



***LEMNA CİNSİNE AİT BAZI BİTKİ
TÜRLERİNİN BOR EKOTOKSİSİTESİNİN
AZALTILMASINDA GRAFEN OKSİT
KULANIMININ ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI***

Yüksek Lisans Tezi

Erhan İLTER

Eskişehir 2019

**LEMNA CİNSİNE AİT BAZI BİTKİ TÜRLERİNİN BOR EKOTOKSİSİTESİNİN
AZALTI MASINDA GRAFEN OKSİT KULANIMININ ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Erhan İLTER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Harun BÖCÜK

Eskişehir

Eskişehir Teknik Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kasım 2019

Bu tez çalışması BAP Komisyonu tarafından kabul edilen 1802F038 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Erhan İLTER'in "*Lemna* Cinsine Ait Bazı Bitki Türlerinin Bor Ekotoksitesinin Azaltılmasında Grafen Oksit Kullanımının Etkisinin Araştırılması" başlıklı tezi 22/11/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Eskişehir Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, **Biyoloji** Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Ünvanı Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı)	: Doç. Dr. Harun BÖCÜK
Üye	: Prof. Dr. Cengiz TÜRE
Üye	: Doç. Dr. İsmail POYRAZ

Prof. Dr. Murat TANIŞLI

Enstitü Müdürü

FINAL APPROVAL FOR THESIS

This thesis titled “**Investigation of the Effect of Graphene Oxide Usage on Reducing Boron Ecotoxicity of Some Plant Species Belonging to Genus *Lemna***” has been prepared and submitted by Erhan İLTER in partial fulfillment of the requirements in “Eskişehir Technical University Directive on Graduate Education and Examination” for the Degree of Master of Science in **Biology** Department has been examined and approved on 23/11/2019.

<u>Committee Members</u>	<u>Title, Name and Surname</u>	<u>Signature</u>
Member (Supervisor)	: Assoc. Prof. Dr. Harun BÖCÜK
Member	: Prof. Dr. Cengiz TÜRE
Member	: Assoc. Prof. Dr. İsmail POYRAZ

Prof. Dr. Murat TANIŞLI

Director of Institute of Graduate Programs

ÖZET

LEMNA CİNSİNE AİT BAZI BİTKİ TÜRLERİNİN BOR EKOTOKSİSİTESİNİN AZALTILMASINDA GRAFEN OKSİT KULANIMININ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Erhan İLTER

Biyoloji Anabilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ağustos 2019

Danışman: Doç. Dr. Harun BÖCÜK

Grafen oksit (GO) ($C_{140}H_{42}O_{20}$), son zamanlarda endüstriyel alanda yoğun olarak kullanılmaya başlanan, yeni ve organik bir karbon materyalidir. Sahip olduğu elektrokimyasal özellikler ve kirletilmiş ortamlarda bitkilere sağladığı avantajlar nedeniyle, GO'in çevre kirliliğinin fitoremediasyon aracılığı ile azaltılması sırasında kullanımı ile ilgili çalışmalar oldukça yenidir. Bu nedenle, bu çalışmada *Lemna minor* L. (Araceae) ve *Lemna gibba* L. (Araceae) türlerinin farklı bor konsantrasyonları altında GO ile etkileşimine bağlı olarak enzimatik ve morfolojik değişimleri araştırılmıştır. Bu amaçla, bitkilerde herhangi bir toksisiteye yol açmayan belirli bir miktarda (5 mg l^{-1}) GO içeren farklı B konsantrasyonlarına sahip (2, 4, 8, 16, 32, 64 ve 128 ppm) deney setleri oluşturularak adı geçen bitki türleri yetiştirilmiş ve deney süresince hem bitkilerde (B arıtım miktarları, yaprak sayıları, antioksidant enzim aktiviteleri, klorofil ve biomas miktarları) hem de ortamda meydana gelen değişimler (pH, iletkenlik) izlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, ortamda bulunan GO partiküllerinin bitki türlerinin B toleranslarını ve B alım kapasitelerini artırdığı tespit edilmiştir. En fazla B alım miktarı $24,63 \text{ mg l}^{-1}$ ile 128 ppm B içeren deney grubunda görülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların, B arıtımında kullanılan standart yöntemlere alternatif, yenilikçi bir bakış açısı getireceği kanısındayız.

Anahtar Sözcükler: Antioksidant enzim, Bor, Fitoremediasyon, Grafen oksit, *Lemna*.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF GRAPHENE OXIDE ON REDUCING BORON ECOTOXICITY OF SOME LEMNA SPECIES

Erhan İLTER

Department of Biology

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, August 2019

Supervisor: Doç. Dr. Harun BÖCÜK

Graphene oxide (GO) ($C_{14}O_4H_{20}O_2$) is a new, organic and carbon material that has recently been used potently in the industrial field. Studies on the using of GO during the reduction of environmental pollution by phytoremediation are quite new, due to its electrochemical properties and the advantages of providing to plants in polluted environments. Therefore, in this study, enzymatic and morphological changes of *Lemna minor* L. (Araceae) and *Lemna gibba* L. (Araceae) species under different boron concentrations depending to their interaction with GO were investigated. For this purpose, experimental plant sets having different concentrations of boron (2, 4, 8, 16, 32, 64 and 128 ppm) containing GO in a certain amount (5 mg l^{-1}) which do not cause any toxicity in plants were grown and during the experiment, both plants (B treatment amounts, number of leaves, antioxidant enzyme activities, chlorophyll and biomass amounts) and changes in the environment (pH, conductivity) were observed. According to the results, it was determined that GO particles in the environment increased B tolerance and B uptake capacity of plant species. The maximum amount of B uptake (24.63 mg l^{-1}) was observed in the experimental group containing 128 ppm B. We believe that the results obtained from this study will provide an alternative and innovative perspective to the standard methods used in B treatment.

Keywords: Antioxidant enzyme, Boron, Phytoremediation, Graphene oxide, *Lemna*.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....

Erhan İLTER

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

I hereby truthfully declare that this thesis is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “scientific plagiarism detection program” used by Eskişehir Technical University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

.....

Erhan İLTER

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve birikimlerini esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Harun BÖCÜK'e teşekkür ederim.

Tecrübesiyle yoluma ışık tutan, desteğini her fırsatta hissettiğim sayın Prof. Dr. Cengiz TÜRE'e katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında her konuda yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Gülçin IŞIK ve Anıl YAKAR'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Bugünlere ulaşmamda en büyük paya sahip olan, özverili ve fedakar aileme minnettarım.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOT	8
2.1. Bitki Örneklerinin Toplanması ve Ön Kültür İşlemi	8
2.2. Kültür İşlemi	10
2.3. Toksikite Deneyi	11
2.4. Klorofil Analizi.....	12
2.5. Enzim Aktivitesi Deneyleri	12
2.5.1. Askorbat Peroksidaz Aktivitesi (APX)	14
2.5.2. Katalaz Aktivitesi (CAT).....	14
2.5.3. Guaiakol Peroksidaz Aktivitesi (GPX)	14
2.5.4. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD)	15
2.5.5. Glutasyon Redüktaz Aktivitesi (GR).....	15
2.6. Protein Miktar Tayini	15
2.7. Bor Analizi.....	16
2.8. Adsorpsiyon Deneyi	16
2.9. İstatistiksel Analizler	17
3. BULGULAR	18
3.1 Toksikite Deneyi	18
3.1.1 Yaprak Sayısı	18
3.1.2. Nispi Gelişim Oranı (Relative Growth Rate)	26
3.2. Fitoremediasyon Çalışmaları.....	28
3.2.1. Bor Analizleri	29
3.2.2. pH ve İletkenlik Değerleri.....	34

3.3. Enzim Aktivitesi Çalışmaları.....	36
3.4. Biyomass Sonuçları	39
3.5. Klorofil Miktarları	39
3.6. Adsorpsiyon Deneyleri	40
4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER	42
KAYNAKÇA	54



TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. SIS Solüsyonu	10
Tablo 2.2. Potasyum Fosfat Tamponu	13
Tablo 3.1. <i>L. minor</i> türüne ait deney gruplarının 4 günlük deney periyodunu kapsayan pH ve iletkenlik değerleri	34
Tablo 3.2. <i>L. gibba</i> türüne ait deney gruplarının 4 günlük deney periyodunu kapsayan pH ve iletkenlik değerleri	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Türkiye Maden Haritası	4
Şekil 1.2. Hücre içerisinde yer alan antioksidant enzimlerin oksidatif strese bağlı olarak çalışma mekanizmaları ve birbirleriyle ilişkileri	7
Şekil 2.1. <i>L. minor</i> ve <i>L. gibba</i> türlerinin kültüre alınmış örnekleri	11
Şekil 3.1. Grafen Oksit içeren ve içermeyen ortamlarda artan B konsantrasyonlarına bağlı olarak <i>L. minor</i> türüne ait bitki örneklerinin deney sonunda yaprak sayılarındaki değişim	19
Şekil 3.2. <i>L. minor</i> bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda günlere göre yaprak sayısındaki değişim	20
Şekil 3.3. Artan B konsantrasyonlarına bağlı olarak <i>L. minor</i> türüne ait bitki örneklerinin yaprak sayılarının günlere göre değişimi	21
Şekil 3.4. <i>L. minor</i> bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda deney sonunda yaprak sayısındaki değişim	22
Şekil 3.5. Grafen Oksit içeren ve içermeyen ortamlarda artan B konsantrasyonlarına bağlı olarak <i>L. gibba</i> türüne ait bitki örneklerinin deney sonunda yaprak sayılarındaki değişim	23
Şekil 3.6. <i>L. gibba</i> bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda günlere göre yaprak sayısındaki değişim	24
Şekil 3.7. Artan B konsantrasyonlarına bağlı olarak <i>L. gibba</i> türüne ait bitki örneklerinin yaprak sayılarının günlere göre değişimi	25

Şekil 3.8. <i>L. gibba</i> bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda deney sonunda yaprak sayısındaki değişim	26
Şekil 3.9. <i>L. minor</i> ve <i>L. gibba</i> türlerine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda deney sonunda nispi gelişim oranları	28
Şekil 3.10. GO içeren ortamdaki ve GO bulunmayan ortamdaki bitki kökleri	29
Şekil 3.11. <i>L. minor</i> bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda deney boyunca aldıkları B miktarları	30
Şekil 3.12. <i>L. gibba</i> bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda deney boyunca aldıkları B miktarları	31
Şekil 3.13. <i>L. minor</i> türünün 4 günlük deney seti sonunda gerçekleştirdiği % artım performansı	32
Şekil 3.14. <i>L. gibba</i> türünün 4 günlük deney seti sonunda gerçekleştirdiği % artım performansı	32
Şekil 3.15. GO partiküllerinin farklı konsantrasyonlarda B içeren ortamlardaki aldıkları B miktarları	33
Şekil 3.16. <i>L. minor</i> ve <i>L. gibba</i> türüne ait deney gruplarının 4 günlük deney periyodu sonunda askorbat peroksidaz, süperoksit dismutaz, guaiakol peroksidaz, katalaz ve glutatyon redüktaz enzim aktivitelerindeki değişim	37
Şekil 3.17. <i>L. minor</i> ve <i>L. gibba</i> türlerinin yalnızca GO içeren ve GO ile birlikte farklı B konsantrasyonlarına sahip deney gruplarındaki toplam biyomas miktarları	39

Şekil 3.18. <i>L. minor</i> ve <i>L. gibba</i> türlerinin yalnızca GO içeren ve GO ile birlikte farklı B konsantrasyonlarına sahip deney gruplarındaki klorofil a, b ve a+b miktarları	40
Şekil 3.19. GO adsorpsiyonuna bağlı elde edilen Langmuir ve Freundlich izoterm denklemleri	41



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
µg	: Mikrogram
µm	: Mikrometre
µM	: Mikromolar
µs/ cm	: İletkenlik ölçü birimi
APX	: Askobat Peroksidaz
C	: Konsantrasyon (derişim)
CAT	: Katalaz
Chl a, b, a+b	: Klorofil a, b, a+b
cm	: Santimetre
DNA	: Deoksiribonükleik asit
E	: Enzim substratı için belirlenmiş katsayı
g	: Santrifüj birimi (yer çekimi)
GPX	: Guaiakol Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
gr	: Gram
GO	: Grafen oksit
kg	: Kilogram
L	: Litre
m	: Metre
M	: Molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
°C	: Santigrat derece
OECD	: Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü

ppm	: Milyonda bir kısım
RGR	: Relative Growth Rate (Nisbi büyüme oranı)
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SPSS	: İstatistik Programı
UV	: Ultra Viyole
W	: Watt



1. GİRİŞ

Günümüz dünyasında ekonomik olguların kapsam ve etkinliği baş döndürücü bir hızla büyümektedir. Bu faaliyetlerin önemli bir kısmı ya bünyesinde doğal kaynakların kullanımını ya da bu faaliyetler sonucunda ortaya çıkan atık ürünlerin doğal yapı üzerindeki etkilerini içermektedir. Geçmiş dönemlerde doğa lehine nispeten pozitif olarak kabul edilebilecek seviyede olan bu faaliyetler, günümüzde doğanın aleyhine dönmüş ve her geçen gün doğa ile antropojenik etkiler arasındaki uçurum giderek artmaktadır. Doğa ve insan faaliyetleri arasında korunması gereken bu denge bugün “ekolojik ekonomi” kavramı ile ifade edilmeye başlanmış ve ekonomik faaliyetlerin ekolojik sonuçlarının dikkate alınması gereği vurgulanmaktadır (Franco, 2018). Ekoloji kavramı toplumun tamamını kapsayan bir yapı olmasına karşın, gerekli bilincin aşılmanamaması doğada açılan yaranın gün geçtikçe büyümesine yol açmaktadır. Özellikle kontrolsüz bir şekilde çevreye salınan hammadde atıkları ve içerdikleri toksik bileşenler sucul ekosistemler başta olmak üzere canlı türlerinin tamamına yakınına tehdit etmektedir. UNESCO (2003) tarafından yayınlanan rapora göre günlük 2 milyon ton kanalizasyon, endüstriyel ve tarımsal atığın tatlı su kaynaklarına karıştığı, bu kütleinin dünya üzerinde yaşayan insanların tümünün ağırlığına eşit olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca her yıl yaklaşık olarak üretilen atık su miktarının 1,500 km³ (dünya üzerinde bulunan nehirlerdeki su kütleinin yaklaşık 6 katı) olduğu tahmin edilmektedir (UNESCO, 2003).

