.36±416.551 bc	84.75±3.464	ND	911.14±69.3 c	5962.2±23.886 c
225	0.55±0.01 c	0.35±0.01 c	603.25±259.061 abc	86.89±40.842	118.82±15.396 b	954.08±16.4 c	6014.65±10.725 c
250	0.58±0.013 b	0.38±0.004 b	1093.08±680.303 a	154.11±109.961	125.95±55.936 b	2198.8±51.2 b	7096.49±38.884 b
275	0.62±0.01 a	0.4±0.013 a	926.55±227.304 ab	127.76±5.59	236.74±6.127 a	3806.4±139.3a	9469.99±94.07 a
LSD = 0.05	0.018	0.015	495.1	93.3 (NS)	32.3	133.9	143.5

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.

Özellikler Arasındaki Basit Korelasyon

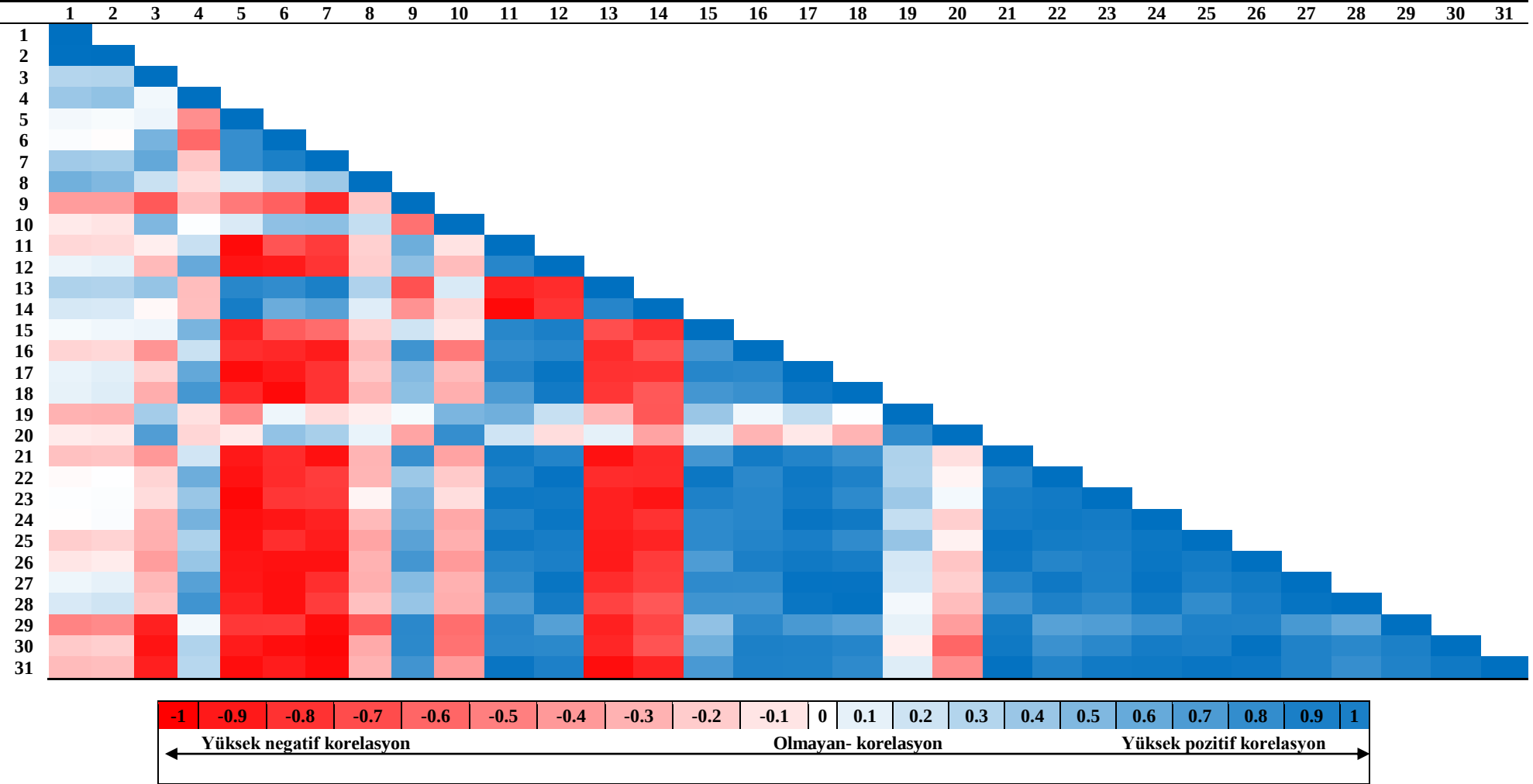
Farklı 2,4 diklorofenol konsantrasyonlarının etkisi altında test edilen üç bitkinin hepsinin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri arasındaki basit korelasyonun sonuçları grafiksel olarak sunulmuştur. Bu şekilde kırmızı renk ile negatif korelasyon, mavi renk ile pozitif korelasyon ve renk yoğunluğunun artması korelasyon katsayısında bir artışa işaret etmektedir. Tablolarda korelasyon olmaması için beyaz renk de kullanılmıştır.

***Sinapis arvensis* bitkisi**

Farklı özellikler arasındaki basit korelasyonun sonuçları, negatif ve pozitif korelasyonların yanı sıra anlamlı olmayan korelasyonların varlığını göstermiştir. Örneğin, klorofil a / b oranı özelliklerine sahip yabancı hardal bitkisinin yaprak, gövde ve kök organlarında 2,4 diklorofenolün absorpsiyon oranı, sürgün ve kökün malondialdehit içeriği, sürgün ve kökün katalaz ve *Askorbat peroksidaz* aktivitesi, glutatyon Sürgün ve kökün S-transferazı, sürgün ve kökün süperoksit dismutazı, sürgün ve kökün süperoksit ve peroksit içeriği arasında pozitif ve anlamlı bir korelasyon vardı. Aksine, sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, toplam bitki uzunluğu, bitki kuru ağırlığı, klorofil a ve b içeriği, karotenoid içeriği, sürgün ve kök proteini ve kök glutatyon peroksidaz özellikleri ile negatif ve anlamlı bir ilişki göstermiştir (Tablo 20).

Tablo 20. 2,4-DKF Farklı Konsantrasyonları ile *Sinapis arvensis*'in Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri Arasındaki Basit Korelasyon

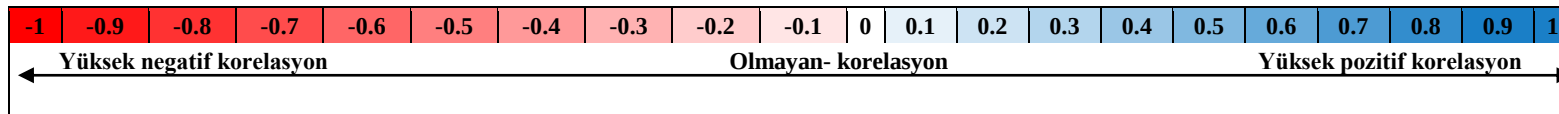
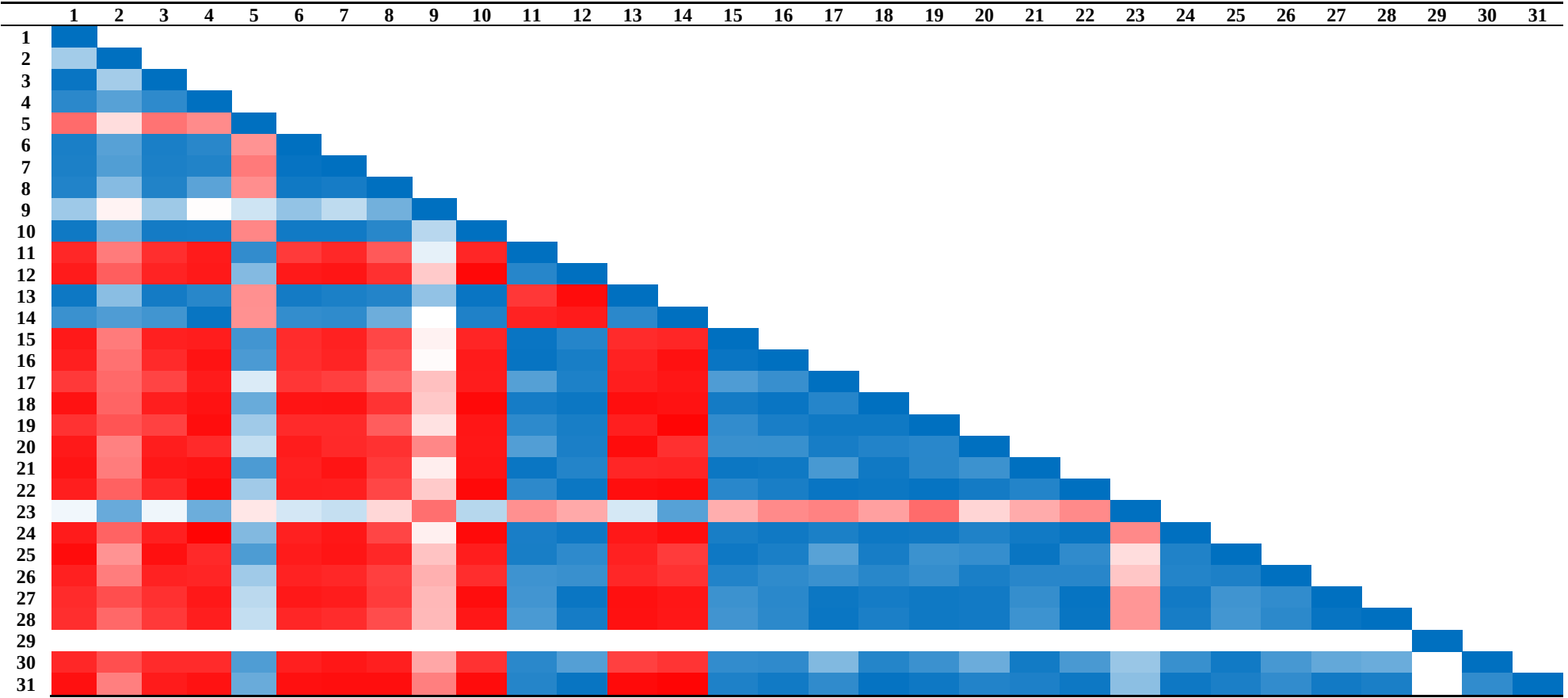
73