Çevre kirliliği en genel tanımıyla; herhangi bir kirletici tarafından doğaya salınan, insan ya da diğer canlı türlerine zarar veren kirlilik etmenleri tarafından oluşturulan ekolojik sorunlar bütünüdür. Çevre kirliliği, antropojenik sebepler sonucu olabileceği gibi doğal yollarla da gerçekleşebilmektedir (Reddy ve Appannagari, 2018). Doğal kirlilik etmenleri; deprem, sel, kasırga, volkanik faaliyetler gibi doğal olaylar sonucu meydana gelirken, antropojenik kirlilikte ise insan faktörü birincil olarak rol oynamaktadır. Deprem, sel, kasırga gibi olaylar sonucunda meydana gelen yangınlar gerek bitkisel ve hayvansal çeşitliliğin yanında mikrobiyal flora ve faunanın da yok olmasına yol açmaktadır. Öte yandan tsunami gibi doğal afetlerde ise deniz suları tatlı su kaynaklarının kirlenmesine sebep olmakta ve hektarlarca tarım arazisinin zarar görmesine sebep

olmaktadır. Ayrıca taşınan sular içerisinde bulunan petrol türevi birçok materyal de çevre kirliliğine yol açmaktadır. Örneğin, 2011 yılında Japonya’da meydana gelen deprem sonucu oluşan tsunamide yaklaşık 5 milyon ton atığın toprağa karıştığı belirlenmiştir (Murray vd., 2018). Olayın diğer bir boyutu olan antropojenik faktörler ise, doğrudan ya da dolaylı olarak insan eliyle gerçekleşen tüm kirlilik durumlarını kapsamaktadır. Özellikle bilinçsiz tarım uygulamalarına bağlı olarak gübre, herbisit ve insektisit kullanımı sonucu birçok tatlı su kaynağı doğrudan etkilenmektedir. Tarım arazilerinin %75’lik kısmının tatlı su kaynaklarına doğrudan bağlantısı olduğu düşünüldüğünde, ortaya çıkan bilanço daha net bir şekilde görülmektedir. (Harrison vd., 2019). Ayrıca kara, deniz, ve hava taşıtlarının yaydıkları zehirli gazlar ve diğer atıklar, fabrikalar ve üretim tesislerindeki toksik yan ürünler ve kullanılan karbon türevli ısı sağlayıcıların yakılması sonucu ortaya çıkan atıkların içerdikleri yüksek orandaki metal ve mineral bileşenler birçok habitatın tahrip edilmesinde rol almaktadır. Dolaylı yoldan karışan kimyasallara ek olarak birçok fabrika, atıklarını kontrolsüz bir şekilde doğrudan yeraltı suları ve yüzey sularına bırakmaktadır. UN-Water tarafından yayınlanan rapora göre, özellikle gelişmekte olan ülkelerde atık suların %70’lik kısmının hiçbir arıtım prosesine maruz bırakılmadan doğrudan su kaynaklarına karıştığı ifade edilmektedir (Anonim, 2009) . Fabrika atıklarında bulunan yüksek orandaki fosfat, azot ve diğer bileşenler plankton ve alglerin sayısında büyük bir artışa sebep olarak ötrifikasyon denilen olayın gerçekleşmesine yol açmaktadır. Bu olay ortamda bulunan oksijen miktarının azalarak birçok canlı türünün yok olmasıyla sonuçlanmaktadır.

Sanayileşen toplumlardaki artan hammadde ihtiyacı sebebiyle madensel faaliyetlerin artırılmasına bağlı olarak oluşan atıklar rehabilite edilmeden doğaya karışarak başta sucul habitatlar olmak üzere birçok canlı türünde geri dönülemez zararlara sebebiyet vermektedir. ABD’de gerçekleştirilen bir araştırmada yaklaşık olarak 500,000 terk edilmiş maden alanının doğaya zararsız hale getirilmesi için 20 milyar \$ bütçe gerektirdiği öngörülmektedir (Anonim, 2008). Ayrıca bir diğer çalışmada, Colorado-ABD’ de bulunan 23,000 terk edilmiş maden alanlarının akarsuların 2,300 km bölümünü kirlettiği ifade edilmiştir (Banks vd., 1997). Madensel faaliyetler vejetasyon ve flora üzerindeki etkiler dışında toprağın fiziksel ve kimyasal içeriği gibi birçok bileşenin değişmesine yol açarak

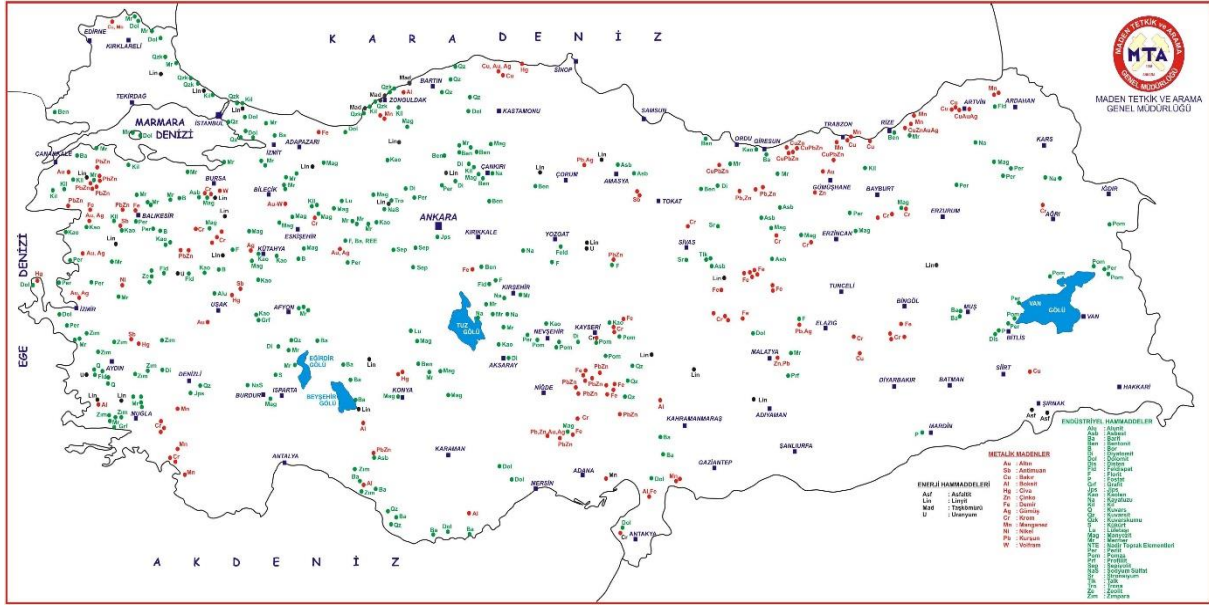
toprağın karakteristik özelliklerinin farklılaşmasına neden olmaktadır. Toprak yapısındaki bu bozulmalar nitrojen ve fosfor gibi birçok canlı için hayati öneme sahip mineral maddelerin dağılımını önemli oranda değiştirmektedir. Ayrıca düşük mineral yoğunluğu ve pH oranı ortamın asidifikasyonuna neden olarak ağır metal ve minerallerin toprağa girişini kolaylaştırmaktadır. Ek olarak bu etkiler toprakta düşük por yüzeyinin oluşmasına sebep olarak toksik bileşenlerin tutunmasına ve bu bileşenlerin sucul habitatlara taşınmasına da yol açmaktadır (Elkins vd. 1984).

Madensel faaliyetler sonucu ortaya çıkan toksik bileşenler; ağır metal ve metaloidler, organik ve sentetik boyar maddeler ile birçok kimyasal maddeyi içermektedir. Ağır metaller; yoğunluğu sudan 5 kat fazla olan metal ve metaloid bileşenleri barındıran büyük bir gruptur. Endüstri, tarım ve madensel birçok sektörde etkin bir kullanım alanına sahip olan bu maddeler yer kabuğu ve kayalar üzerinde farklı yoğunluklarda sülfür ve oksit formlarında dağılım göstermektedir. Yapılan birçok çalışmada daha yaygın kullanım alanına sahip özellikle kurşun, arsenik, bakır, krom, çinko ve kadmiyum gibi ağır metallerin toksik etkileri gösterilmiştir (Seo vd., 2017). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre özellikle adı geçen ağır metal türlerinin birçok canlı grubunun yok olmasında öncelikli olarak rol aldığı düşünülmektedir (Terrenc vd., 2012).

Ülkemiz toprakları ve bulunduğumuz coğrafya hammadde ve yeraltı kaynakları açısından büyük bir zenginliğe sahiptir. Şekil 1.1'de MTA tarafından hazırlanan haritada ülkemizde bulunan madenler ve dağılımları belirtilmiştir. 803 milyon ton ile Türkiye toplam Dünya bor (B) rezervinin yaklaşık %70'lik kısmına sahiptir. Fakat sahip olunan bu zenginlik, yanında çevre sorunlarını da beraberinde getirmektedir. Yapılan birçok çalışma madensel faaliyetler sonucu yüzey ve yeraltı sularına bor atıklarının karıştığını göstermektedir (Türker vd., 2013, 2016, 2017). Normal şartlar altında toprakta bulunan B miktarı 10-20 mg kg⁻¹ ve sularda 0,5-10 mg l⁻¹ seviyelerinde olmasına karşın B rezerv alanlarında bu seviye daha yukarılara çıkabilmektedir (Nable vd., 1997; Türe ve Bell, 2004; Böcük vd., 2013).

B doğada boraks, borik asit, boroksit ve borat formunda bulunmasına karşın yaygın bulunan formu borakstır. Madenlerden çıkarılan boraks su ile çözülerek doğaya

rahat bir şekilde karışabilen borik asit ve borat formlarına dönüştürülmektedir (Kistler ve Helvacı, 1994; Tanaka ve Fujiwara, 2008). Boraks, bu özelliği sebebiyle kontrol edilmediği takdirde kolaylıkla yeraltı ve yüzey sularına karışabilmektedir. Bu sebeple, madensel faaliyetlerin kontrol ve denetlenmesi büyük bir gereklilik arz etmektedir.



Şekil 1.1 Türkiye Maden Haritası (<http://www.mta.gov.tr/v3.0/hizmetler/maden-yataklari>)

Grafen türevli materyaller artan endüstriyel gelişmelere bağlı olarak kullanım alanları yaygınlaşan önemli bileşiklerdendir. Kontrol edilebilir bağ yapısı, yüksek mekanik ve kimyasal yetenekleri, düşük elektriksel gürültüye sahip olması, yüksek termal iletkenlik ve biyolojik geçirimsizlik yetenekleri gibi birçok özelliği sebebiyle farklı sektörde tercih edilmeye başlanmıştır. Grafen türevli malzemeler içerisinde en çok tercih edilen tür ise, grafenin fonksiyonel formu olan, yeni ve organik bir karbon materyali olan grafen oksit'tir (GO). GO ($C_{140}H_{42}O_{20}$) grafenden farklı olarak epoksi, hidroksil ve karboksil grupları bulunmaktadır ve bu gruplar sayesinde mükemmel elektrokimyasal özelliklere sahip olmaktadır. Özellikle elektronik, enerji depolanması, biyoteknoloji ve sağlık alanındaki kullanımı giderek artmakta, 2023 yılına geldiğinde ticaret hacminin 1.3 milyar \$ olacağı birçok kuruluş tarafından öngörülmektedir (Novoselov vd., 2012; Arvidsson vd., 2013; Zurutuza ve Marinelli, 2014; Jastrzębska ve Olszyna, 2015; Hu vd., 2018). Fakat bu yaygın kullanım ağı birçok tehlike ve çevre tehdidini de beraberinde getirmektedir. Son yıllarda

yapılan birçok çalışma ile grafen türevli materyallerin canlı türleri üzerindeki toksik etkileri değerlendirilmiştir (Drost vd., 2006; Tang vd., 2015; Hu vd., 2015, 2018). GO partikülleri keskin kenarlı yüzeyleri sebebiyle hücre membranlarını kolayca tahrip ederek fiziksel hasarlara yol açabilmektedir (Akhavan ve Ghaderi, 2010). Ayrıca oksidatif strese sebep olarak hücrelerarası reaktif oksijen gruplarının sayısında artışa neden olduğu ve bunun sonucunda hücrelerin apoptosize uğradığı belirlenmiştir (Wang vd., 2013). Öte yandan GO partiküllerinin hücre yüzeyini kaplayarak hücrelerarası sinyal iletimini engellediği de belirtilmektedir (Rosenstein vd., 2010). Tüm bu etkilerin ilaveten sahip olduğu karboksil, hidroksil ve epoksi grupları sebebiyle ortamda bulunan diğer toksik bileşenlerle etkileşime geçerek bu bileşiklerin etkilerinde değişikliğe yol açtığı ifade edilmektedir (D. W. Boukhvalov and M. I. Katsnelson, 2008; Tang vd., 2015). Bazı kimyasal maddelerin toksik etkilerinde azalmaya neden olduğu bazı kimyasallarda ise toksisitenin artışına yol açtığı belirlenmiştir (Hu vd., 2016; Tang vd., 2015).

Geçmişten günümüze B ve diğer kimyasal bileşiklerin zarar verici etkilerinin önlenmesinde kimyasal oksidasyon ve redüksiyon, ters ozmos, iyon değişimi, membran filtrasyonu , evaporasyon , kimyasal çöktürme , elektrodializ ve daha birçok geleneksel yöntem kullanılmıştır (Al-Qodah, 2006; Zou vd., 2013, 2013; Mahmoodi, 2015; Al-Qahtani, 2016; Tavakoli vd., 2017). Ancak bu yöntemler yüksek maliyet ve enerji ihtiyaçlarına sahip olması ve sürdürülebilirliğin düşük olması sebebiyle uygulanabilirlik açısından oldukça kısıtlı durumdadır. Öte yandan bu yöntemler sonucu meydana gelen toksik yan ürünlerin oluşturduğu kirlilik etmenlerinin çevresel etkileri göz önüne alındığında birçok yöntemin yetersiz olduğu anlaşılmaktadır. Bu sebeple sürdürülebilir, çevre dostu ve yenilikçi arıtım yöntemlerinin geliştirilmesi ekosistem güvenliği açısından büyük bir gereklilik arz etmektedir.

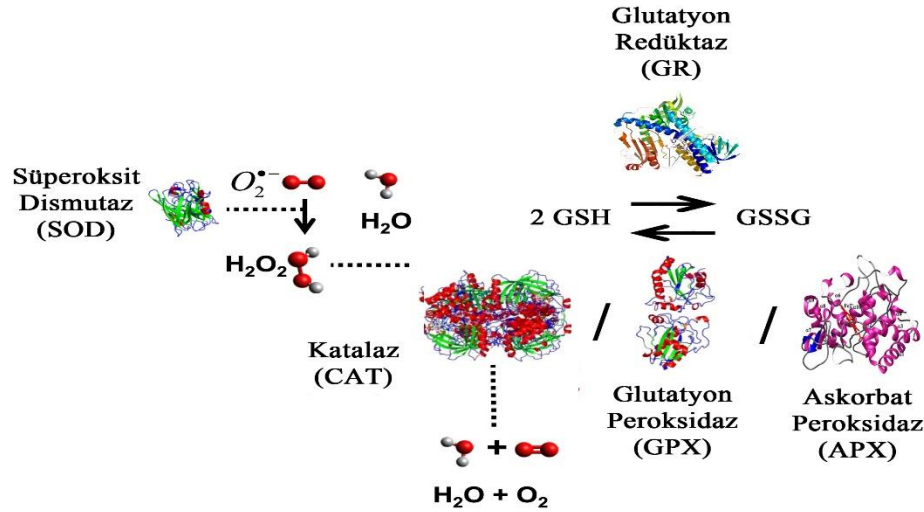
Kimyasal yöntemlerin yetersizliği, maliyetler göz önünde bulundurulduğunda arıtım teknolojilerinde çevreci ve devamlılık gerektiren biyoremediasyon yöntemlerine olan ilgi giderek artmaktadır. Biyoremediasyon en genel tanımıyla ekosistem içerisinde var olan kirletici etmenlerin herhangi bir canlı grubu kullanılarak ortamdan uzaklaştırılması prosesi olarak adlandırılabilir. Bu işlem sırasında bakteriler, funguslar ve çeşitli bitki grupları,

ortamda bulunan toksik bileşenleri absorbe ederek bünyelerinde biriktirmekte ya da savunma mekanizmaları yardımıyla zararsız bileşenlere dönüştürmektedir. (Quintella vd., 2019; Verma ve Kuila, 2019). Ancak yöntemin en büyük dezavantajı yüksek konsantrasyonlardaki toksik bileşiklerin bulunduğu ortamlarda kısıtlı canlı gruplarıyla çalışılabilmesidir. Bu sebeple toksisite direnci ve biyosorpsiyon kapasitesi yüksek bitki gruplarının kullanımı arıtım verimliliği açısından oldukça önemlidir. Seçilen canlı grubu dışında ortamın pH değeri, oksijen miktarı, sıcaklık, ışık şiddeti vb. birçok faktör arıtım değeri üzerine etki etmektedir. Ayrıca bitki gruplarının etkinliği de yöntemin başarı oranında büyük bir katkıya sahiptir (Tan vd., 2011; Van Oosten ve Maggio, 2015; Mahar vd., 2016; Cicero-Fernández vd., 2017; Sarwar vd., 2017; Seo vd., 2017;; Türker vd., 2017).

Pistia, *Ranunculus*, *Spirodela* gibi birçok bitki grubu fitoremediasyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılmasına karşın özellikle *Lemna* cinsine ait türler bu alanda en başarılı bitki grupları arasında yer almaktadır (Mandakini vd., 2016; Nassouhi vd., 2018; Ng ve Chan, 2018; Pandey vd., 2019). *Lemna* türlerinin B ve diğer toksik bileşenlerin arıtımındaki yeteneği birçok çalışmayla gösterilmiştir (Basile vd., 2015; Gür vd., 2016; Hu vd., 2018a; Liu vd., 2017; Parnian vd., 2016; Türker vd., 2017; Verma ve Suthar, 2015; Z. Zhao vd., 2017a; Zhao vd., 2014). *Lemna* türlerinin bu kadar yaygın kullanılmasının ve fitoremediasyon çalışmaları için ideal test organizması sayılmasında bu türe ait birçok özellik etkili olmaktadır. *Lemna* türleri aseksüel olarak üreyebilme, ekolojik toleransının yüksek olması sebebiyle in-vitro ortamda kolayca yetiştirilebilmesi, hızlı gelişim göstermeleri, küçük yapıda olmaları ve çevresel değişimlere çok hızlı tepki vermeleri sebebiyle fitoremediasyon çalışmalarında sıklıkla tercih edilmektedir.

Fitoremediasyon çalışmalarında yalnızca morfolojik değişimlerin gözlenmesi kullanılan bitki gruplarının arıtım mekanizması ve hayatta kalma stratejilerinin anlaşılmasında çoğu zaman yetersiz kalmaktadır. Bu sebeple, fizyolojik ve enzimatik değişimlerin saptanarak ortaya çıkan sorunların giderilmesi farklı birçok türün ortama adaptasyonuna katkı sağlayacaktır. Özellikle oksidatif strese bağlı olarak meydana gelen değişimler bitki türlerinin arıtım başarısını doğrudan etkilemektedir. Bu amaç

doğrultusunda birçok araştırmacı tarafından fitoremediasyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bitki türlerinin enzimatik değişimleri gözlenmiştir (Babić vd., 2009; Seo vd., 2017; Zhao vd., 2017). Enzimatik çalışmalarda çoğunlukla tercih edilen enzim grupları; Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz (GR) enzimleridir (Maria Sgherri vd., 1994; Yılmaz ve Parlak, 2011; Maleki vd., 2017; Hu vd., 2018). Bu enzimler birbirleriyle koordineli halde çalışarak ortaya çıkan oksidatif stres durumunun bitkiye olan zararını önlemek ya da kısmen tolere etmek için çalışırlar (Şekil 1.2). SOD enzimi, oksidatif strese bağlı olarak hücre içerisinde ortaya çıkan süperoksit moleküllerinin H_2O_2 'e dönüşümünde görev almaktadır (Hou vd., 2007). CAT, APX VE GPX enzimleri, SOD aktivitesi sonucu H_2O_2 'e dönüştürülen reaktif oksijen gruplarının (ROS) su (H_2O) ve oksijene (O_2) parçalanmasını sağlamaktadır. GR enzimi ise, oksidatif strese bağlı olarak konsantrasyonu artan okside glutatyonun (GSSG) glutatyon (GSH) a dönüşümünde görev almaktadır. Literatür kayıtları incelendiğinde GO ve diğer toksik bileşenlerin etkileşimi ile ilgili bazı çalışmalar bulunmakla birlikte GO ve B ilişkisini üzerine kurgulanmış yeterli veri bulunmamaktadır (Ma vd., 2013; Jastrzebska ve Olszyna, 2015; Tang vd., 2015; Yao vd., 2017). Bu sebeple ülkemiz için büyük bir önem arz eden B kirliliği sebebiyle çevreye yayılan B atıklarının GO ile etkileşiminin belirlenmesi büyük bir önem taşımaktadır.



Şekil 1.2. Hücre içerisinde yer alan antioksidant enzimlerin oksidatif strese bağlı olarak çalışma mekanizmaları ve birbirleriyle ilişkileri

Ayrıca fitoremediasyon çalışmalarında kullanılan *Lemna* türlerinin B ve GO bileşenlerine karşı geliştirdiği enzimatik ve fizyolojik tepkilerinin belirlenmesi, ortamdaki GO varlığının B toksisitesindeki değişimine etkisi ve adsorpsiyon potansiyelinin belirlenmesi gibi birçok parametrenin araştırılması fitoremediasyon yöntemlerinin geliştirilmesinde önemli bilgiler sağlayacaktır. Bu yüzden bu tez çalışması bünyesinde;

- Yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda *L. minor* ve *L. gibba* türlerinin hayatta kalma yeteneklerinin belirlenmesi,
- Yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren deney ortamlarında pH, iletkenlik, biomas ve nispi gelişim oranlarındaki değişimin incelenmesi,
- *L. minor* ve *L. gibba* türlerinin B ve GO+B etkileşimine bağlı olarak klorofil miktarında meydana gelen değişimlerin araştırılması,
- *L. minor* ve *L. gibba* türlerinin biyoremediasyon, biyoakümülayon ve adsorpsiyon kapasitelerinin belirlenmesi,
- *L. minor* ve *L. gibba* türlerinin yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda morfolojik değişimlerin yanısıra, oksidatif stresle yakından ilişkisi olduğu bilinen Askorbat Peroksidaz, Katalaz, Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Redüktaz ve Guaikol Peroksidaz gibi antioksidant enzimlerinin miktarlarındaki değişim incelenerek, toksisiteye bağlı meydana gelen enzim aktivitesindeki olası değişimin belirlenmesi,
- *L. minor* ve *L. gibba* türleri kullanılarak gerçekleştirilecek B arıtım sistemlerinde GO'nin potansiyel etkilerinin ve sürdürülebilir bir şekilde kullanılabilirliğinin incelenmesi,
- Langmuir ve Freundlich izoterm denklemleri ile B'un optimum adsorplanma mekanizmasının belirlenmeye çalışılması konularının araştırılması hedeflenmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Bitki Örneklerinin Toplanması ve Ön Kültür İşlemi

Bu çalışmanın temel materyalini, *L. minor* ve *L. gibba* türleri oluşturmaktadır. Bu türlere ait bitki örnekleri, Eskişehir iline bağlı Porsuk Çayı'nda yer alan farklı lokalitelerden, Temmuz-Eylül döneminde toplanmış ve kültüre alınmak üzere çalışmanın tamamının gerçekleştirildiği Eskişehir Teknik Üniversitesi Ekoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. Laboratuvara getirilen bitki örnekleri öncelikle makro düzeydeki alg ve diğer istenmeyen canlı gruplarından fiziksel olarak arındırılmıştır. Daha sonra bitki kökleri üzerine tutunmuş halde bulunan makroskobik ve mikroskobik canlıların uzaklaştırılması için % 0,5 sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisi ile birkaç kez muamele edilmiştir. Bu işlem sonrasında bitki örnekleri distile su ile yıkanarak ön kültüre alma işlemi için hazır hale getirilmiştir.

Ön kültür ve kültür işlemi sırasında SIS solüsyonu adı verilen hidroponik çözelti Tablo 2.1'de belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. Çözelti herhangi bir kontaminasyon riskine karşılık otoklav ile steril edilmiştir. Ayrıca deney sırasında kullanılacak olan tüm plastik kaplar bir gece nitrik asit içerisinde bekletilerek kapların temizliği sağlanmıştır. Her bir deney seti için en az 2 yapraktan oluşan, klorosiz ve nekrozis gibi toksik belirtilerin gözlenmediği bitki örnekleri kültür ortamı için seçilmiştir. Ek olarak ise 5W gücünde florasana ışık kaynağı tercih edilmiş ve kültür kaplarının etrafı alüminyum folyo ile kapatılarak kontrollü bir ortam sağlanmaya çalışılmıştır. Kültür periyodu ve toksisite çalışmaları OECD test protokollerine uygun olarak belirlenen standartlarda gerçekleştirilmiştir (Oecd, 2006). *L. minor* ve *L. gibba* türlerinin B alım kapasitelerini artırmak ve daha sağlıklı bireyler elde etmek için yaklaşık olarak 10 haftalık bir kültür periyodu belirlenmiştir. Bu süre içerisinde bitki türlerinde meydana gelen fizyolojik gelişimler izlenmiş ve deney sırasında meydana gelecek hataların önlenmesine çalışılmıştır. Ortam koşullarının kontrolünün sağlanması için bitki örnekleri iklimlendirme kabini içerisinde (Sanyo, MLR-350H) $25\pm 0,1$ °C sıcaklıkta ve 10000 lüks ışıkta dış ortamdan izole bir şekilde yetiştirilmiştir.

Tablo 2.1. SIS Solüsyonu

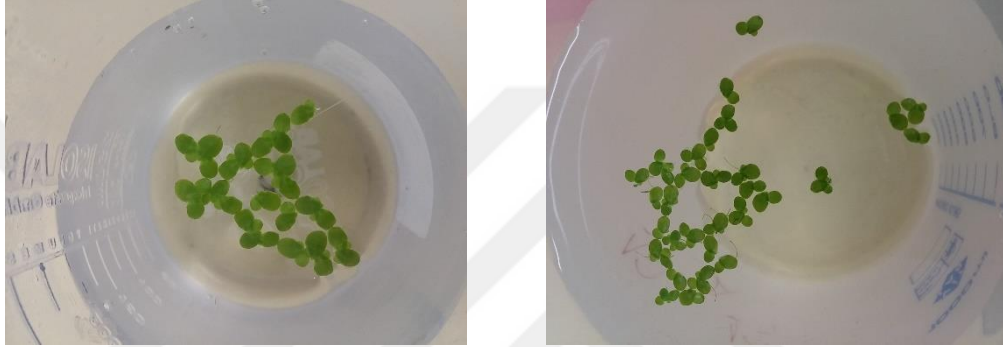
Kimyasal Adı	Konsantrasyon (g l ⁻¹)	Miktar (ml)
NaNO ₃	8.50	10
KH ₂ PO ₄	1.34	10
MgSO ₄ . 7H ₂ O	15	5
CaCl ₂ . 2H ₂ O	7.2	5
Na ₂ CO ₃	4.0	5
H ₃ BO ₃	1.0	1
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1	1
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0.2	1
ZNSO ₄ . 7H ₂ O	0.01	1
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.05	1
Co(NO ₃) ₂ . 6H ₂ O	0.005	1
FeCl ₃ . 6H ₂ O	0.17	5
Na ₂ -EDTA . 2H ₂ O	0.28	5
MOPS(buffer)	490	1

Her bir türe ait kültür örnekleri gelişimlerinin daha hızlı gerçekleştirilmesi ve solüsyon içerisindeki alg ve diğer istenmeyen canlı türlerinin uzaklaştırılması için 4 günde bir % 0,5 sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisinden geçirilerek yeni hazırlanmış SIS solüsyonu içerisine aktarılmıştır.

2.2. Kültür İşlemi

Ön kültüre alma işlemi tamamlandıktan sonra bitki örnekleri toksisite ve biyoremediasyon çalışmalarına başlanmadan önce bir haftalık bir süre boyunca sağlıklı, en az 2 yaprak içeren toplamda 30 yaprak olacak şekilde bitki örneği seçilerek 250 ml hacme sahip plastik beherler içerisine aktarılmıştır. Bu işlem ortamdaki kontaminasyonun önlenmesi için steril hava kabini (Nüve, LN 090) içerisinde gerçekleştirilmiş ve kullanılan malzemelerin tamamı deney öncesi steril edilmiştir. Daha sonra bitki örneklerini içeren beherlerin üzeri steril petri kaplarıyla kapatılmış ve parafilm yardımıyla etrafları sarılmıştır. Ön kültüre alma işleminde olduğu gibi kültür periyodu sırasında da bitki örnekleri iklimlendirme kabini içerisinde 25±0,1 °C sıcaklıkta 10000 lüks ışık altında büyütülmüştür.

Kültür periyodu sırasında kullanılan SIS solüsyonu *Lemna* türlerinin en iyi gelişim gösterdiği pH aralığı olan $7,0\pm 0,1$ seviyesine ayarlanmış ve tüm deney setlerinde bu solüsyon kullanılmıştır. Öte yandan deney koşullarını etkileyebileceği öngörülen borosilikat yapıdaki cam malzemeler yerine plastik kaplar tercih edilmiştir. Ayrıca bitki gelişiminin daha sağlıklı gerçekleşebilmesi için 250 ml hacme sahip beherler içerisine 100 ml SIS solüsyonu eklenmiştir.



Şekil 2.1. *L. minor* ve *L. gibba* türlerinin kültüre alınmış örnekleri

2.3. Toksikite Deneyi

Toksikite deneyi, her bir *Lemna* türü için ayrı kaplar içerisinde birbirlerinden bağımsız bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Deney setleri, kirlilik etmeni olarak B ve GO'ü birlikte içerecek ve ayrı olacak şekilde tasarlanmıştır. B konsantrasyonları daha önce toksik etkileri bilinen 2-128 ppm seviyeleri arasında seçilmiştir (Gür vd., 2016). GO konsantrasyonu ise *Lemna* türleri üzerine herhangi bir toksik etkiye sebep olmadığı belirlenen 5mg l^{-1} düzeyinde tercih edilmiştir (Hu vd., 2018). Deney süresi olarak ise, ortamdaki toksik bileşenlerin büyük bir kısmının alındığı 4 gün seçilmiştir (Gür vd., 2016).