1: SL; 2: RL; 3: PL; 4: PFW; 5: PDW; 6: Chl a; 7: Chl b; 8: Total Chl; 9: Chl a/b ratio; 10: Car; 11: MDA-S; 12: MDA-R; 13: Pro-S; 14: Pro-R; 15: CAT-S; 16: CAT-R; 17: APX-S; 18: APX-R; 19: GPX-S; 20: GPX-R; 21: GST-S; 22: GST-R; 23: SOD-S; 24: SOD-R; 25: H2O2-S; 26: H2O2-R; 27: O2-S; 28: O2- -R; 29: 2,4-D-L; 30: 2,4-D-S; 31: 2,4-D-R

Amaranthus retroflexus bitkisi

Horoz ibiği bitkisinin verilerinin sonuçları, bitkinin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri arasında pozitif ve negatif korelasyonun varlığını göstermiştir. Bu bitkide, horoz ibiği bitkisinin farklı organlarında 2,4 diklorofenol emilim miktarı, kök uzunluğu, gövde uzunluğu, toplam bitki uzunluğu gibi morfolojik özelliklerin yanı sıra bitki yaş ağırlığı, içeriği gibi morfolojik özellikler ile negatif ve anlamlı bir korelasyona sahiptir. Klorofil ve karotenoidler dahil fotosentetik pigmentlerin yanı sıra gövde ve kök protein içeriği. Öte yandan, farklı antioksidan enzimlerin aktivite özellikleri ile gövde kısımları ve köklerdeki süperoksit ve hidrojen peroksit içeriği ile pozitif ve anlamlı bir korelasyon gösterdi (Tablo 21).

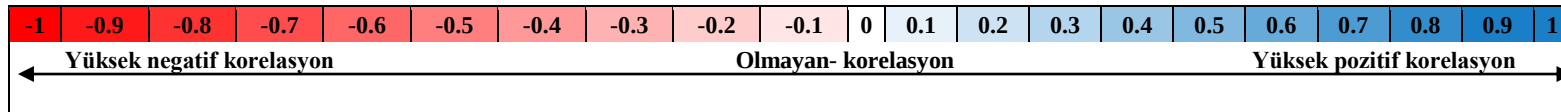
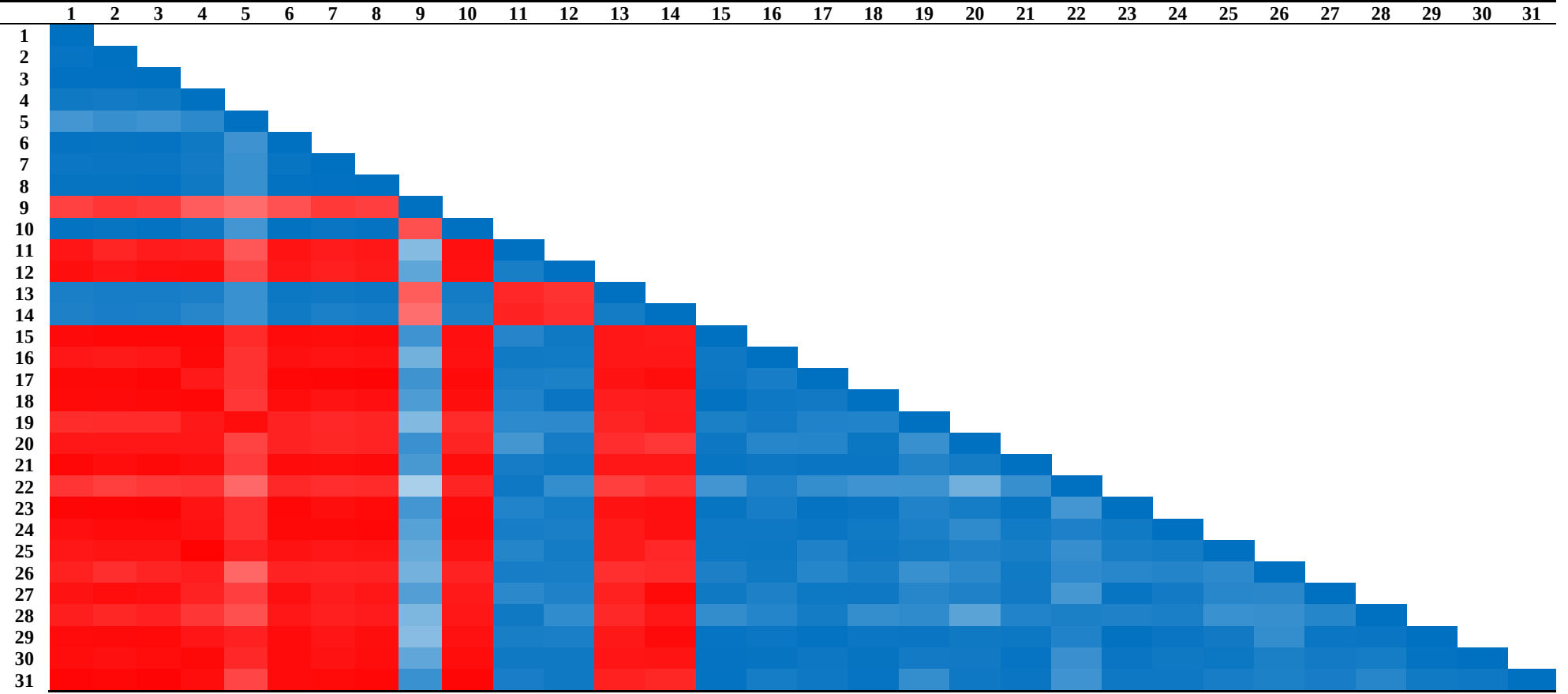
Tablo 21. 2,4-DKF Farklı Konsantrasyonları ile *Amaranthus Retroflexus*'un Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri Arasındaki Basit Korelasyon

1: SL; 2: RL; 3: PL; 4: PFW; 5: PDW; 6: Chl a; 7: Chl b; 8: Total Chl; 9: Chl a/b ratio; 10: Car; 11: MDA-S; 12: MDA-R; 13: Pro-S; 14: Pro-R; 15: CAT-S; 16: CAT-R; 17: APX-S; 18: APX-R; 19: GPX-S; 20: GPX-R; 21: GST-S; 22: GST-R; 23: SOD-S; 24: SOD-R; 25: H2O2-S; 26: H2O2-R; 27: O2-S; 28: O2- -R; 29: 2,4-D-L; 30: 2,4-D-S; 31: 2,4-D-R

***Datura stramonium* Bitkisi**

Özellikler arasındaki basit korelasyondan elde edilen sonuçlara dayanarak, gövde uzunluğu, kök ve bütün bitki, bitkinin yaş ve kuru ağırlığı, fotosentetik pigmentlerin içeriği ile birlikte 2,4 diklorofenol absorpsiyon oranının arttığını göstermiştir. Klorofil a, b ve toplam karotenoid, gövde ve kök protein içeriğinde önemli bir azalma olmuştur. Yani 2,4 diklorofenolün emilimi ile bu özellik arasında negatif bir ilişki vardır. Öte yandan, diğer iki bitki gibi, antioksidan enzimlerin aktivitesi ile süperoksit ve hidrojen peroksit içeriğinin 2,4 diklorofenol absorpsiyon miktarı ile pozitif ve anlamlı bir korelasyonu vardı (Tablo 22).

Tablo 22. 2,4-DKF Farklı Konsantrasyonları ile *Datura stramonium*'un Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri Arasındaki Basit Korelasyon



1: SL; 2: RL; 3: PL; 4: PFW; 5: PDW; 6: Chl a; 7: Chl b; 8: Total Chl; 9: Chl a/b ratio; 10: Car; 11: MDA-S; 12: MDA-R; 13: Pro-S; 14: Pro-R; 15: CAT-S; 16: CAT-R; 17: APX-S; 18: APX-R; 19: GPX-S; 20: GPX-R; 21: GST-S; 22: GST-R; 23: SOD-S; 24: SOD-R; 25: H₂O₂-S; 26: H₂O₂-R; 27: O₂-S; 28: O₂-R; 29: 2,4-D-L; 30: 2,4-D-S; 31: 2,4-D-R

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Farmasötik, petrokimya endüstrileri (31-1220 mg/l) ve petrol rafinerileri (380-185 mg/l), kömür işleme üniteleri (4.5-12000 mg/l) ve kauçuk, seramik, çelik gibi endüstriyel atıklardan kaynaklanan fenolik bileşikler ve reçineler (2400-25000mg/litre) su kaynaklarını kirletmektedir. Bu endüstrilerin ürün yelpazeleri oldukça geniş olup atıkların toksik yapıları, zayıf biyolojik bozunabilirlikleri (nonbiyodegradable) ve bitkilerde biyolojik birikim(biyoakümülyasyon) potansiyelleri ile bu bileşiklerle kirlenmiş göllerde ve nehirlerdeki sucul canlılar ile insan ve hayvan dokularına kadar ulaşabildiklerinden ciddi çevre sorunlarına neden olurlar. Bu nedenle fenolik bileşikler içeren atık sular, su kaynaklarına deşarj edilmeden önce arıtılmalıdırlar (Edris ve diğlerleri, 2013). İnsan sağılığını fenolik bileşiklerin maruz kalmanın olası toksik etkilerinden korumak için, Amerikan Çevre Koruma Ajansı (EPA) bu bileşiğı birinci sınıf (priority) kirletici olarak tanımlamış ve sınıflandırmıştır, bu sebeple yüzey sularında izin verilen limit konsantrasyon 0,1 ppb'dir. Ayrıca Dünya Sağılık Örgütü (WHO) tarafından geliştirilen yönetmeliklere göre içme suyunda izin verilen fenolik bileşiklerin limit değeri 0.200 ppm 'dir (Zeng ve diğlerleri, 2009; Balasubramanian ve Venkatesan 2012).