Bu çalışma sırasında yalnızca B içeren farklı konsantrasyonlar (2, 4, 8, 16, 32, 64 ve 128 ppm) ve B ile birlikte 5mg l^{-1} GO içeren deney setleri kullanılmıştır. Çözeltiler borik asit solüsyonu ile hazırlandığından, deney ortamı olarak seçilen SIS solüsyonu içerisine ayrıca borik asit ilave edilmemiş ve tercih edilen konsantrasyon düzeyleri yakalanmaya çalışılmıştır. Belirlenen konsantrasyondaki B çözeltilerinin hazırlanması için 5,1749 gr borik asit 1000 ml hacimli bir kap içerisinde distile su yardımıyla çözülmüş ve 1000 ppm stok B solüsyonu elde edilmiştir. Kullanılacak tüm B konsantrasyonları bu stok çözeltinin

seyreltilmesi yoluyla elde edilmiştir. Benzer şekilde 5 mg l⁻¹ GO çözeltisi hazırlanması için de 5 mg GO 1000 ml distile su içerisinde çözülmüştür. Hazırlanan tüm stok solüsyonların pH değerleri 1N hidroklorik asit (HCl) ve 1N sodyum hidroksit (NaOH) kullanılarak 7,0±0,1 düzeyine getirilmiştir. Deneyler 3 tekrarlı şekilde hazırlanmış ve tüm ölçümler 4 gün boyunca yaklaşık aynı saatlerde kaydedilmeye çalışılmıştır.

2.4. Klorofil Analizi

Bitkideki toksik etkilerin fizyolojik yansıması olan klorozis ve nekrozise bağlı meydana gelen klorofil miktarındaki değişimin incelenmesi için, her biri 5 mg l⁻¹ GO içeren farklı B konsantrasyonlarındaki çözeltiler içerisinde yetiştirilen *L. minor* ve *L. gibba* türlerine ait bitki örneklerinin klorofil düzeyleri belirlenmiştir. Analiz için 0,25 gr taze bitki örneği (fazla suyu kurutma kâğıdı yardımıyla uzaklaştırılmış) alınarak sıvı azot (N₂) ile muamele edilerek toz haline getirilmiştir. Daha sonra 5 ml % 80 konsantrasyona sahip aseton (C₃H₆O) toz haline getirilmiş bitki örneği üzerine ilave edilir. 2 ml hacme sahip santrifüj tüplerine aktarılan karışım 15000 g hızda 5 dk boyunca +4 °C’de santrifüj edilmiştir. Ekstraktın süpernatant denilen üst kısmı klorofil analizi için kullanılmıştır. Spektrofotometre üzerinde 646,6 ve 663,6 nm dalga boylarındaki absorbans değerleri ölçülerek klorofil a, klorofil b ve klorofil a+b miktarları hesaplanmıştır (Holm, 1954; Porra vd., 1989).

$$\text{Chl a} = 12.25A_{663.6} - 2.55A_{646.6} \text{ (}\mu\text{g/ml)} \quad (2.1)$$

$$\text{Chl b} = 20.31A_{646.6} - 4.91A_{663.6} \text{ (}\mu\text{g/ml)}$$

$$\text{Chl a+b} = 17.76A_{646.6} + 7.34A_{663.6} \text{ (}\mu\text{g/ml)}$$

2.5. Enzim Aktivitesi Deneyleri

L. minor ve *L. gibba* türlerine ait bitki gruplarının yalnızca B ve GO + B içeren ortamlardaki enzimatik değişimlerin belirlenmesi amacıyla bitki savunma mekanizmalarının öncüllerinden olan askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT), guaiakol peroksidaz (GPX), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutasyon redüktaz (GR) enzimlerinin

aktivitelerindeki değişimler incelenmiştir. Başlangıçta ve 4 günlük deney süresi sonunda yukarıda belirtilen enzimlerin miktarı saptanarak bitkideki toksisitenin meydana getirdiği fizikokimyasal değişim belirlenmeye çalışılmıştır. Bu sebeple 4 günlük deney periyodu sonunda her iki türe ait bitki örnekleri hasat edilmiş ve bir kurutma kâğıdı yardımıyla fazla suyu uzaklaştırıldıktan sonra her bir deney grubundan 0,5 gr örnek alınmış ve enzimatik aktivitesinin düşmemesi için sıvı azot ile muamele edilmiştir. Örnekler, enzim deneyleri gerçekleştirilene kadar -80 °C sıcaklıkta bir haftayı geçmeyecek şekilde saklanmıştır.

Çalışılan her enzim gerekli olan bitki örneğinin hazırlanmasında kullanılan ekstraksiyon tamponu ve her enzime özel olmak üzere farklı tamponlar kullanılmıştır. Potasyum posfat tamponu hazırlanmasında 1 M K_2HPO_4 ve 1 M KH_2PO_4 çözeltileri kullanılmıştır. Kullanılacak çözelti miktarları istenilen pH seviyesine göre değişim göstermekte ve alınan miktarlar son hacim 1000 ml olacak şekilde distile su yardımıyla tamamlanmıştır (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Potasyum fosfat tamponu

pH	KH_2PO_4 (ml)	K_2HPO_4 (ml)
6.6	30.0	18.0
6.7	29.8	20.2
6.8	26.5	23.5
6.9	24.0	26.0
7.0	21.1	28.9
7.1	18.4	31.6
7.2	16.8	34.2
7.3	13.4	36.6
7.4	11.2	38.8
7.5	9.4	40.6

Ekstraksiyon tamponu içerisinde 1mM EDTA içeren 50mM konsantrasyonunda potasyum fosfat tamponu kullanılmıştır. Bu tampon üzerine %1 polyvinilprolidon (PVP) eklenerek ortamdaki proteinlerin yapılarındaki bozulmaların önlenmesi hedeflenmiştir. Ekstraksiyon işlemi için 5 ml potasyum fosfat tamponu sıvı azot yardımıyla toz haline getirilmiş bitki örneği üzerine ilave edilerek bu karışım homojenize edilir. Bu homojenattan 2 ml alınarak santrifüj tüplerine aktarılır ve karışım 20000 g hızda en az 20 dk boyunca +4

⁰C'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı bir hafta boyunca saklanarak enzim deneyleri için kullanılmıştır.

2.5.1. Askorbat Peroksidaz Aktivitesi (APX)

1 ml hacme sahip reaksiyon karışımı 50 mM potasyum fosfat tamponu, 250 µM askorbik asit, 5 mM H₂O₂ ve enzim ekstresi içerecek şekilde hazırlanmıştır. Spektrofotometre enzim içermeyen kör ile sıfırlandıktan sonra enzim örneği 290 nm dalga boyunda 3 dakika gözlemlenerek absorbanstaki azalış kayıt edilmiştir (Nakano ve Asada, 1982). Başlangıç ve bitiş değerleri arasındaki farka göre enzim aktivitesi hesaplanmıştır.

2.5.2. Katalaz Aktivitesi (CAT)

1 mL reaksiyon karışımı 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 30 mM hidrojen peroksit H₂O₂ ve enzim ektresinden oluşmaktadır (Aebi, 1984). Enzim ekstraktı içermeyen kör ile spektrofotometre sıfırlandıktan sonra 240 nm dalga boyunda örnekler okutularak 3 dakika boyunca absorbansta meydana gelen azalış takip edilmiştir. 3 dakika sonunda başlangıç ve bitiş değerleri arasındaki farka bağlı olarak enzim aktivitesi hesaplanmıştır (E=39,4 mM cm⁻¹).

2.5.3. Guaiakol Peroksidaz Aktivitesi (GPX)

Guaiakol peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi için 1 ml reaksiyon karışımı içerisinde; 25 mM Sodyum asetat-HCl tamponu (pH 5,0), 10 mM hidrojen peroksit ve 10 mM guaiakol olacak şekilde hazırlanmıştır (Razinger vd., 2007).

Sodyum asetat-HCl tamponu hazırlanması için 25mM sodyum asetat ve 25mM konsantrasyonda HCl çözeltileri ayrı ayrı hazırlanarak sodyum asetat tamponunun pH değeri hazırlanan HCl çözeltisi ile ayarlanmıştır. Benzer şekilde hidrojen peroksit ve guaiakol çözeltileri de sodyum asetat tamponuyla hazırlanmıştır. Enzim örneği içermeyen kör ile spektrofotometre sıfırlandıktan sonra 470 nm dalga boyunda 3 dakika süreyle absorbans değerinde meydana gelen artış gözlenmiştir. Başlangıç ve bitiş değerleri arasındaki absorbans farkına bağlı olarak enzim aktivitesindeki değişim miktarı hesaplanmıştır (E=26.6 mM cm⁻¹).

2.5.4. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD)

Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesinde diğer enzimlerde olduğu gibi ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon tamponu olarak ise askorbat peroksidaz ve katalaz enzimlerindeki potasyum fosfat tamponu kullanılmasına karşın diğerlerinden farklı olarak pH değeri 7,8 olarak ayarlanmıştır. 3 ml reaksiyon ortamı 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,8), 13 mM metiyonin, 75 µM NBT (Nitroblue tetrazolium), 0,1 mM EDTA ve 2 µM riboflavin karışımından oluşmaktadır (C Beauchamp ve Fridovich, 1971). Reaksiyonun başlaması için ortama en son riboflavin eklenmiştir. Tüm örnekler ve körden oluşan deney seti bir kap içerisinde bekletilerek enzim miktarındaki değişime bağlı olarak mor rengin oluşması sağlanmıştır. Daha sonra kap içerisinden çıkarılan örnekler spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek enzim aktivitesindeki değişim hesaplanmıştır ($E = 0,0436 \text{ mM cm}^{-1}$).

2.5.5. Glutatyon Redüktaz Aktivitesi (GR)

Glutatyon redüktaz enzim aktivitesindeki değişimin ölçülmesinde reaksiyon tamponu olarak 50 mM Tris-HCl pH 7,6 kullanılmıştır. Bu tamponun hazırlanması için 50 mM Tris tamponu hazırlanmış ve pH değeri 50 mM HCl çözeltisiyle ayarlanmıştır. 1 ml reaksiyon ortamı 50 mM Tris-HCl (pH 7,6), 1 mM GSSG, 0.25 mM NADPH, 0.5 mM EDTA ve enzim ekstraktı içerecek şekilde hazırlanmıştır (Sgherri vd. 1994). Diğer enzim aktivitelerinde olduğu gibi kör ile spektrofotometre sıfırlanarak 340 nm dalga boyunda 3 dakika boyunca absorbanstaki azalış kayıt edilmiştir. Başlangıç ve bitiş değerleri arasındaki farka bağlı olarak aktivite miktarı hesaplanmıştır ($E = 6.22 \text{ mM cm}^{-1}$).

2.6. Protein Miktar Tayini

Bitki örneklerindeki protein miktarının belirlenmesinde Bradford yöntemi tercih edilmiştir (Bradford, 1976). Bu yöntemde protein miktarı bilinen örneklerin absorbans değerlerine göre öğrenilmek istenen örneklerin protein miktarları belirlenmektedir. Bu amaçla protein kaynağı olarak Bovin Serum Albumin (BSA) içeren farklı konsantrasyonlardaki protein örnekleri hazırlanmış ve absorbans değerleri kayıt edilmiştir.

Reaksiyon için 50 ml protein ekstraktı, 450 ml saf su ve 500 ml Coomassie Brilliant Blue boyası karıştırılarak 15 dk boyunca oda sıcaklığında inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örnekler spektrofotometre yardımıyla 595 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek standart grafik eğrisi ve grafik denklemi elde edilmiştir. Daha sonra bu denklem yardımıyla miktarı bilinmeyen örneklerin absorbans değerleri ölçülerek protein miktarları belirlenmiştir.

2.7. B Analizi

Toksisite ve biyoremediasyon deneyleri sonucunda elde edilen örneklerin B miktarları karmin metoduna göre gerçekleştirilmiştir (College vd., 1959). Bu yöntemde 1 ml su örneği alınarak üzerine 2 damla derişik HCl eklenmiştir. Daha sonra 10 ml derişik sülfürik asit (H₂SO₄) eklenerek karışımın soğuması için bir süre beklenmiştir. Soğuyan örneklere karmin ve sülfürik asitten (H₂SO₄) oluşan bir karışım ilave edilerek yaklaşık 1 saat renk değişiminin oluşması için beklenmiştir. Örneklerin içerdiği B miktarına bağlı olarak meydana gelen kırmızı ve mor renk gözlendikten sonra spektrofotometre ile 585 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. İçerdiği B miktarı bilinen standart çözeltilerin absorbans değerleri kayıt edilerek standart grafik ve grafik denklemi elde edilmiştir. Bu grafiğe bağlı olarak miktarı bilinmeyen örneklerin B miktarları saptanmıştır.

2.8. Adsorpsiyon Deneyi

Bitki örnekleri tarafından adsorplanan B miktarlarının belirlenmesi için 100 ml hacimli 40 ml 5 mg l⁻¹ konsantrasyona sahip GO solüsyonu ve farklı konsantrasyonlardaki (2, 4, 8, 16, 32 mg l⁻¹) B çözeltileri kullanılmıştır. 2 saatlik deney süresi sonunda hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki B çözeltilerinden örnekler alınarak B miktarları karmin yöntemiyle saptanmıştır (College vd., 1959).

Langmuir ve Freundlich denklemleri ; (2.3)

$$q_e = \frac{q_m \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad q_e = K_f \cdot C_e^{\frac{1}{n}}$$

q_e = adsorbentin adsorpsiyon kapasitesi (mg/g)

q_m = adsorbentin maksimum adsorplama kapasitesi (sabit)

K_L = Langmuir adsorpsiyon sabiti

C_e = Adsorbentin(adsorplanan maddenin) denge anındaki (adsorplanmadan kalan) derişimi (mg/L, mol/L)

K_f = Freundlich sabiti

n : sabittir ($n > 1$)

2.9. İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiki hesaplamaları SPSS v21.00 aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Veriler analizlerden önce normallik testlerine sokulmuş ve ihtiyaç halinde transforme edilmiştir. Daha sonra analizler, 0,05 alfa düzeyinde gerçekleştirilmiştir.

- GO içeren ve içermeyen ortamlarda yer alan bitki örneklerinin yapraklarının sayısının karşılaştırılması sırasında *One-Way ANOVA* programı ve *Schfee/Tamhane* post-hoc testi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Ön kültür işlemi sonrasında elde edilen sağlıklı bitki örnekleri seçilerek kültüre alma aşamasına geçilmiştir. Deneyin bu aşamasında bitki köklerinde meydana gelen yosunların önlenmesi için bitki örnekleri % 0,5 sodyum hipoklorit çözeltisinden geçirilerek yeni SIS solüsyonu içerisine aktarılmış ve bu yöntemle bitki köklerinde yosunlanma oluşması engellenmiştir. Daha sonra deneyin bir sonraki aşaması olan toksisite çalışmalarına geçilmiştir.