Bu bağlamda bu çalışmada; öncelikli toksik bileşiklerden biri olan 2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonlarına maruz kalmış üç yabancı türden bitkinin (*Sinapis*, *Amarantus* ve *Datura*) morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerindeki değışiklikler detaylı olarak araştırılmıştır..Ayrıca bu bileşiğın üç bitkinin farklı organlarında absorpsiyon miktarlarının karşılaştırılması da (direnc seviyelerini) bu araştırmanın bir diğler amacıdır.

Elde edilen sonuçlara göre;

- Bu çalışmasında; 2,4-DKF konsantrasyonunun artışıyla (şahit,75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 ve 275 ppm) kök, gövde ve tüm bitki (kök + gövde) uzunluğu gibi büyüme parametreleri ile tüm bitkinin yaş ve kuru ağırlığı üzerine olumsuz etkileri olduğunu göstermiştir.
- Bu çalışmasında; 2,4-DKF konsantrasyonunun artışıyla (şahit,75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 ve 275 ppm) birlikte farklı antioksidan enzimlerinin aktivitesinin önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Bunun nedenlerinden biri, bu bileşiğın yüksek konsantrasyonlarının incelenen her üç bitkide neden olduğu stres gibi görünmekle birlikte bitkiler bu stresle başa çıkmak için enzimatik ve enzimatik olmayan savunma mekanizmalarını harekete geçirmişlerdir. Stres karşısında antioksidan enzimlerin aktivitesinin artırılması bu savunma mekanizmalarından biridir. Bu konu ile ilgili yapılan bir araştırmada, sarımsak bitkisinin kökündeki süperoksit içeriğinin yanı sıra peroksidaz enziminin aktivitesinin, 2,4-DKF

varlığında stres koşullarında önemli ölçüde arttığı belirtilmiştir (Wang ve diğerleri, 2015).

Elde ettiğimiz bulgularda, 2,4-DKF'nin yüksek konsantrasyonlarında peroksidaz enzim aktivitesindeki artış yukarıda sunulan çalışma sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Yapılan başka bir çalışmada; peroksidazın, substrat olarak H₂O₂ varlığında aromatik bileşiklerin oksidasyonunu katalize edebildiğini yani yüksek oranda reaktif radikal türlerin (ROT) oluşumunu katalizlediği kanıtlanmıştır. ROT'lar yaşam süresi kısa, son derece reaktif türler oldukları için kısa süre içerisinde seçici ya da selektif olmayan reaksiyonları başlatmaktadırlar (Angelini ve diğerleri, 2014).

Sulu çözeltilerden 2,4-DKF'ün giderimi için sarımsak kökleri ile yapılan fitoremediasyon çalışmasında,metabolik ürünlerin sudaki çözünürlüğünün çok düşük olması hem polimerik ürünlerin bileşim ve yapısının aydınlatılmasını zorlaştırmış hem de kirleticinin bitkinin metabolik süreçlerine geçiş oranı ve hızını(biyoyararlanım) düşürmüştür (Wang et all, 2015).

Phalaris arudinacea bitkisi kullanılarak yapılan 2,4-DKF'ün fitoremediasyon çalışmasında ise; katalaz, peroksidaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferazın aktivite düzeyinin yanı sıra glutatyon içeriğinin askorbat ve fenolik bileşiklerin arttığı gözlemlenmiştir (Michałowicz ve diğerleri, 2010).

2,4-DKF'nin fitoremediasyonla giderimine dair yapılmış önemli bir çalışmada *Typha latifolia* bitkisi kullanılmış ve bitkinin toleransı, kirleticinin uzaklaştırılması, bitkinin organlarında birikimi ve biyotransformasyonu detaylı olarak incelenmiştir. 1.5-300 mg/L konsantrasyon aralığında ve 10 gün boyunca 2,4-DKF'ye maruz bırakılan *Typha latifolia* bitkisiyle yapılan fitoremediasyon çalışması sonucunda ; klorofil seviyelerinde ve büyüme hızında azalmaların yanı sıra en yüksek absorpsiyonun köklerde sonra gövdede olduğu , kirletici konsantrasyonu arttıkça GST enzim aktivitesinin de arttığı gözlenmiştir (Rodriguez-Hernandez et all, 2017).

Ksenobiyotikler, doğada bulunmayan kimyasal olarak sentezlenmiş sentetik bileşiklerdir, bu nedenle biyosfere yabancılardır. Su, hava, toprak ve tortulardaki akıbetlerine göre de doğanın farklı yerlerinde mikroorganizmaların kullanımına açıktır (Michałowicz ve diğerleri, 2010).

Yabancı organizmalar (zenobiyotikler) arasında antioksidanlar, ilaçlar, gıda katkı maddeleri, hidrokarbonlar ve böcek ilaçları bulunur. Ksenobiyotikler, süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi, hücre zarının lipid peroksidasyonu da dahil olmak üzere hücrelere zarar verebilecek reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna yol açar (Bat'ková ve diğerleri 2008).

Çevresel ve çevresel olmayan streslerle başa çıkmak için bitkilerin genel olarak, katalaz (Polidoros ve Scandalios 1999), askorbat peroksidaz (Rhizsky ve diğerleri, 2002) veya guaiakol peroksidaz (Herman ve diğerleri 1998) gibi enzimatik antioksidanların veya glutatyon ve askorbat (Noctor ve diğerleri, 1998) ve fenolik bileşikler (Pasqualini ve diğerleri. 2003) gibi enzimatik olmayan antioksidanların savunma mekanizmasına sahip olduğu bilinmektedir.

Başka bir çalışmada; Glutatyon S-transferaz (GST) enziminin glutatyon ile birleştirerek zenobiyotiklerin detoksifikasyonunu başardığını ortaya koymuşlardır (Zhao ve Zhang 2006).

Bu konuya paralel olarak yapılan başka bir çalışmada; fitoremediasyonda yaygın olarak kullanılan uzun ömürlü bir bitki olan *kamış kanarya otunun*, 4-klorofenol (4-KF)'ü bulunduğu ortamdan kökleri vasıtasıyla bünyesine alarak GST aktivitesini ve glutatyon içeriğini artırdığı gösterilmiştir (Urbanek ve ark. 2005).

- Bu çalışmada; fitoremediasyonda kullanılan her üç bitki türünde de büyüme ortamındaki 2,4-DKF konsantrasyonundaki artışa paralel olarak GST enziminin aktivitesinde artışa sebep olduğu ispat edilmiştir. Bitki kökleri, hücre duvarındaki fenolik serbest radikallerin oksidatif polimerizasyonu ile ilişkili olan peroksidaz gibi redoks enzimlerini üretip salgıladığı bilinmektedir (Talano ve diğerleri, 2012). Bu nedenle, bu enzimler polimerizasyon reaksiyonlarında önemli bir rol oynar ve muhtemelen fenol ve klorofenollerin uzaklaştırılmasında da anahtar enzimlerdir. Bitkilerin peroksidaz kaynağı olarak kullanılması ve ayrıca peroksidaz aktivitesine dayalı enzimatik yaklaşımlar, fenolik bileşiklerin fitoremediasyonu için iyi bir alternatif çalışmadır (Coniglio ve diğerleri 2008; Talano ve diğerleri, 2012). Bu çalışmada; *tütün* bitkileri kullanılarak 2,4-DKF'nin etkin bir şekilde uzaklaştırılmasından sonra toksik olmayan ürünlerin oluştuğu ortaya konmuştur.
- Bu çalışmada; 2,4-DKF'nin fitoremediasyonla giderimi için kullanılan üç farklı bitki arasındaki karşılaştırmada, *Sinapis arvensis* bitkisinin diğer iki bitkiye (*Datura stramonium*, *Amaranthus retroflexus*) kıyasla çok yüksek giderim gücüne sahip olup birinci sırada, *Datura stramonium* bitkisinin ikinci sırada, *Amaranthus retroflexus* bitkisinin ise üçüncü sırada olduğu belirlenmiştir.
- Bu çalışmada; ***Sinapis arvensis*** bitkisinde ortalama absorpsiyon miktarı **6209.8 ng/ml**, ***Datura stramonium*** ve ***Amaranthus retroflexus*** bitkisinde ise sırasıyla absorpsiyon miktarları **2560** ve **537.5 ng/ml** olduğu belirlenmiştir. Tabii ki, *Amaranthus retroflexus* bitkisinin yaprak organındaki 2,4-DKF'nin tüm seviyelerinde ölçülebilir bir absorpsiyon gözlemlenmediğini belirtmek gerekir. Yani kirletici bu bitkide yapraklara kadar iletilememiştir.

Öte yandan, bitki organları karşılaştırıldığında, her üç bitkide de kökten emilim miktarı gövde ve yapraktan daha yüksektir. Gövde absorpsiyon oranı ise yapraktan daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sinapis arvensis bitkisinde yaprak, gövde ve kökte ortalama absorpsiyon miktarı sırasıyla **771.5-6209.8-9365 ng/ml** iken,

Datura stramonium bitkisinde yaprak, gövde ve kökte ortalama absorpsiyon miktarı sırasıyla **6.74-131.44-1084.6 ng/ml** iken,

Amaranthus retroflexus bitkisinde yaprak, gövde ve kökte ortalama absorpsiyon miktarı sırasıyla **tespit edilemedi-504.3-4334 ng/ml** 'dir.

Tablo 23. 96 Saatlik Maruziyet Sonucunda 2,4-DKF'nin Bitkilerin Kök, Gövde ve Yapraklarına Geçen (Absorpsiyon) Miktarları

Fitoremidasyonda Kullanılan Bitkiler	96 saat (4 gün)		
	Kök (ng/mL)	Gövde (ng/mL)	Yaprak (ng/mL)
<i>Sinapis Arventis</i>	9365	6209.8	771.5
<i>Datura Stramonium</i>	1084.6	131.44	6.74
<i>Amaranthus Retroflexus</i>	4334	504.3	Tespit edilemedi.

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar, aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir:

- 1- Çalışılan üç bitkide de (*Sinapis arvensis*, *Datura stramonium*, *Amaranthus retroflexus*), 2,4-DKF konsantrasyonu arttıkça, büyüme ve morfolojik parametreler üzerinde ki etkilerin de arttığı gözlenmektedir.
- 2- 2,4-DKF'nin konsantrasyonu değiştikçe, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerin önemli ölçüde değiştiği gözlemlenmiştir. 2,4-DKF'nin yüksek konsantrasyonlarında, klorofil a, b ve toplam klorofil gibi fotosentetik pigmentlerin ve karotenoidlerin azalması direk büyüme ve morfolojik parametrelerde azalışa neden olabilir. Bu durum; basit korelasyonun sonuçlarında da açıkça görülmektedir (TabloX-Y-Z). Tablolardan da görüleceği üzere; yüksek korelasyon oranı morfolojik parametreler ile fotosentetik pigmentlerin içeriği arasında pozitif bir ilişkinin varlığını göstermektedir. Ayrıca , 2,4 –DKF'nin düşük konsantrasyonlarının dahi fotosentetik pigmentlerin içeriğinde bir artışa yol açtığını göstermiştir.
- 3- Artan 2,4-DKF konsantrasyonu ile katalaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde artış gözlemlenmiştir. Büyüme parametrelerindeki düşüşün bir başka nedeni de, bu antioksidan enzimlerin yüksek konsantrasyonlarda 2,4 –DKF'ye maruziyeti sonucu aktivitelerindeki artıştır.

- 4- Tablo.-K 'da da görüleceği üzere ; toksik ve kalıcı bir organik kirletici olan 2,4-DKF'nin gideriminde her üç bitki türünün de fitoremidasyonla ıslah amaçlı kullanılabileceği , özellikle de **Sinapis arvensis** yabancı türünün en yüksek absorpsiyonlara ulaştığı belirlenmiştir.
- 5- Yine TabloK'da da görüleceği üzere; her üç bitki türünde de en yüksek absorpsiyon oranının kök kısmında sonra sırasıyla gövde ve yapraklarda olduğu belirlenmiştir.
- 6- Pek çok sanayi dalında geniş bir yelpazede, girdi maddesi olarak kullanılan ve toksik organik kirletici sınıfında olan 2,4-DKF'nin fitoremidasyonla ıslah çalışmalarında yapılan literatür taraması sonucu elde edilen veriler ışığında bu konuyla alakalı çalışmaların kısıtlı olduğu ve *Allium sativum*(Sarımsak bitkisinin kökleri), *Phalaris arudinace*(Mera otu), *Typha latifolia* (Kamış), *Reed canary grass* (Kamış kanarya otu),*Nicotiana rastica* (tütün) bitkileriyle yapılan ıslah çalışmalarındaki absorpsiyon oranları içerisinde en yüksek orana bizim çalışmamızda kullandığımız **Sinapis arvensis** bitkisinde ulaşıldığı önemli bir sonuç olarak vurgulanabilir.

Öneriler

- 1- Bu çalışmada kullanılan bitkilerin dış ortam koşullarında , farklı zaman periyotlarında (mevsim),farklı iklim koşullarında, değişen çevresel faktörlerin etkisi altında saha uygulamaları adına denenmesi önerilir.
- 2- Biyosentez yoluyla bitki köklerinde 2,4-DKF'nin emiliminin artırılmasında rol oynayan faktörlerin test edilmesi önerilir.
- 3- Yüksek konsantrasyonlardaki 2,4-DKF'nin fitoremidasyonla ıslah çalışmaları için; **Sinapis arvensis** bitkisi ile elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, bu araştırmanın bu bitkinin aynı familyadan gelen farklı türleri ve ekotipleri üzerinde denenmesinin literatüre ciddi anlamda katkılar sunacağı düşünülmektedir.
- 4- Farklı konsantrasyonlardaki 2,4-DKF'nin , farklı bitkilerdeki stres direnç genlerinin ekspresyonu üzerindeki etkilerinin de araştırılması önerilmektedir..
- 5- Çalışmada kullanılan bitkilerin, doğal arıtım yöntemlerinden biri olan **yapay sulak alanlardaki** kullanım potansiyellerinin araştırılması uygundur.
- 6- Çalışmada yer verilen üç bitki türünün de farklı sektörlerin gerçek atıksularıyla test edilmesi bu bitkilerin atıksu arıtımında kullanılabilirliği konusunda bilgi vermesi açısından değerli olacaktır.
- 7- Çalışmada kullanılan yabancı bitkilerin yapay sulak alanlarda yaygın olarak kullanılan ve tavsiye edilen çeşitli bitkilerle birlikte kullanım potansiyelinin de araştırılarak mukayese edilmesi önerilir.
- 8- Kirletici olarak kullanılan klorlanmış fenol türevlerinden biri olan 2,4-DKF ile yapılan bu çalışma diğer klorlanmış fenol türevleri (2-Kloro,4-Kloro,2,4,5-

Triklorofenol) 'nin yanı sıra diğer toksik fenollerden olan nitrolanmış fenol türevleri ile de fitoremediasyon potansiyelleri yüksek olan ***Sinapis arvensis*** -***Datura stramonium*** -***Amaranthus retroflexus*** bu bitkilerle ıslah çalışmalarının yapılması önerilir.

REFERANSLAR

- Abdel-Shafy, H. I., Mansour, M. S. 2018. Phytoremediation for the elimination of metals, pesticides, PAHs, and other pollutants from wastewater and soil. In *Phytobiont and ecosystem restitution* (pp. 101-136). Springer, Singapore.
- Ahlborg, U.G., Thunberg, T.M., 1980. Chlorinated phenols: occurrence, toxicity,metabolism, and environmental impact. *Crit. Rev. Toxicol.* 7, 1-35.
- Ahlborg, U.G., Thunberg, T.M., 1980. Chlorinated phenols: occurrence, toxicity,metabolism, and environmental impact. *Crit. Rev. Toxicol.* 7, 1-35.
- Al-Baldawi, IA. 2018. 'Removal of 1,2-Dichloroethane from real industrial wastewater using a sub-surface batch system with *Typha angustifolia* L'. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147,260-265.
- Alemzadeh, I., and Mirzaei, F. 2009. 'Phenol removal from industrial wastewater by HRP enzyme'. *Journal of Water and Wastewater; Ab va Fazilab* (in persian), 19,2-8.
- Allred, K.W., 2004. *Datura* (Solanaceae) in New Mexico. *New Mex. Bot.* 30, 5.
- Allred, K.W., 2004. *Datura* (Solanaceae) in New Mexico. *New Mex. Bot.* 30, 5.
- Angelini, R. and Federico R., 1989. Histochemical evidence of poliamin oxidation and generation of hydrogen peroxide in the cell wall. *J. Plant Physiol.*, 135, 212-217
- Angelini, VA., Agostini, E., Medina, MI., and González, PS. 2014. 'Use of hairy roots extracts for 2, 4-DCP removal and toxicity evaluation by *Lactuca sativa* test'. *Environmental Science and Pollution Research*, 21,2531-2539.
- Angelini, VA., Agostini, E., Medina, MI., and González, PS. 2014. 'Use of hairy roots extracts for 2, 4-DCP removal and toxicity evaluation by *Lactuca sativa* test'. *Environmental Science and Pollution Research*, 21,2531-2539.
- Annachhatre, A., P. and Gheewala, S. H., 1996. Biodegradation of chlorinated phenolic compounds. *Biotechnol. Adv.*, 14, 35–56.
- Aprill, W., Sims, R.C. (1990). Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere*, 20, 253-265.
- Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual review of plant biology*, 50: 601-639.
- ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2015. Priority List of Hazardous Substances. <http://www.atsdr.cdc.gov/spl/>.

- Azcárraga, M.R., 2001. *Datura* (Solanaceae). In: Calderón, G., Rzedowski, Y. (Eds.), *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología AC. Centro Regional del Bajío-CONABIO, México, pp. 320–321.
- Bağbağ M., Demirel R., Avcı M., Some Quality Traits Of Different Wild Plants, *Science Biol.*, 2, 1, 36-39, (2010).
- Balasubramanian, A., and Venkatesan, S. 2012. Removal of phenolic compounds from aqueous solutions by emulsion liquid membrane containing Ionic Liquid [BMIM]+[PF6]– in Tributyl phosphate. *Desalination*, 289: 27-34.
- Bat'ková, P., Pospíšilová, J., and Synková, H. 2008. Production of reactive oxygen species and development of antioxidative systems during in vitro growth and ex vitro transfer. *Biologia plantarum*, 52: 413-422
- Bat'ková, P., Pospíšilová, J., and Synková, H. 2008. Production of reactive oxygen species and development of antioxidative systems during in vitro growth and ex vitro transfer. *Biologia plantarum*, 52: 413-422
- Baydar, H., Gürel, F., 1998. Antalya doğal florasında bal arısı (*Apis mellifera* L.)'nın polen toplama aktivitesi, polen tercihi ve farklı polen tiplerinin morfolojik ve kalite özellikleri. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*. Sayı 22. Sayfa 475-482.
- Bert V., Girondelot B., Quatannens V., Laboudigue A., (2005), A phytostabilisation of a metal polluted dredged sediment deposit— Mesocosm experiment and field trial, *Proceedings of the 9th International FZK/TNO Conference on soil–water systems remediation concepts and technologies'in içinde*, (Uhlmann O., Annokkée G.J., Arendt F. eds), Bordeaux, ss.1544-50.
- Berti W.R, Cunningham S.D., (2000), *Phytostabilization of Metals, Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean-up the Environment'in içinde*, (Raskin I., Ensley B.D., Ed.), New York, Wiley, ss.71-88.
- Blaylock M.J., Huang J.W., (2000), *Phytoextraction of Metals, Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean-up the Environment'in içinde*, (Raskin I., Ensley B.D., Ed.), New York, Wiley, ss.53-70.
- Boucard, TK., Bardgett, RD., Jones, KC., and Semple, KT. 2005. 'Influence of plants on the chemical extractability and biodegradability of 2, 4-dichlorophenol in soil'. *Environmental Pollution*, 133,53-62.
- Brückner J D, Lepossa A ve Herpai Z (2003). Inhibitory effect of regweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) inflorescence extract on the germination of *Amaranthus hypochondriacus* L. and growth of two soil algae. *Chemosphere*, 51: 515-519
- Bruneton, J., 2001a. *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales*. Acribia S.A., Zaragoza, Spain.
- Burken, J.G., Schnoor, J.L. (1997). Uptake and metabolism of atrazine by poplar trees. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 1399-1406.
- Bye, R., Sosa, V., 2013. Molecular phylogeny of the Jimsonweed Genus *Datura* (Solanaceae). *Syst. Bot.* 38, 818–829.