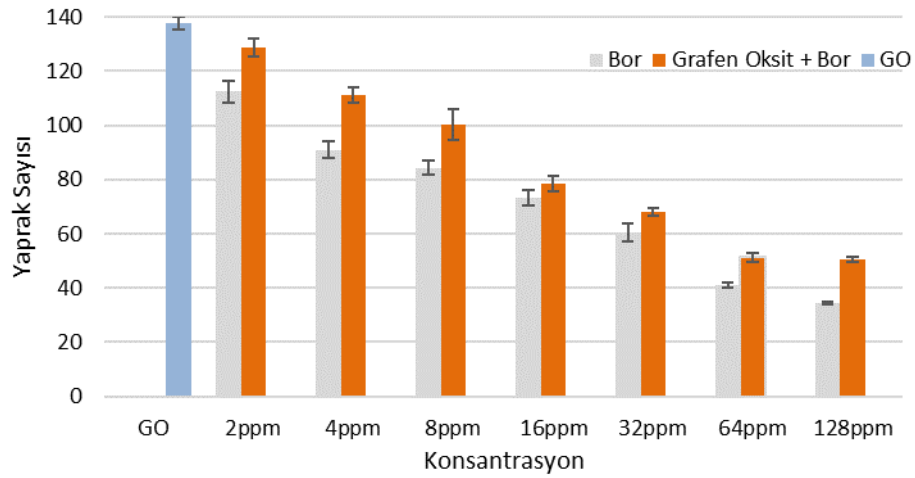
3.1. Toksikite Deneyi

Toksikite çalışmaları sonucunda elde edilen verilere göre her biri 5 mg/l⁻¹ GO içeren farklı B konsantrasyonlarına sahip deney gruplarında meydana gelen morfolojik ve fizyolojik gelişmeler belirlenmiştir. Bu kapsamda farklı deney setlerindeki iki farklı türe ait örneklerin yaprak sayıları ve toksisiteye bağlı meydana gelen yaprak morfolojisindeki değişiklikler (Şekil 3,1, Şekil 3,2, Şekil 3,3, Şekil 3,4, Şekil 3,5, Şekil 3,6, Şekil 3,7, Şekil 3,8) belirlenmiştir. Şekil 3.9'da ise, GO içeren ve içermeyen ortamlarda bulunan her iki türe ait bitki örneklerinin nispi gelişim oranları verilmektedir. Ayrıca Şekil 3,10'da GO içeren ve içermeyen ortamdaki bitki köklerinin makroskobik görüntüsü yer almaktadır.

3.1.1. Yaprak Sayısı

Bu bölümde yapılan çalışmalarla ilgili veriler sunulurken önce *L. minor*, sonra ise *L. gibba* ile ilgili veriler sunulmuştur. Şekil 3.1'de, 4 gün süren deney süresi sonunda *L. minor* türüne ait bitki örneklerinin sadece B ve B+GO içeren ortamlardaki yaprak sayısının değişimi özetlenmektedir. GO içeren ve içermeyen her iki deney setinde de, artan B konsantrasyonuna başka bir ifade ile toksisiteye bağlı olarak yaprak sayısının azaldığı görülmektedir. En fazla yaprak sayısı her iki deney grubunda da 2 ppm seviyesinde gerçekleşmiştir. Yalnızca 2 ppm B içeren deney setinde tespit edilen yaprak sayısı 112,6±9,7 iken, yalnızca GO içeren deney grubunda 137,6±2,4 ve GO+2 ppm B içeren deney setinde ise 128,6±3,2 olarak belirlenmiştir. En az yaprak sayısı ise yalnızca 128 ppm B içeren deney setinde 34,3±0,47, GO+128 ppm B içeren deney setinde ise 50,3±0,9 olarak belirlenmiştir. GO içermeyen deney grupları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında ise 2

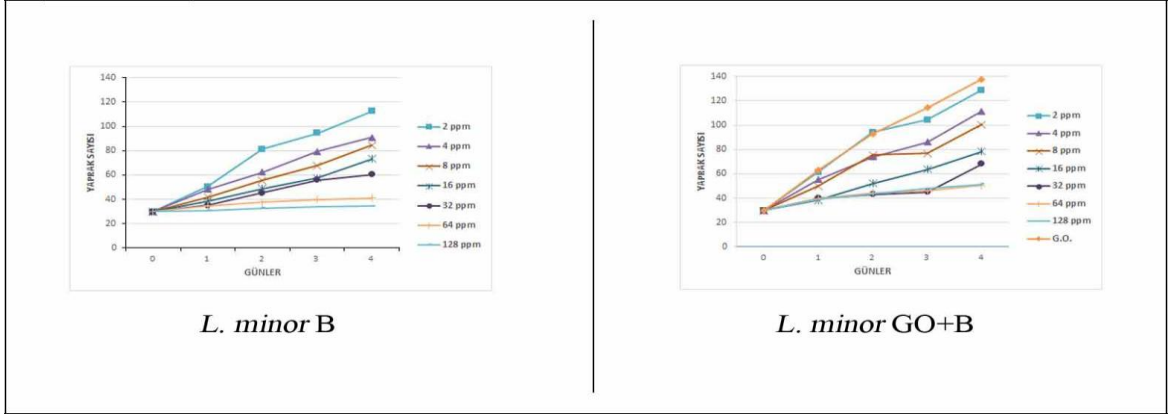
ppm B içeren grup ile 4 ppm B içeren grup arasında yaprak sayıları açısından herhangi bir farkın olmadığı ($p < 0,05$), diğer gruplarla arasındaki farkların ise anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p > 0,05$). GO içeren deney grupları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında sadece GO içeren grup ile GO + 2 ppm B içeren deney grubunda tespit edilen yaprak sayılarında istatistiksel olarak fark bulunmazken ($p > 0,05$), bu gruplarla diğer grupların arasındaki farkın ise anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Hem şekilde hem de istatistiksel analiz sonuçlarında görüldüğü gibi, tüm konsantrasyonlarda GO içeren deney gruplarında yaprak sayısının sadece B içeren gruplara göre daha fazla olduğu, başka bir ifade ile GO'nun B toksisitesine karşı bitkiyi bir noktaya kadar desteklediği görülmektedir.



Şekil 3.1. Grafen Oksit içeren ve içermeyen ortamlarda artan B konsantrasyonlarına bağlı olarak *L. minor* türüne ait bitki örneklerinin deney sonunda yaprak sayılarındaki değişim

Şekil 3.2. ve Şekil 3.3'de *L. minor* türüne ait bitki örneklerinin sadece farklı konsantrasyonda B içeren ortamlardaki ve her biri 5 mg l^{-1} GO ile birlikte farklı konsantrasyonda B içeren ortamlardaki yaprak sayısının günlere göre değişimi verilmektedir. Şekillerde de görüldüğü gibi tüm deney gruplarında yaprak sayısındaki artış ilk iki günde en üst seviyelerdedir. Gün sayısındaki artışa bağlı olarak yaprak sayılarının da arttığı ancak bu artışın B konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak daha az oranda gerçekleştiği görülmektedir. GO içeren deney gruplarındaki yaprak sayısı diğer gruplara oranla farklılık göstermektedir. Özellikle 64 ppm ve 128 ppm gibi yüksek B düzeyine sahip

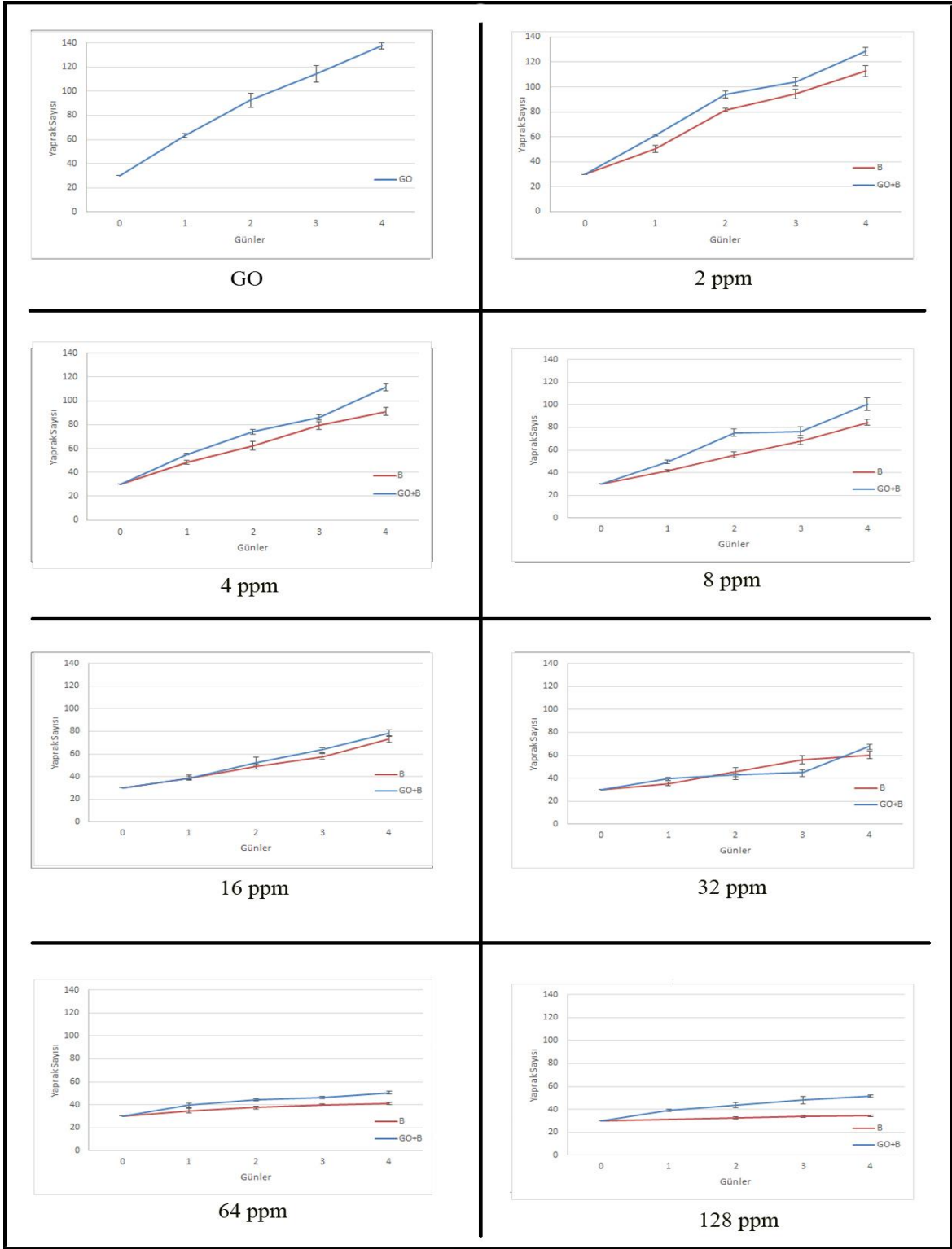
gruplarda yalnızca B içeren deney setlerinin toksisiteye daha fazla maruz kaldıkları açıkça görülmektedir.



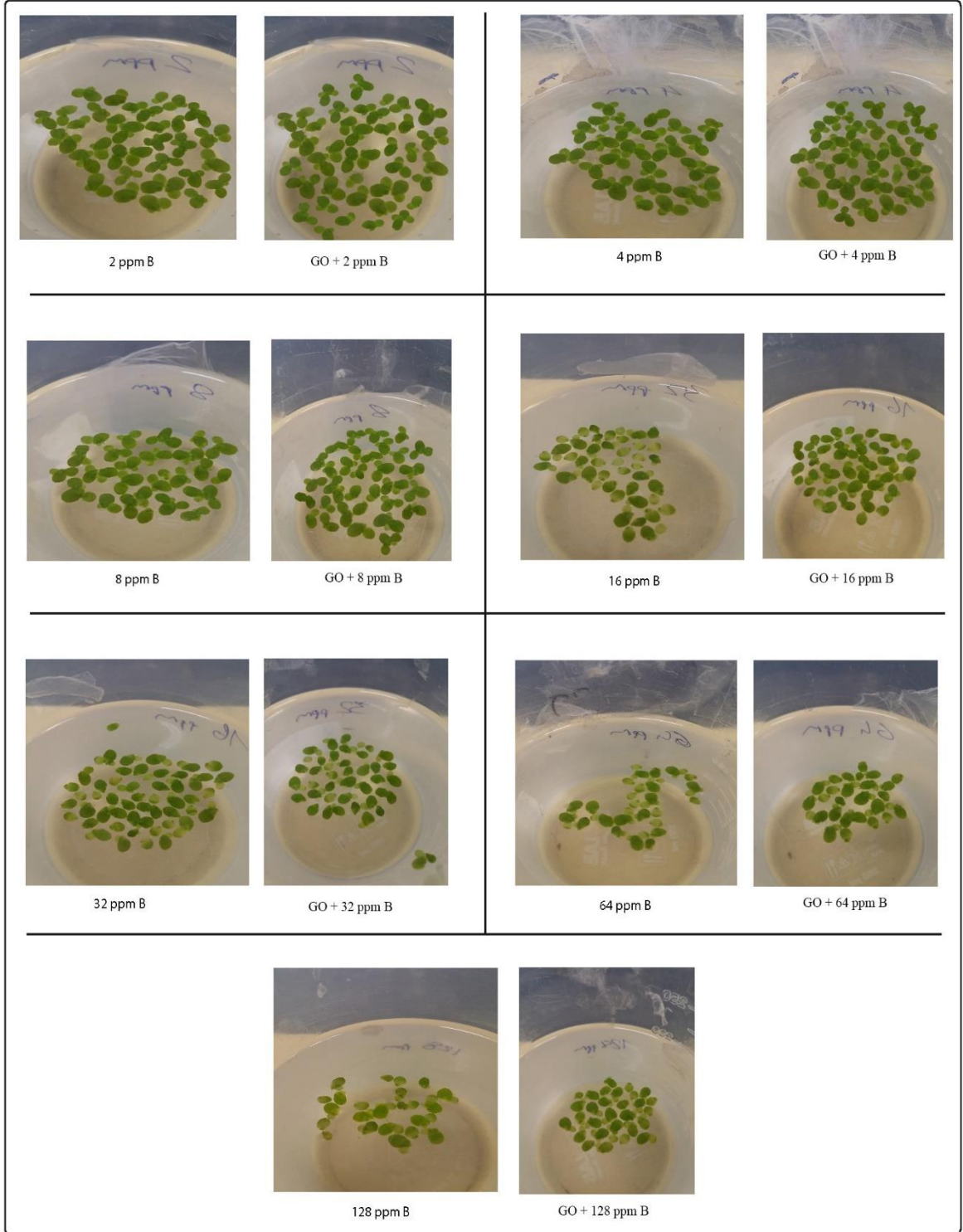
Şekil 3.2. *L. minor* bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda günlere göre yaprak sayısındaki değişim

Şekil 3.4'te grafiklerle özetlenmeye çalışılan sadece artan konsantrasyonlarda B içeren ortamlarla, aynı B konsantrasyonlarına sahip her biri 5 mg/l GO içeren ortamlarda gelişen *L. minor* bitki türünün yapraklarına ilişkin görseller verilmektedir. Artan B konsantrasyonlarına bağlı olarak, *L. minor* türüne ait bitki örneklerinin yaprak sayısındaki düşme açıkça görülmektedir.