- Calderón, G., Rzedowski, J., 2004. Manual de malezas de la región de Salvatierra, Guanajuato. Flora del Bajío y regiones adyacentes, fascículo complementario XX. INECOL, Mexico.
- Calderón, G., Rzedowski, J., 2004. Manual de malezas de la región de Salvatierra, Guanajuato. Flora del Bajío y regiones adyacentes, fascículo complementario XX. INECOL, Mexico
- Ceylan, Z., Aydın, Ş.D. 2020. Investigation of the Effect of Substituent Species/Positions and Numbers on Removal of Toxicity from Chloro and Nitro Phenol Compounds with Fenton and Fenton-like Processes Journal Of The Chemical Society Of Pakistan ,42, .5, ss.639-657
- Ceylan, Z., Moharramzadeh, M., and Atici, Ö. 2022. 'Investigating Usage Potential of *Datura stramonium* L. for Phytoremediation of 2, 4-Dichlorophenol'. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 49, 157-166.
- Chaliha, S. and Bhattacharyya, K. G., 2009. Fe(III)-, Co(II)- and Ni(II)-impregnated MCM41 for wet oxidative destruction of 2,4-dichlorophenol in water. Catalysis Today, 141, 225-233.
- Chaliha, S., Bhattacharyya, K.G., 2008. Catalytic wet oxidation of 2-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol and 2,4,6-trichlorophenol in water with Mn(II)-MCM41. Chem. Eng. J. 135, 575-588.
- Chaliha, S., Bhattacharyya, K.G., 2008. Catalytic wet oxidation of 2-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol and 2,4,6-trichlorophenol in water with Mn(II)-MCM41. Chem. Eng. J. 135, 575-588.
- Chappell, J., (1997). Phytoremediation of TCE using Populus, Status Report prepared for the U.S. EPA Technology Innovation Office under a National Network of Environmental Management Studies Fellowship Compiled June-August 1997, Available on-line at: <http://www.clu-in.org/download/studentpapers/phytotce.pdf>.
- Coniglio, MS., Busto, VD., González, PS., Medina, MI., Milrad, S., and Agostini, E. 2008. Application of Brassica napus hairy root cultures for phenol removal from aqueous solutions. Chemosphere, 72: 1035-1042.
- Cordero-de-los-Santos, M.Y., Osuna-Castro, J.A., Borodanenko, A. ve Parades-Lopez, O. (2005). Physicochemical and functional characterisation of amaranth (Amaranthus hypochondriacus) protein isolates obtained by isoelectric precipitation and micellisation. Food Science and Technology International, 11, 269–80
- Czaplicka, M., 2004. Sources and transformations of chlorophenols in the natural environment. Science of the Total Environment, 322, 21–39.
- Czerwiński J, Bartnikowska E, Leontowicz H, Lange E, Leontowicz M, Katrich E, Trakhtenberg S. ve Gorinstein S. (2004) Oat (Avena sativa L.) and amaranth (Amaranthus hypochondriacus) meals positively effect plasma lipid profile in rats fed cholesterol containing diets. Journal of Nutritional Biochemistry 15 (2004): 622-629
- Czerwiński J, Bartnikowska E, Leontowicz H, Lange E, Leontowicz M, Katrich E, Trakhtenberg S. ve Gorinstein S. (2004) Oat (Avena sativa L.) and amaranth (Amaranthus hypochondriacus) meals positively effect plasma lipid profile in rats fed cholesterol containing diets. Journal of Nutritional Biochemistry 15 (2004): 622-629

- Davis, P.H. (Ed.). (1967). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Vol 2. Edinburg: Edinburg University Press.
- De Macvean, A.L. ve Pöll, E. (1997). Chapter 8: Ethnobotany. _çinde J.A.Vozzo (Ed.), *Tropical Tree Seed Manual*. Guatemala: USDA Forest Service; 215-9.
- Dimou, A.D., Sakellarides, T.M., Vosniakos, F.K., Giannoulis, N., Leneti, E., Albanis, T., 2006 . Determination of phenolic compounds in the marine environment of Thermaikos Gulf, Northern Greece. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 86, 119-130. <http://dx.doi.org/10.1080/03067310500249963>.
- Eiroa, M., Vilar, A., Kennes, C., and Veiga, MC. 2008. 'Effect of phenol on the biological treatment of wastewaters from a resin producing industry'. *Bioresource technology*, 99,3507-3512.
- EPA, (1995), *Contaminants and remedial options at select metals-Contaminated Sites*, EPA/540/R-95/512.6
- EPA, (2000), Environmental Protection Agency, *Introduction of phytoremediation*, epa/600/R-99/107, Cincinnati, Ohio, U.S.A.2000: 72.
- EPA, 2000. Environmental Protection Agency, "Introduction to Phytoremediation" ,Epa/600/R-99/107, Cincinnati, Ohio, U.S.A, p 72, www.clu-in.org
- EPA, 2000. Environmental Protection Agency, "Introduction to Phytoremediation" ,Epa/600/R-99/107, Cincinnati, Ohio, U.S.A, p 72, www.clu-in.org
- Espinosa, F., Sarukhán, J., 1997. *Manual de malezas del Valle de México*. UNAM. Fondo de Cultura Económica, Mexico.
- Favaro, G., De Leo, D., Pastore, P., Magno, F., Ballardin, A., 2008. Quantitative determination of chlorophenols in leather by pressurized liquid extraction and liquid chromatography with diode-array detection. *J. Chromatogr. A* 1177, 36-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2007.10.106>.
- Gao, J., Liu, L., Liu, X., Zhou, H., Huang, S., Wang, Z., 2008. Levels and spatial distribution of chlorophenols- 2,4-dichlorophenol, 2,4,6-trichlorophenol, and pentachlorophenol in surface water of China. *Chemosphere* 71, 1181-1187. [http://dx. doi. Org /10 .1016 /j. chemosphere .2007.10.018](http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.10.018).
- Garbou, A. M., Clausen, C. A. and Yestrebsky, C. L., 2017. Comparative study fort he removal and destruction of pentachlorophenol using activated magnesium treatment systems. *Chemosphere*, 166, 267-274.
- Gong, Y., Toivonen, P.M.A., Lau, O.L. and Wiersma, PA., 2001. Antioxidant system level in 'Braeburn' apple in related to its browning disorder. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 42, 259- 264.
- González, PS., Ontañón, OM., Armendariz, AL., Talano, MA., Paisio, CE., and Agostini, E. 2013. 'Brassica napus hairy roots and rhizobacteria for phenolic compounds removal'. *Environmental Science and Pollution Research*, 20,1310-1317.
- Greenberg, B.M., Huang, X.-D., Gerhardt, K., Glick, B.R., Gurska, J., Wang, W., Lampi, M., Khalid, A., Isherwood, D., Chang, P., Wang, H., Wu, S.S., YU, X.-M., Dixon, D.G., Gerwing, P. (2007). Field and laboratory tests of a multi-process phytoremediation system

- for decontamination of petroleum and salt impacted soils, In: Proceedings of the Ninth International In Situ and On-Site Remediation Symposium. Gavaskar, A.R. and Silver C.F., eds., Batelle Press, Columbus, OH
- Harms, H., Bokern, M., Kolb, M., Bock, C. (2003). Transformation of organic contaminants by different plant systems, In *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*, ed. SC McCutcheon, JL Schnoor, Wiley, New York.
- HENRY, J., 2000. "An Overview of the Phytoremediation of Lead and Mercury". U.S. Epa, Office of Solid Waste and Emergency Response Technology Innovation Office. Report May–Aug. 2000. 51 P.
- Herman, B., Biczak, R., and Gurgul, E. 1998. Effect of 1, 10-phenanthroline on peroxidase and catalase activity and chlorophyll, sugar, and ascorbic acid contents. *Biologia plantarum*, 41: 607-611.
- Hinton, J., Hinton, G.S., 1995. Checklist of Hinton's collection of the flora of southcentral Nuevo León and adjacent Coahuila. *Acta Bot. De. México* 30, 41–112.
- Hoekstra, E.J., de Weerd, H., de Leer, E.W.B., Brinkman, U.A.T.H., 1999. Natural formation of chlorinated phenols, dibenzo-p-dioxins, and dibenzofurans in soils of a douglas fir forest. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2543-2549.
- Hoekstra, E.J., de Weerd, H., de Leer, E.W.B., Brinkman, U.A.T.H., 1999. Natural formation of chlorinated phenols, dibenzo-p-dioxins, and dibenzofurans in soils of a douglas fir forest. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2543-2549.
- Hughes, J.B., Shanks, J., Vanderford, M., Lauritzen, J., Bhadra, R. (1997). Transformation of TNT by aquatic plants and plant tissue cultures. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 266-271.
- Hussain, I Zhang, Y and Du. Z. 2012. Degradation of p-chloroaniline by persulfate activated with zero-valent iron. *Chemical Engineering Journal*, 203, 269-276
- Kamalak A., Canbolat O., Gurbuz Y., Ozcan C O., Kizilsimsek M., Determination Of Nutritive Value Of Wild Mustard, *Sinapsis arvensis* Harvested At Different Maturity Stages Using in situ and in vitro Measurements, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18, 9, 1249-1254, (2005).
- Kariñho-Betancourt, A., Agrawal, A.A., Halitschke, R., Núñez-arfán, J., 2014. Phylogenetic correlations among chemical and physical plant defenses change with ontogeny. *New Phytol.* 206, 796–806.
- Kösesakal, T. (2011). Tatlı Su Eğreltisi *Azolla filiculoides* Lam. Kullanılarak Petrol Hidrokarbonlarının. Fitoremediasyonu. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Kot-Wasik, A., Debska, J., Namieśnik, J., 2004. Monitoring of organic pollutants in coastal waters of the Gulf of Gdansk, Southern Baltic. *Mar. Pollut. Bull.* 49, 264e276. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.02.014>.
- Kurade, MB., Ha, Y-H., Xiong, J-Q., Govindwar, SP., Jang, M., and Jeon, B-H. 2021. 'Phytoremediation as a green biotechnology tool for emerging environmental pollution: A step forward towards sustainable rehabilitation of the environment'. *Chemical Engineering Journal*, 415, 129040.

- Lasat M.M., (2000), Phytoextraction of metals from contaminated soil: A review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues, *Journal of Hazardous substance Research*, 2(5), 1-25.
- Liu, YV., Baek, JH., Zhang, H., Diez, R., Cole, RN., and Semenza, GL. 2007. 'RACK1 competes with HSP90 for binding to HIF-1 α and is required for O₂-independent and HSP90 inhibitor-induced degradation of HIF-1 α '. *Molecular cell*, 25,207-217.
- Lukatkin, AS., Bashmakov, DI., Al Harbawee, WE., and Teixeira da Silva, JA. 2021. 'Assessment of physiological and biochemical responses of *Amaranthus retroflexus* seedlings to the accumulation of heavy metals with regards to phytoremediation potential'. *International journal of phytoremediation*, 23,219-230.
- Mao Shufang., Han Y., Wu X., An T., Tang J., Shen J., Li Z., Comparative Genomic in situ Hybridization (cGISH) Analysis of the Genomic Relationship Among *Sinapis arvensis*, *Brassica rapa* and *Brassica nigra*. *Herditas (Lund)*, 149, 3, 86-90, (2012).
- Mathialagan, T. and Viraraghavan, T., 2005. Biosorption of penta chlorophenol by fungal biomass from aqueous solutions: A factorial design analysis. *Environmental Technology*, 26, 571-580.
- MCINTYRE, T., 2003. Phytoremediation of Heavy Metals from Soils. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Vol. 78, 97-123
- Medina, C., Rodriguez, L.S., 1993. Estudio florístico de la Cuenca del río Chiquito de Mprelia Michoacan, México. *Flora del Bajío y regionaes adyacentes, fascículo complementario 4*. INECOL, Mexico, pp. 71.
- Michałowicz, J., Urbanek, H., Bukowska, B., and Duda, W. 2010. The effect of 2, 4-dichlorophenol and pentachlorophenol on antioxidant system in the leaves of *Phalaris arudinacea*. *Biologia plantarum*, 54: 597-600.
- Mirsalia, (2004), *Soil pollution: origin, monitoring and remediation*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Nakano, Y. and Asada, Y., 1981. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-Spesific Peroxidase in Spinach Chloroplasts, *Plant Cell Physiol.*, (22), 867-880.
- Nee, M., 1986. Solanaceae I (II). In: Sosa, V. (Ed.), *Flora de Veracruz. Fascículo 49 Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México*.
- Nee, M., 1986. Solanaceae I (II). In: Sosa, V. (Ed.), *Flora de Veracruz. Fascículo 49 Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México*.
- Newman L.A., Reynolds C.M., (2004), Phytodegradation of organic compounds, *Current Opinion in Biotechnology*, 15, 225-230
- Newman, L.A., Strand, S.E., Choe, N., Duffy, J., Ekuan, G., Ruszaj, M., Shurtleff, B.B., Wilmoth, J., Heilman, P., Gordon, M.P. (1997). Uptake and biotransformation of trichloroethylene by hybrid poplars. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 1062-1067.
- Noctor, G., Arisi, A-CM., Jouanin, L., Kunert, KJ., Rennenberg, H., and Foyer, CH. 1998. Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. *Journal of experimental botany*, 49: 623-647.

- Olson, P.E., Reardon, K.F., Pilon-Smits, E.A.H., (2003). Ecology of rhizosphere Bioremediation. In *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*, ed. SC McCutcheon, JL Schnoor, Wiley, New York
- Özer Z., Tursun N. Önen H., Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam. 4 Renk Yayınları, 253 s., Ankara, (2001).
- Paasivirta, J., Sarkka, J., Leskijarvi, T. and Roos, A., 1980. Transportation and enrichment of chlorinated phenolic compounds in different aquatic food chains. *Chemosphere*, 441–456
- Pasqualini, V., Robles, C., Garzino, S., Greff, S., Bousquet-Mélou, A., and Bonin, G. 2003. Phenolic compounds content in *Pinus halepensis* Mill. needles: a bioindicator of air pollution. *Chemosphere*, 52: 239-248
- Pera-Titus, M., Garcia-Molina, V., Banos, M. A., Gimenez, J. and Esplugas, S., 2004. Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review. *Appl. Catal. B: Environ.*, 47 219–256.
- Pera-Titus, M., Garcia-Molina, V., Banos, M. A., Gimenez, J. and Esplugas, S., 2004. Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review. *Appl. Catal. B: Environ.*, 47 219–256.
- Pérez-Portuondo, I., Serrat-Díaz, M., Pérez-Silva, RM., and Ábalos-Rodríguez, A. 2021. 'Phytotoxic Effects of 4-Chlorophenol and 2, 4-Dichlorophenol in the Germination of Seeds of *Phaseolus vulgaris* and *Zea mays*'. *American Journal of Plant Sciences*, 12,614.
- Pilon-Smits, E. (2005). *Phytoremediation*, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 56, 15-39
- Polidoros, AN., and Scandalios, JG. 1999. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). *Physiologia Plantarum*, 106: 112-120.
- Rhodes, AH., Owen, SM., and Semple, KT. 2007. 'Biodegradation of 2, 4-dichlorophenol in the presence of volatile organic compounds in soils under different vegetation types'. *FEMS microbiology letters*, 269,323-330.
- Rizzi L., Petruzzelli G., Poggio G., Vigna Guidi G., (2004), Soil physical changes and plant availability of Zn and Pb in a treatability test of phytostabilization, *Chemosphere*, 57, 1039-46.
- Rulkens, W. H., Tichy, R., Grotenhuis, J. T. C., 1998. Remediation of Polluted Soil and Sediment: Perspectives and Failures. *Water Sci. Technol.* 37, 27–35.
- Shaarani, F.W., Hameed, B.H., 2011. Ammonia-modified activated carbon for the adsorption of 2,4-dichlorophenol. *Chem. Eng. J.* 169, 180-185. <http://dx.doi.org/10.1016 /j.cej.2011.03.002>.
- Shaarani, F.W., Hameed, B.H., 2011. Ammonia-modified activated carbon for the adsorption of 2,4-dichlorophenol. *Chem. Eng. J.* 169, 180-185. <http://dx.doi.org/10.1016 /j.cej.2011.03.002>.

- Shahverdi, MA., Omid, H., and Tabatabaei, SJ. 2019. 'Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) responses to NaCl stress: Growth, photosynthetic pigments, diterpene glycosides and ion content in root and shoot'. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 18,355-360.
- Shang, T.Q., Newman, L.A., Gordon, M.P. (2003). Fate of trichlorethylene in terrestrial plants. In Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants, ed. SC McCutcheon, JL Schnoor, Wiley, New York.
- Shi, X., Leng, H., Hu, Y., Liu, Y., Duan, H., Sun, H., and Chen, Y. 2012. 'Removal of 2,4-dichlorophenol in hydroponic solution by four Salix matsudana clones'. Ecotoxicology and Environmental Safety, 86,125-131.
- Shi, X., Leng, H., Hu, Y., Liu, Y., Duan, H., Sun, H., Chen, Y., 2012. Removal of 2,4-dichlorophenol in hydroponic solution by four Salix matsudana clones. Ecotoxicol. Environ. Saf. 86, 125-131
- Shi, X., Leng, H., Hu, Y., Liu, Y., Duan, H., Sun, H., Chen, Y., 2012. Removal of 2,4-dichlorophenol in hydroponic solution by four Salix matsudana clones. Ecotoxicol. Environ. Saf. 86, 125-131
- Shin, D., Moon, S.H., Lin, C.C., Barkay, T., Nam, K., 2010. Use of reporter-gene based bacteria to quantify phenanthrene biodegradation and toxicity in soil. Environ. Pollut. 159, 509-514.
- Shin, D., Moon, S.H., Lin, C.C., Barkay, T., Nam, K., 2010. Use of reporter-gene based bacteria to quantify phenanthrene biodegradation and toxicity in soil. Environ. Pollut. 159, 509-514.
- Söğüt Z., Zaimoğlu B.Z., Erdoğan R., Doğan S., (2002), Su Kalitesinin Arttırılmasında Bitki Kullanımı (Yeşil Islah Phytoremediation), Türkiye'nin Kıyı ve Deniz alanları IV. Ulusal Konferansı, 5-8 Kasım, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, Bildiriler Kitabı. II. Cilt, 1007-1016.
- Song, X., Shi, Q., Wang, H., Liu, S., Tai, C. and Bian, Z., 2017. Preparation of Pd-Fe/graphene catalysts by photocatalytic reduction with enhanced electrochemical oxidation-reduction properties for chlorophenols. Applied Catalysis B: Environmental, 203, 442-451.
- Stoilova, I., Krastanov, A., Stanchev, V., Daniel, D., Gerginova, M., Alexieva, Z., 2006
- Sun, Z., Wei, X., Shen, H. and Hu, X., 2014. Preparation of palladium–nickel loaded titanium electrode with surfactant assistance and its application in pentachlorophenol reductive dechlorination. Separation and Purification Technology, 124, 224-230.
- Talano, M.A., Busso, D.C., Paisio, C.E., Gonz_alez, P.S., Purro, S.A., Medina, M.I., Agostini, E., 2012. Phytoremediation of 2,4-dichlorophenol using wild type and transgenic tobacco plants . Environ. Sci. Pollut. Res. 19, 2202-2211. [http:// dx.doi.org/10.1007/s11356-011-0724-9](http://dx.doi.org/10.1007/s11356-011-0724-9)
- Talano, MA., Agostini, E., Medina, MI., Reinoso, H., del Carmen Tordable, M., Tigier, HA., and de Forchetti, SM. 2006. Changes in ligno-suberization of cell walls of tomato hairy