Şekil 3,5'de, 4 gün süren deney süresi sonunda *L. gibba* türüne ait bitki örneklerinin sadece B ve B+GO içeren ortamlardaki yaprak sayısının değişimi özetlenmektedir. GO içeren ve içermeyen her iki deney setinde de, 8 ppm B seviyesinde kadar yaprak sayılarında artış olurken, 16 ppm seviyesinden itibaren tekrar azalmakta ve 128 ppm seviyesinde en düşük sayıya ulaşmaktadır. Sadece GO içeren deney grubunda yaprak sayısı en düşük değerindedir ve $131 \pm 2,4$ olarak belirlenmiştir. Bu gruptan sonra en fazla yaprak sayısı ise her iki deney grubunda da 8 ppm seviyesinde gerçekleşmiştir. Bu *L. gibba* türünün, *L. minor* türüne göre toksisite etkilerine karşı biraz daha dayanıklı olduğunu göstermektedir. En fazla yaprak sayısının tespit edildiği yalnızca 8 ppm B içeren deney setinde yaprak sayısı $122,3 \pm 3,3$ iken, GO+8 ppm B içeren deney setinde ise $128,3 \pm 6,5$ olarak belirlenmiştir. En az yaprak sayısı ise yalnızca 128 ppm B içeren deney setinde $72,6 \pm 3,09$,

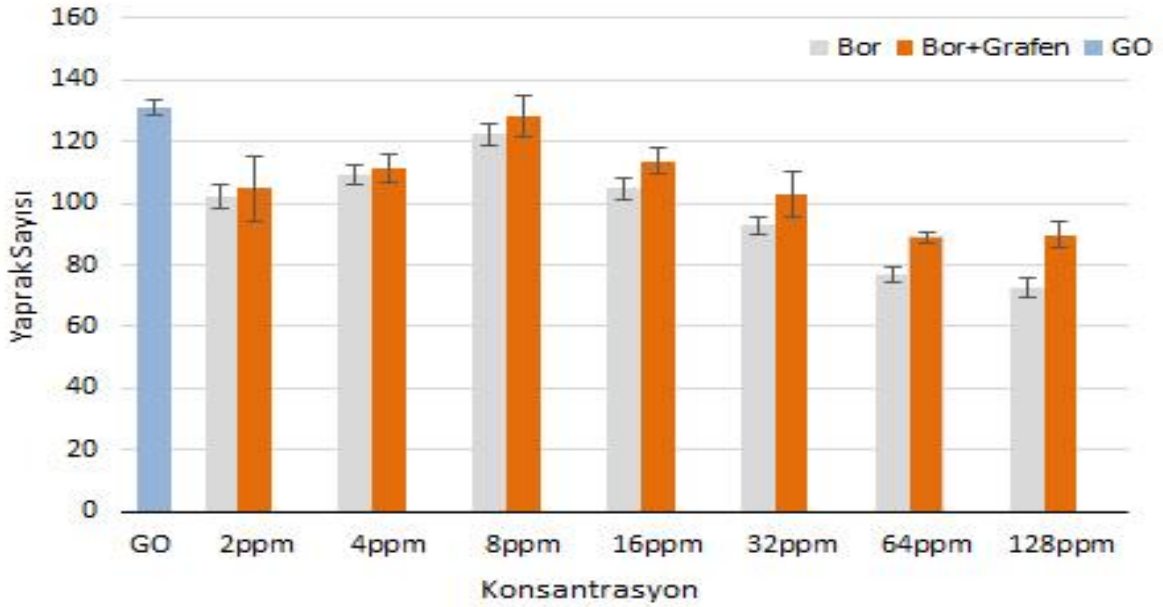


Şekil 3.3. Artan B konsantrasyonlarına bağlı olarak *L. minor* türüne ait bitki örneklerinin yaprak sayılarının günlere göre değişimi



Şekil 3.4. *L. minor* bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda deney sonunda yaprak sayısındaki değişim

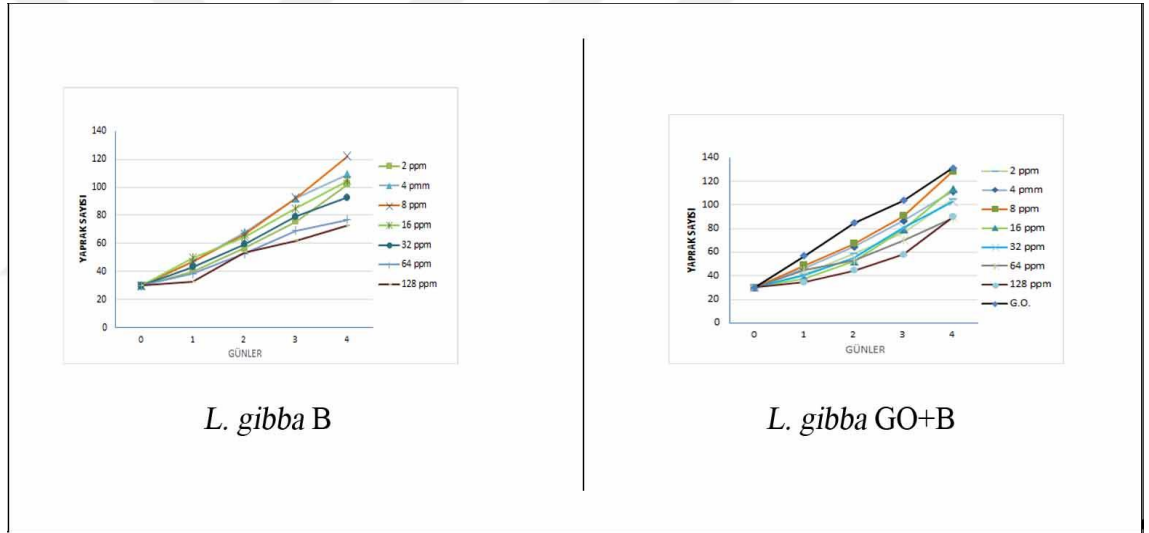
GO+128 ppm B içeren deney setinde ise $89,6 \pm 4,1$ olarak belirlenmiştir. GO içermeyen deney grupları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında ise 2 ppm B içeren grup ile 4 ppm B, 16 ppm B ve 32 ppm B içeren gruplar arasında yaprak sayıları açısından herhangi bir farkın olmadığı ($p < 0,05$), diğer gruplarla arasındaki farkların ise anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p > 0,05$). GO içeren deney grupları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında sadece GO içeren grup ile GO+4 ppm B, GO+8 ppm B ve GO+16 ppm B içeren deney gruplarında tespit edilen yaprak sayıları arasında istatistiksel olarak fark bulunmazken ($p > 0,05$), diğer gruplarla arasındaki farkın ise anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Hem şekilde hem de istatistiksel analiz sonuçlarında görüldüğü gibi, tüm konsantrasyonlarda GO içeren deney gruplarında yaprak sayısının sadece B içeren gruplara göre daha fazla olduğu, başka bir ifade ile GO'nun B toksisitesine karşı bitkiyi bir noktaya kadar desteklediği görülmektedir.



Şekil 3.5. Grafen Oksit içeren ve içermeyen ortamlarda artan B konsantrasyonlarına bağlı olarak *L. gibba* türüne ait bitki örneklerinin deney sonunda yaprak sayılarındaki değişim

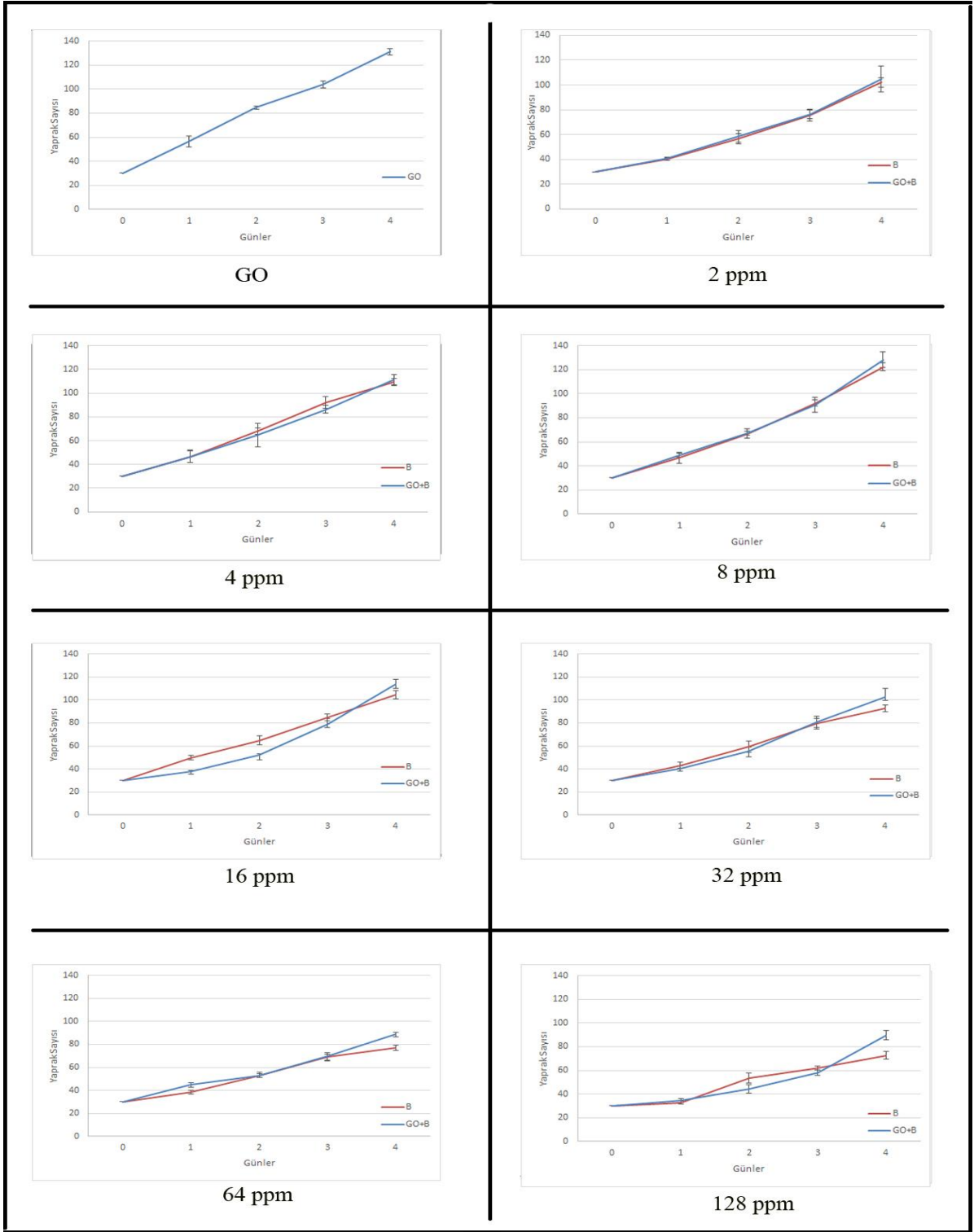
Şekil 3.6. ve Şekil 3.7'de *L. gibba* türüne ait bitki örneklerinin sadece farklı konsantrasyonda B içeren ortamlardaki ve her biri 5 mg l^{-1} GO ile birlikte farklı konsantrasyonda B içeren ortamlardaki yaprak sayısının günlere göre değişimi verilmektedir. Şekillerde de görüldüğü gibi tüm deney gruplarında yaprak sayısındaki artış

ilk iki günde en üst seviyelerdedir. Gün sayısındaki artışa bağlı olarak yaprak sayılarının da arttığı ancak bu artışın B konsantrasyonundaki artışa bağlı özellikle 8 ppm'den itibaren daha az oranda gerçekleştiği görülmektedir. GO içeren deney gruplarındaki yaprak sayısı içermeyen gruba oranla olumlu yönde farklılık göstermektedir. Özellikle 64 ppm ve 128 ppm gibi yüksek B düzeyine sahip gruplarda yalnızca B içeren deney setlerinin toksisiteye daha fazla maruz kaldıkları açıkça görülmektedir. B'a karşı daha dirençli olduğu tespit edilen *L. gibba* türünün GO bulunan deney gruplarında bu direncinin daha da arttığı ve GO içermeyen gruplara oranla daha fazla yaprak sayısı ürettiği görülmektedir.