- roots produced by salt treatment: the relationship with the release of a basic peroxidase. *Journal of plant physiology*, 163: 740-749.
- Talano, MA., Busso, DC., Paisio, CE., González, PS., Purro, SA., Medina, MI., and Agostini, E. 2012. Phytoremediation of 2, 4-dichlorophenol using wild type and transgenic tobacco plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 19: 2202-2211.
- Tussipkan, D., and Manabayeva, SA. 2022. 'Alfalfa (*Medicago Sativa* L.): Genotypic Diversity and Transgenic Alfalfa for Phytoremediation'. *Frontiers in environmental science*, 87.
- Ucisika, AS., Trapp, S., and Kusk, KO. 2007. 'Uptake, accumulation, phytotoxicity, and removal of 2, 4-dichlorophenol in willow trees'. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 26, 1165-1171.
- Urbanek, H., Majorowicz, H., Zalewski, M., and Saniewski, M. 2005. Induction of glutathione S-transferase and glutathione by toxic compounds and elicitors in reed canary grass. *Biotechnology letters*, 27: 911-914.
- Uygur, F.N., Koch, W., Walter, H., 1986. Çukurova Bölgesi Buğday-Pamuk Ekim Sistemindeki Önemli Yabancı Otların Tanımı. *PLTS* 4(1). Josef Margraf, Aichtal.
- Vaughan J G., Hemingway J S., The Utilization of Mustards, *Economic Botany*, 13, 3, 196-204, (1959).
- Wang, Y., Ren, H., Pan, H., Liu, J., and Zhang, L. 2015. 'Enhanced tolerance and remediation to mixed contaminants of PCBs and 2,4-DCP by transgenic alfalfa plants expressing the 2,3-dihydroxybiphenyl-1,2-dioxygenase'. *Journal of hazardous materials*, 286, 269-275.
- Wang, Y., Ren, H., Pan, H., Liu, J., and Zhang, L. 2015. 'Enhanced tolerance and remediation to mixed contaminants of PCBs and 2,4-DCP by transgenic alfalfa plants expressing the 2,3-dihydroxybiphenyl-1,2-dioxygenase'. *Journal of hazardous materials*, 286, 269-275.
- Wang, Y., Zhang, J-X., Ren, H-J., Wang, Y., Pan, H-Y., and Zhang, L-Y. 2015. Phytoremediation potentiality of garlic roots for 2, 4-dichlorophenol removal from aqueous solutions. *Applied microbiology and biotechnology*, 99: 3629-3637.
- Wu X., Chen B., Lu G., Wang H., Xu K., Guizhan G., Song Y., Genetic Diversity in Oil and Vegetable Mustard (*Brassica juncea*) Landraces Revealed by SRAP Markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56, 7, 1011-1022, (2011).
- Yee, Y., Tam, N.F.Y., Wong, Y.S. and Lu, C.Y., 2002. Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguira gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. *Environ. Exp. Bot.*, 1-13.
- Yenikalaycı, A.A., 2004. Çukurova Bölgesi'nde Değişik hardal (*Sinapis spp*) Türlerinde Farklı Azot Dozlarının Verim ve Kalite Öğelerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Zeng, X., Fan, Y., Wu, G., Wang, C., and Shi, R. 2009. Enhanced adsorption of phenol from water by a novel polar post-crosslinked polymeric adsorbent. *Journal of hazardous materials*, 169: 1022-1028.

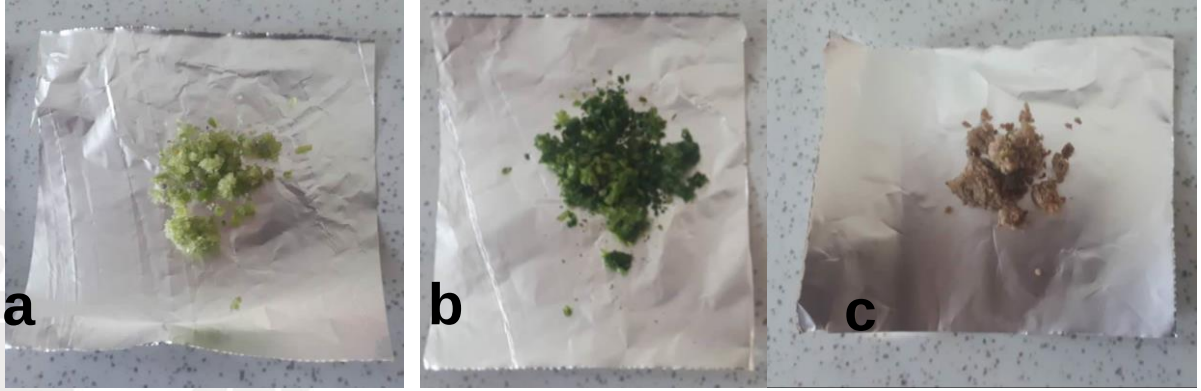
- Zhao, F., and Zhang, H. 2006. Salt and paraquat stress tolerance results from co-expression of the Suaeda salsa glutathione S-transferase and catalase in transgenic rice. Plant cell, tissue and organ culture, 86: 349-358.
- Zhou, J., Wu, K., Wang, W., Xu, Z., Wan, H. and Zheng, S., 2014. Pd supported on boron-doped mesoporous carbon as highly active catalyst for liquid phase catalytic hydrodechlorination of 2,4-dichlorophenol. Applied Catalysis A: General, 470, 336-343.



ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ

EKLER

EK-1. Sinapis arvensis Bitkisine Ait Görseller



Ek 1.1. 1: *Sinapis arvensis* bitkisinin 2,4- DKF'e 96 saatlik maruziyetinden sonraki değişik bölümlerinin (a.kök, b.gövde, c.yaprak) mikro ekstraksiyon öncesi görselleri



Ek 1.2. *Sinapis arvensis* bitkisinin 2,4- DKF eklemeyen önceki hidroponik sistemdeki görselleri



Ek 1.3. *Sinapis arvensis* bitkisinin 2,4- DKF eklemeden önceki kök boyu



Ek 1.4: *Sinapis arvensis* bitkisinin 2,4- DKF 'nin farklı konsantrasyonlarına maruziyetten sonraki kök boyları

EK-2. *Datura stramonium* Bitkisine Ait Görseller



Ek 2.1. *Datura stramonium* bitkisinin 2,4- DKF'e 96 saatlik maruziyetinden sonraki değişik bölümlerinin (a.kök, b.gövde, c.yaprak) mikro ekstraksiyon öncesi görselleri



Ek 2.2. *Datura stramonium* bitkisinin 2,4- DKF eklemeden önceki hidroponik sistemdeki görselleri



Ek 2.3. *Datura stramonium* bitkisinin 2,4- DKF eklemeyen önceki kök boyu



Ek 2.4. *Datura stramonium* bitkisinin 2,4- DKF 'nin farklı konsantrasyonlarına maruziyetten sonraki kök boyları

EK-3. *Amaranthus retroflexus* Bitkisine Ait Görseller



Ek 3.1. *Amaranthus retroflexus* bitkisinin 2,4- DKF'e 96 saatlik maruziyetinden sonraki değişik bölümlerinin (a.kök, b.gövde, c.yaprak) mikro ekstraksiyon öncesi görselleri



Ek 3.2. *Amaranthus retroflexus* bitkisinin 2,4- DKF eklemeden önceki hidroponik sistemdeki görselleri



Ek 3.3. *Amaranthus retroflexus* bitkisinin 2,4- DKF eklemeden önceki kök boyu



Ek 3.4. *Amaranthus retroflexus* bitkisinin 2,4- DKF 'nin farklı konsantrasyonlarına maruziyetten sonraki kök boyları

EK-4. Atatürk Üniversitesi Daytam'da Yapılan Analizlere Ait Görseller



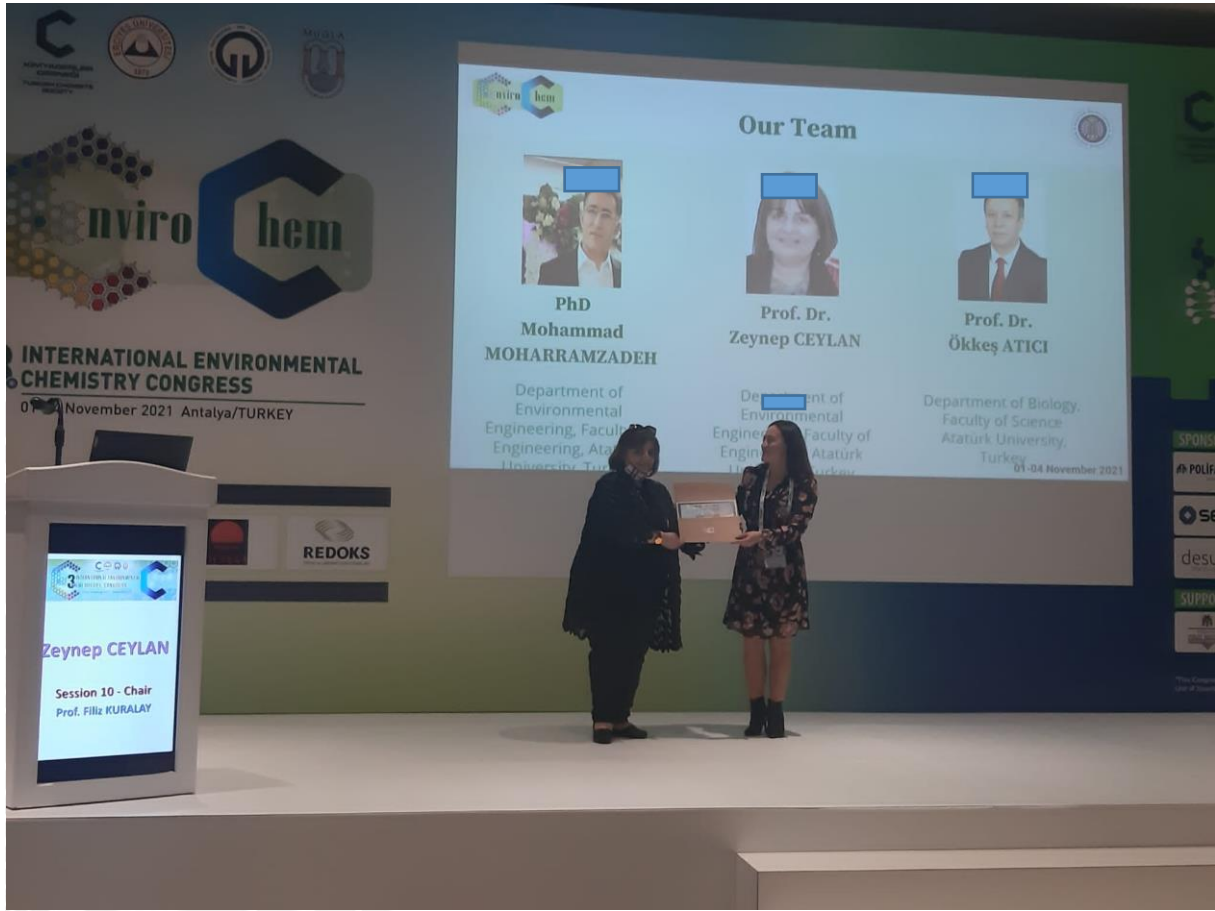
ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ





ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ

EK-5. Envirochem Kongre Sunumu



Ek 5.1: Çalışmamızın bir kısmı 1-4 Kasım 2021 yılında Antalya'da düzenlenen kongrede bildiri olarak Prof. Dr. Zeynep CEYLAN tarafından sunulmuştur.

ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ



Investigating Usage Potential of *Datura stramonium* L. for Phytoremediation of 2,4-Dichlorophenol

2,4-Diklorofenolün Fitoremediasyonunda *Datura stramonium* L. Bitkisinin Kullanım Potansiyelinin Araştırılması

Zeynep Ceylan^{1*}, Mohammad Mohammadzadeh², Ökkeş Atıcı³

¹Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering Atatürk University, Erzurum, Turkey.

²Department of Biology, Science Faculty Atatürk University, Erzurum, Turkey.

ABSTRACT

In this work, the phytoremediation potential of 2,4-Dichlorophenol (2,4-DCP) from soil and wetlands by *Datura stramonium* L. (jimsonweed) was investigated. The medium of seedlings growing in a hydroponic system was adjusted to different concentrations (0.0, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 and 275 ppm) of 2,4-DCP. Four days later, the remediation rate of 2,4-DCP in the growth medium, and root-stem length, root-stem dry weight, lipid peroxidation (LPO), protein and photosynthetic pigment content of seedlings were evaluated. *D. stramonium* seedlings provided remediation of 2,4-DCP between 52-78% at all concentrations. In addition, the 2,4-DCP treatments inhibited the root-stem lengths and dry weights of seedlings compared to their controls, particularly at high doses such as 200-275 ppm, but not at low doses. The applications generally increased protein and LPO content of roots and leaves slightly, but did not affect chlorophyll. The results show that *D. stramonium* has a high usage potential for phytoremediation of 2,4-DCP.

Key Words

Datura stramonium, 2,4-Dichlorophenol, phytoremediation, lipid peroxidation.

Öz

Bu çalışmada, *Datura stramonium* L. (boru çiçeği) bitkisinin toprak ve sulak alanlardan 2,4-Diklorofenolün (2,4-DKF) fitoremediasyon potansiyeli araştırıldı. Hidroponik sistemde büyütülen fidelerin yetiştirme ortamı 2,4-DKF'nin farklı konsantrasyonlarına (0.0, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 ve 275 ppm) ayarlandı. Dört gün sonra, yetiştirme ortamında 2,4-DKF'nin remediasyon oranı, bitkilerin kök-gövde uzunluğu, kök-gövde kuru ağırlığı, lipid peroksidasyonu (LPO), protein ve fotosentetik pigmentlerin içeriği belirlendi. *D. stramonium* fideleri çalışılan tüm konsantrasyonlarda 2,4-DKF'nin remediasyonunu %52-78 oranlarında sağladı. Ayrıca 2,4-DKF uygulamaları, fidelerin kök ve gövde uzunlukları ile kuru ağırlıklarını, kontrollerine göre, özellikle 200-275 ppm gibi yüksek dozlarda genelde hafif derecede inhibe ederken, düşük dozlarda etkilemedi. Uygulamalar, genelde LPO ve protein içeriğini hafif derecede artırırken, yaprak klorofil içeriğini etkilememiştir. Bulgular, *D. stramonium*'un 2,4-DKF'nin fitoremediasyonunda kullanılabilme potansiyelinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler

Datura stramonium, 2,4-Diklorofenol, fitoremediasyon, lipid peroksidasyonu.

Article History: Received: Feb 17, 2020; Revised: Oct 15, 2020; Accepted: Dec 9, 2020; Available Online: Jan 18, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.15671/hjbc.689446>

Correspondence to: Z. Ceylan, Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering Atatürk University, Erzurum, Turkey.

E-Mail: zeylan@atauni.edu.tr



Glutathione S-Transferase Activity in Wild Plants with 2,4-Dichlorophenol (2,4-DCP) Phytoremediation Potential

Mohammad Moharramzadeh, Zeynep Ceylan & Ökkeş Atıcı

To cite this article: Mohammad Moharramzadeh, Zeynep Ceylan & Ökkeş Atıcı (2023) Glutathione S-Transferase Activity in Wild Plants with 2,4-Dichlorophenol (2,4-DCP) Phytoremediation Potential, *Analytical Letters*, 56:3, 411-421, DOI: [10.1080/00032719.2022.2064484](https://doi.org/10.1080/00032719.2022.2064484)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/00032719.2022.2064484>



Published online: 27 Apr 2022.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 55



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Glutathione S-Transferase Activity in Wild Plants with 2,4-Dichlorophenol (2,4-DCP) Phytoremediation Potential

Mohammad Moharramzadeh^a, Zeynep Ceylan^a, and Ökkeş Atıcı^b

^aDepartment of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Atatürk University, Erzurum, Turkey;

^bDepartment of Biology, Science Faculty, Atatürk University, Erzurum, Turkey

ABSTRACT

Glutathione S-transferases (GSTs) play important roles in many biochemical processes, including the detoxification of xenobiotics, herbicides and pesticides, as well as enhancing stress tolerance in plants. 2,4-Dichlorophenol (2,4-DCP), an extremely toxic chlorophenolic, is a pollutant used as raw material in many industries, including the production of most herbicides and insecticides. This study investigated the response of GST for the phytoremediation of 2,4-DCP in *Datura stramonium* L., *Amaranthus retroflexus* L., and *Sinapis arvensis* L., plants with high phytoremediation potential following 2,4-DCP application. The seedlings grown in a hydroponic system were exposed to various solutions of 2,4-DCP in a concentration range from 75 to 275 ppm for 4 days. The GST activity was evaluated in the seedling roots and leaves. The activities in roots and leaves of *D. stramonium* increased to 125 ppm but decreased at 150 ppm and its higher doses compared to controls. In *A. retroflexus*, the GST activity increased to 175 ppm in leaves and 125 ppm in roots but decreased in both in parallel with higher doses of 2,4-DCP. In *S. arvensis*, on the other hand, all doses of 2,4-DCP decreased GST activity in leaves and roots compared to controls. Our results show that *D. stramonium* and *A. retroflexus* respond to 2,4-DCP toxicity with high GST activity, whereas *S. arvensis* is able to tolerate the same toxicity, possibly by a different mechanism.

ARTICLE HISTORY

Received 2 December 2021

Accepted 6 April 2022

KEYWORDS

2,4-dichlorophenol;
Amaranthus retroflexus;
Datura stramonium;
glutathione S-transferase;
phytoremediation;
Sinapis arvensis

Introduction

Pollution of the world's water resources and wetlands with man-made chemicals can have devastating consequences for all ecosystems, including animal and human health (Fatta-Kassinos et al. 2011). Of these pollutants, chlorinated phenolic compounds causing the contamination of ground and surface water are commonly used for the production of herbicides, fungicides, pesticides, pharmaceuticals, disinfectants, and wood preservatives (Middaugh et al. 1994; Czaplicka 2004; Khan, Khan, and Sabir 2011). They are highly resistant to biodegradation due to strong C-Cl covalent bonds, and their toxicity increases with the degree of chlorination. Therefore, their accumulation in terrestrial and wetlands is increasing, and their removal from the aquatic environment is becoming more restrictive (Khan, Khan, and Sabir 2011). For example, while the levels

CONTACT Zeynep Ceylan zceylan@atauni.edu.tr Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Atatürk University, 25240, Erzurum, Turkey.

© 2022 Taylor & Francis Group, LLC

ÜNİVERSİTESİ