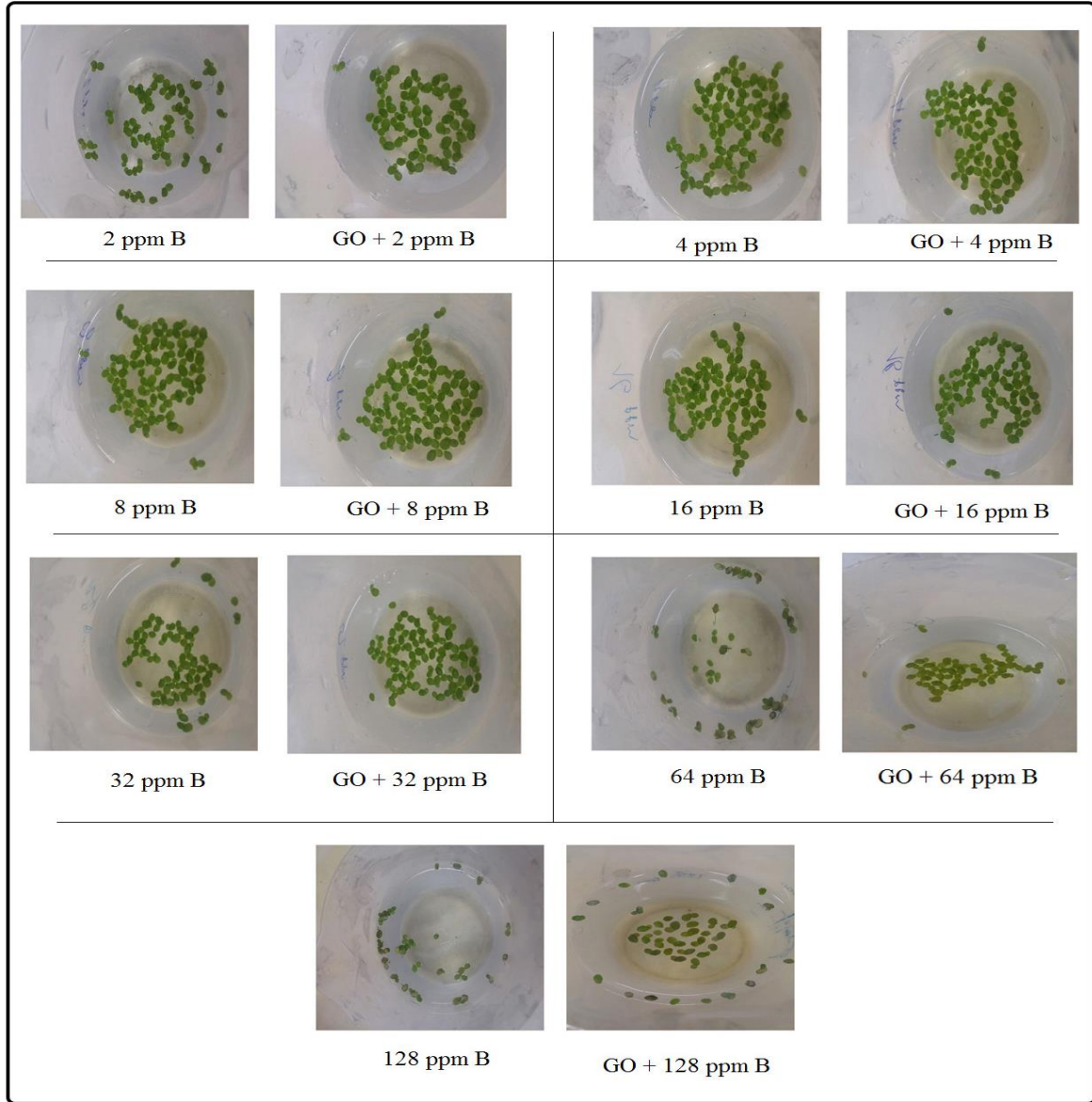


Şekil 3.6. *L. gibba* bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda günlere göre yaprak sayısındaki değişim

Şekil 3,8'de yukarıda grafiklerle özetlenmeye çalışılan sadece artan konsantrasyonlarda B içeren ortamlarla, aynı B konsantrasyonlarına sahip her biri 5 mg/l GO içeren ortamlarda gelişen *L. gibba* bitki türünün yapraklarına ilişkin görseller verilmektedir. Artan B konsantrasyonlarına bağlı olarak, *L. gibba* türüne ait bitki örneklerinin yaprak sayısı 8 ppm seviyesine kadar artmakta ve sonrasında ise yaprak sayısında yaşanan düşme açıkça görülmektedir.



Şekil 3.7. Artan B konsantrasyonlarına bağlı olarak *L. gibba* türüne ait bitki örneklerinin yaprak sayılarının günlere göre değişimi



Şekil 3.8. *L. gibba* bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda deney sonunda yaprak sayısındaki değişim

3.1.2. Nispi Gelişim Oranı (Relative Growth Rate)

Farklı konsantrasyonda B içeren ortamlar ve her biri 5 mg l⁻¹ GO ile birlikte farklı konsantrasyonda B içeren ortamlara maruz bırakılan deney gruplarındaki bitki örneklerinin nispi gelişim oranları aşağıda verilen formüle göre (3.1) hesaplanmıştır (Evans, 1972; Hunt, 1982)

$$\mu_{x-y} = \frac{\ln(N_y) - \ln(N_x)}{t_j - t_x} \quad (3.1)$$

μ_{x-y} : Belirlenen aralıktaki nispi büyüme oranı

N_x : x zamanında gözlenen yaprak sayısı

N_y : y zamanında gözlenen yaprak sayısı

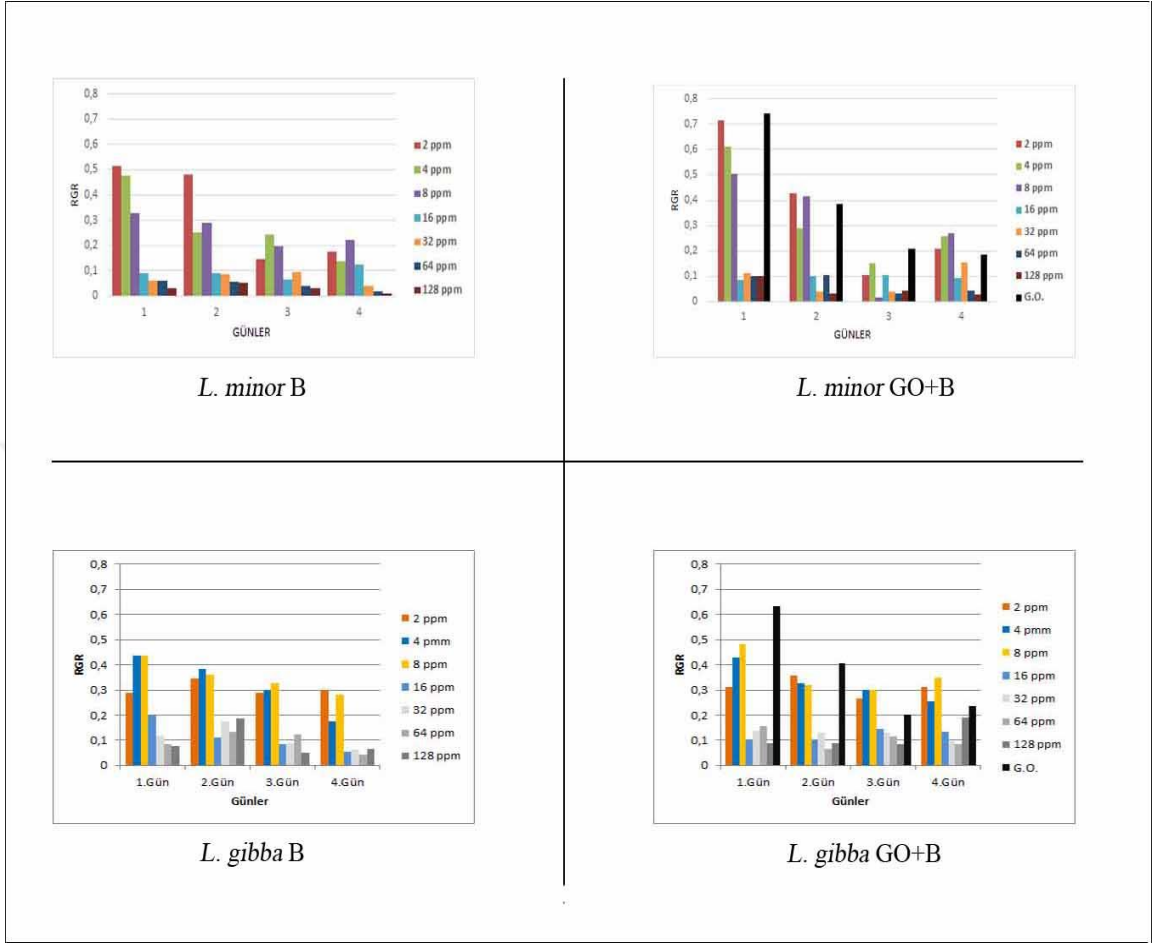
t_x : Başlangıç zamanı (gün)

t_j : Bitiş zamanı (gün)

4 günlük deney süreci boyunca *L. minor* ve *L. gibba* türlerine ait nispi gelişim oranları incelendiğinde, tüm deney gruplarında nispi gelişim oranının en fazla olduğu günün ilk iki olduğu görülmektedir. İkinci günden sonra bitkilerdeki gelişim oranının düştüğü ve yaprak sayılarındaki artışın azalmaya başladığı belirlenmiştir (Şekil 3.9).

L. minor türüne ait deney grupları incelendiğinde en yüksek nispi gelişim oranı yalnızca GO içeren deney grubunda (0,7418) gözlenmiş ve bu oranı 0,7115 ile 2 ppm B+GO deney grubunun takip etmiştir. Ancak B konsantrasyonu daha fazla arttıkça nispi gelişim oranlarının düşüş gösterdiği görülmektedir. Ek olarak çalışılan en yüksek iki konsantrasyon olan 64 ppm ve 128 ppm deney gruplarında, GO içeren ve içermeyen grupların nispi gelişim oranlarının sırasıyla 64 ppm'de 0,100-0,062, 128 ppm'de ise bu farkın daha da açılarak 0,099-0,033 olduğu gözlenmektedir. Ayrıca benzer sonuçlar tüm GO içeren deney gruplarında da tespit edilmiştir. Benzer şekilde *L. gibba* türünü içeren deney gruplarında da en fazla nispi gelişim oranı 0,632 değeri ile GO içeren deney setinde gözlenmiştir.

En az gelişim ise beklendiği üzere en yüksek B konsantrasyonu olan 128 ppm B'a sahip olan deney setinde (0,065) gözlenmiştir. Her iki bitki grubunda da artan B konsantrasyonuna bağlı olarak nispi gelişim düzeylerinin azalma gösterdiği ve bu değişimin ortamda bulunan GO ile yakından ilişkisi olduğu gözlenmektedir.

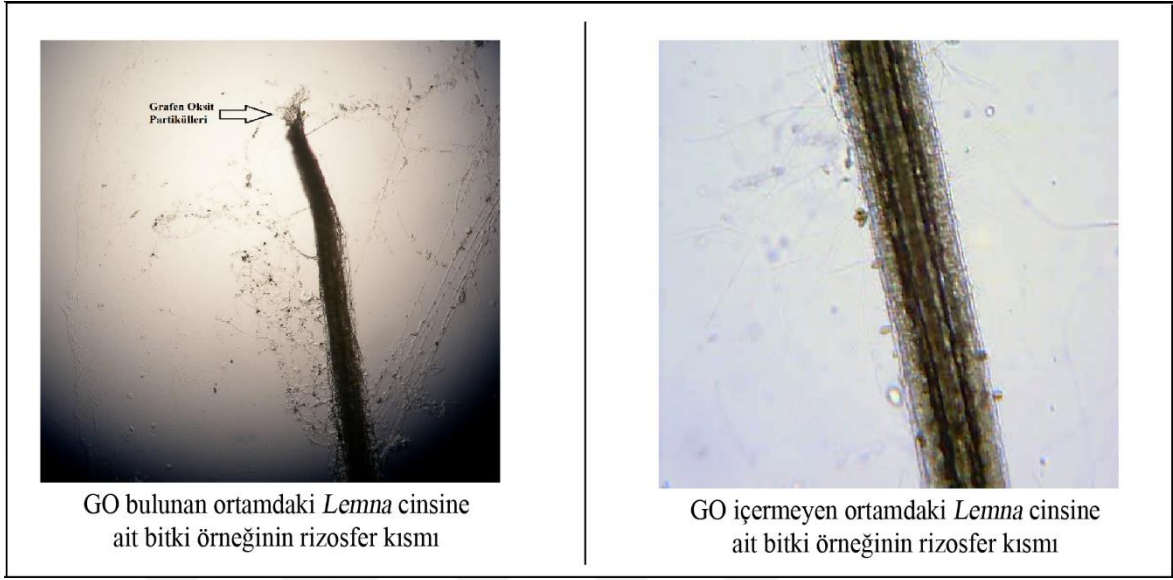


Şekil 3.9. *L. minor* ve *L. gibba* türlerine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda deney sonunda nispi gelişim oranları

Şekil 3.10’da yer alan görselde, GO partiküllerinin bitki köklerinin etrafını sararak ortamda yer alan B ile birlikte oluşturduğu partiküller görülmektedir. Bu partiküller GO içermeyen ortamda gözükmemektedir.

3.2. Fitoremediasyon Çalışmaları

Toksisite çalışmalarının tamamlanmasının ardından, ortamda bulunan B miktarı ve bitki gruplarının arıtım performansları değerlendirilmiştir. Ayrıca B alınımına bağlı olarak pH, iletkenlik gibi çevre faktörlerinin değişimleri de gözlenmiştir. 4 günlük deney periyodu boyunca her gün tüm deney gruplarından su örneği alınmış ve içerdikleri B miktarları hesaplanmıştır.



Şekil 3.10. GO içeren ortamdaki ve GO bulunmayan ortamdaki bitki kökleri

3.2.1. Bor Analizleri

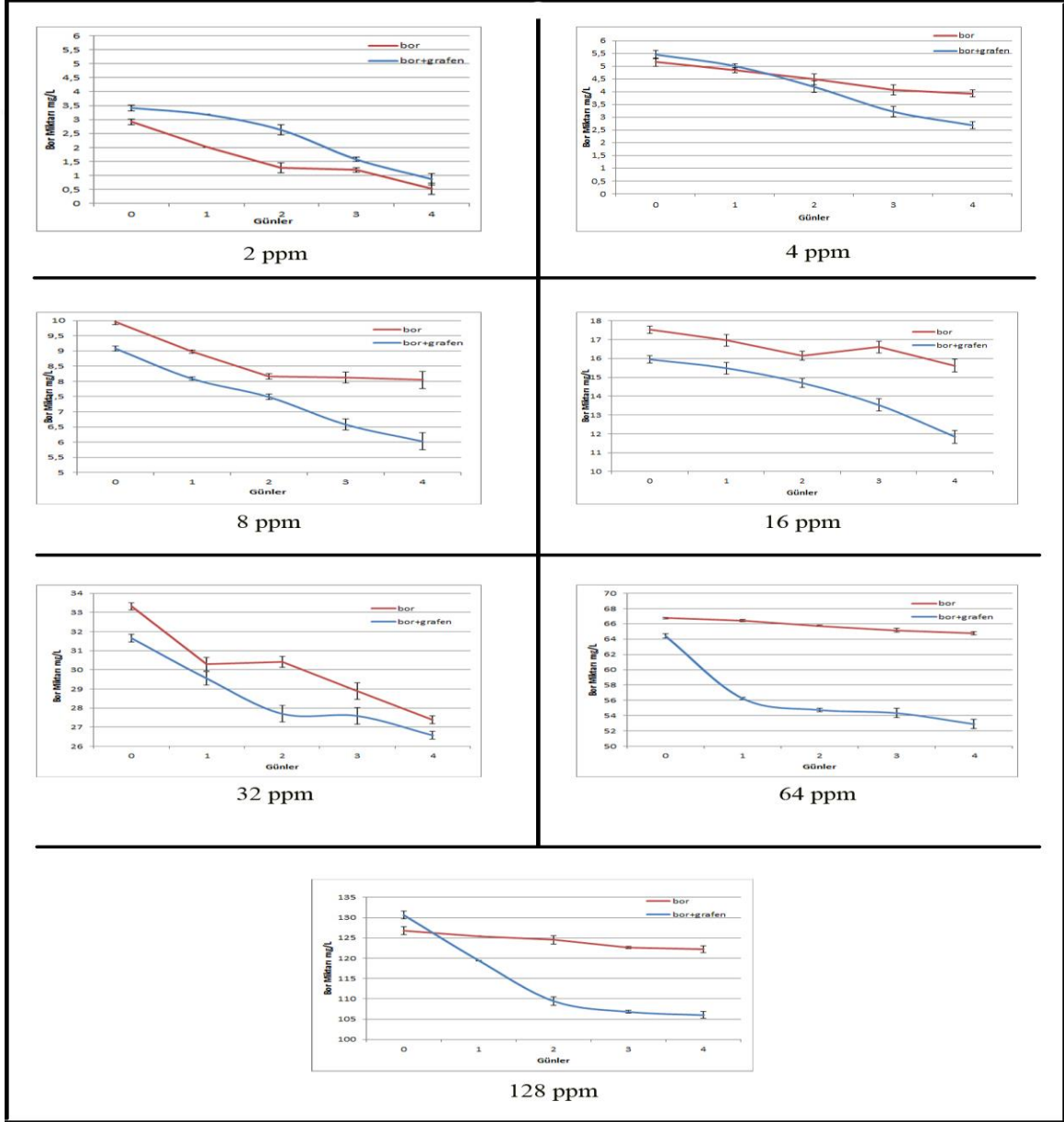
Biyoremediasyon deneyleri sonucunda elde edilen verilere göre *L. minor* ve *L. gibba* türlerinin B artım sonuçları Şekil 3.11 ve Şekil 3.12’de, % artım performansları ise Şekil 3.13 ve Şekil 3.14’de, GO partiküllerinin B alım miktarları ise Şekil 3.15’de belirtilmiştir.

L. minor türünün çalışıldığı deney gruplarında en yüksek B artım değerinin 24,632 mg l⁻¹ ile 128 ppm B+GO setinde gerçekleştiği görülmüştür. Fakat GO içermeyen 128 ppm B setinde ise artım miktarının 4,564 mg l⁻¹ seviyesinde kaldığı tespit edilmiştir. Meydana gelen bu farklılığın hem birey sayısındaki değişime hem GO varlığına bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir.

Ayrıca tüm deney setlerinde artım miktarlarının ikinci günden itibaren azalma eğilimi gösterdiği ve bitki bünyesine alınan B’un büyük bir çoğunluğunun ilk iki günde alındığı belirlenmiştir. Öte yandan ortamda bulunan GO’in bitkide B alınımı üzerine pozitif etkilere yol açtığı ve bitkiyi B toksisitesinden koruduğu da anlaşılmaktadır. Özellikle 16 ppm ve üzerindeki B içeren deney gruplarında GO bulunan gruplar ile bulunmayan grupların artım performanslarında ciddi bir farklılık olduğu görülebilir. Ek olarak 2 ppm, 4 ppm ve 8 ppm

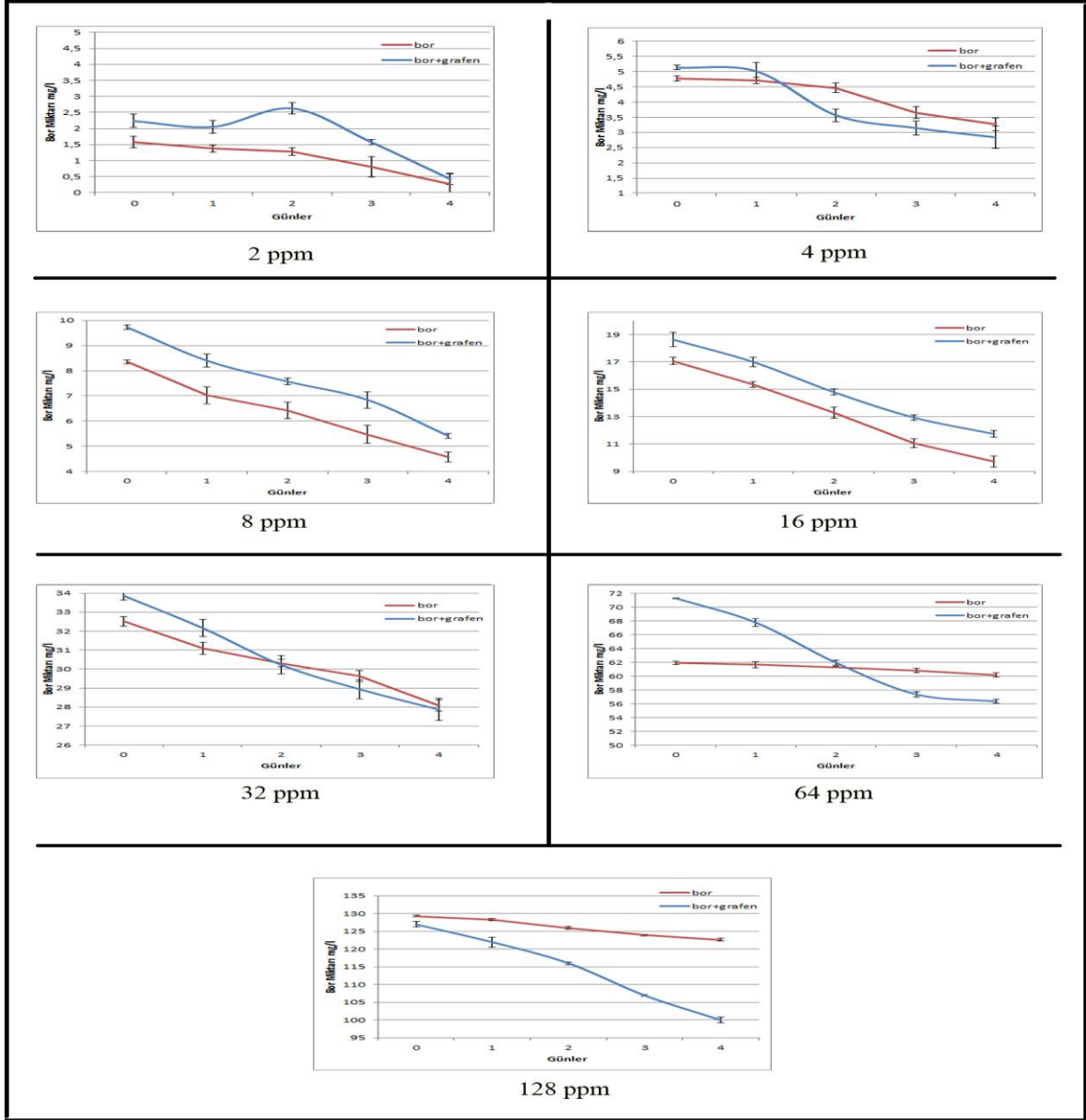
seviyelerindeki deney setlerinde B alımı miktarlarının birbirine yakın olduğu fakat B konsantrasyonu arttıkça alınan B miktarının da arttığı belirlenmiştir.

L. gibba türünün B artırım performansının değerlendirildiği deney setlerinde ise en yüksek B alımı miktarının 26,971 mg l⁻¹ değeri ile 128 ppm B+GO deney grubunda gerçekleştiği tespit edilmiştir. *L. minor* türünün çalışıldığı deney gruplarına benzer şekilde



Şekil 3.11. *L. minor* bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda deney boyunca aldıkları B miktarları

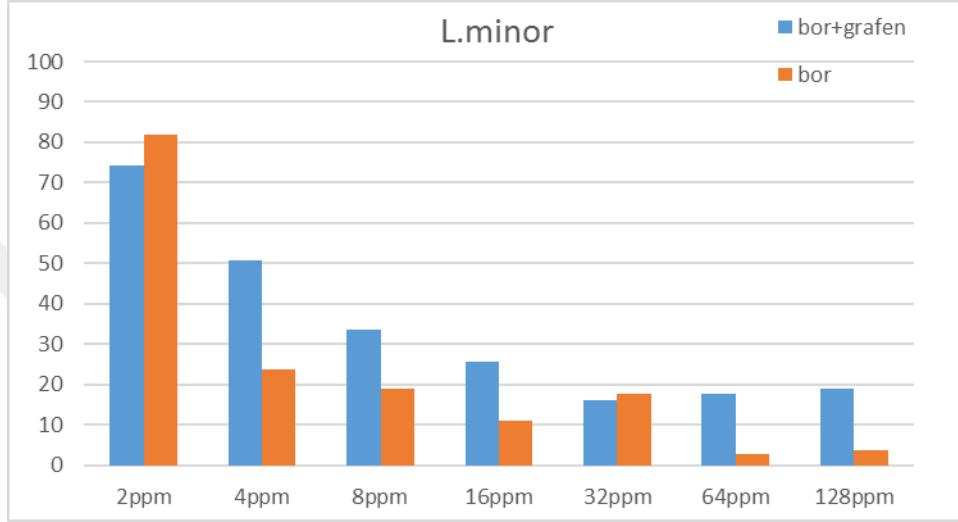
L. gibba türünde de ortamda bulunan B konsantrasyonu arttıkça alınan B miktarında da artış olduğu görülmektedir. Alınan en az B miktarı ise 1,310 mg l⁻¹ değeri ile 2 ppm B setinde gerçekleşmiştir.



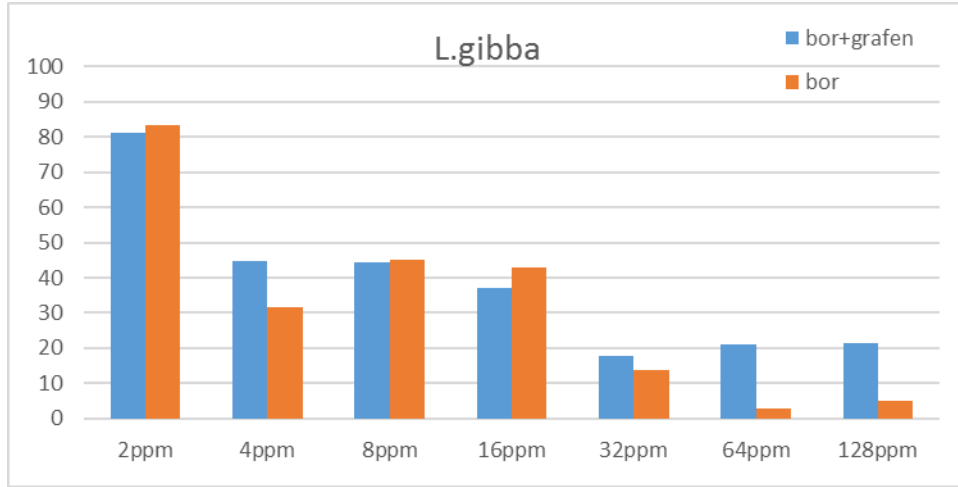
Şekil 3.12. *L. gibba* bitkisine ait örneklerin farklı konsantrasyonlarda yalnızca B içeren ve B ile birlikte 5 mg/l GO içeren ortamlarda deney boyunca aldıkları B miktarları

2 ppm, 4 ppm ve 8 ppm B konsantrasyonlarını içeren gruptaki B alım miktarları benzerlik göstermekte fakat bu değerlerin üzerine çıkıldığında ise alım miktarlarının

değişim gösterdiği görülmektedir. *L. minor* türüyle kıyaslandığında ise *L. gibba* türünün B artımı ve B direnci bakımından daha üstün olduğu belirlenmiştir. Ayrıca B artım miktarlarının büyük bir çoğunluğu diğer bitki türüne benzer şekilde ilk iki gün içerisinde daha yoğun olarak gerçekleşmiştir.



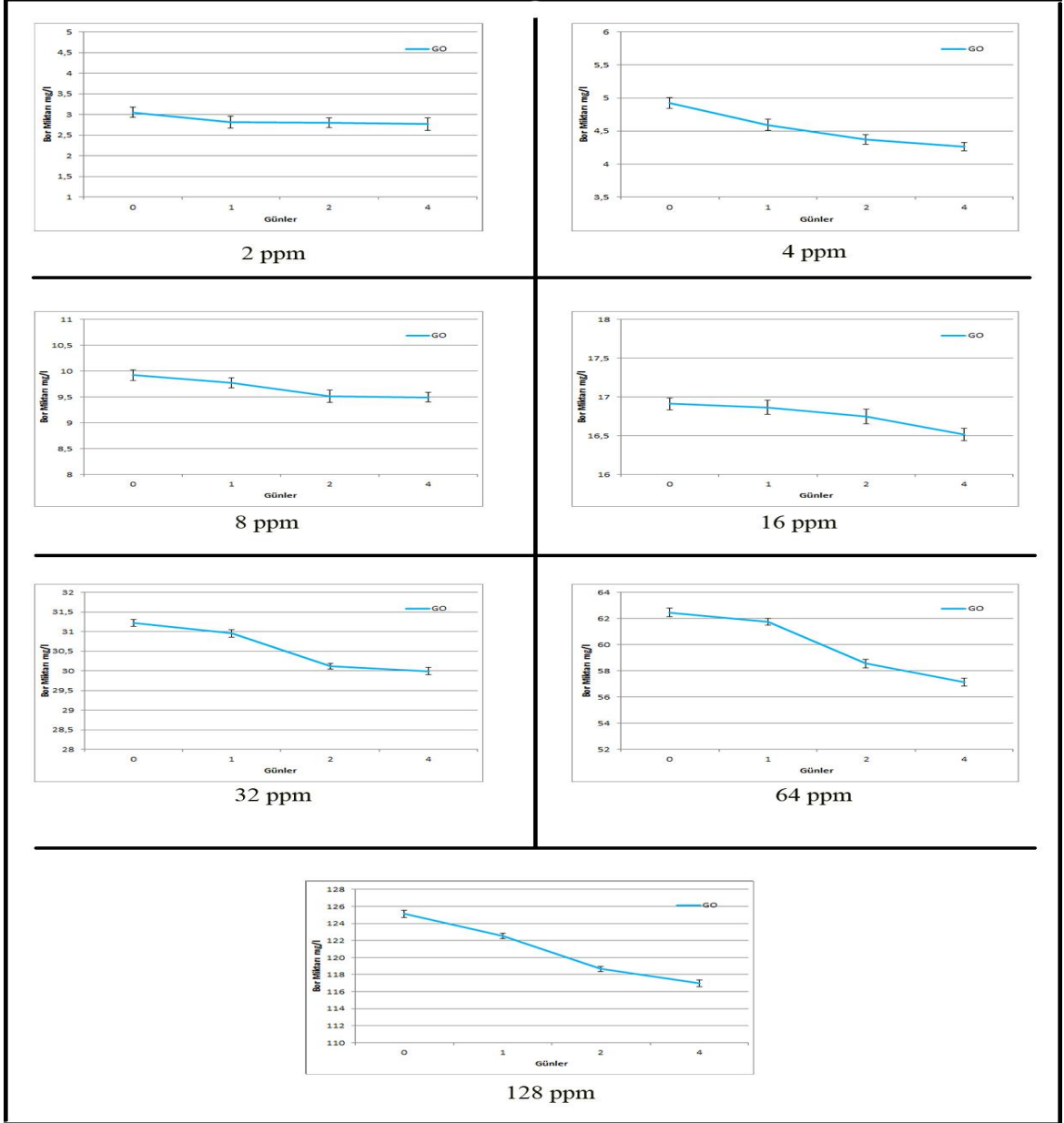
Şekil 3.13. *L. minor* türünün 4 günlük deney seti sonunda gerçekleştirdiği % artım performansı



Şekil 3.14. *L. gibba* türünün 4 günlük deney seti sonunda gerçekleştirdiği % artım performansı

GO materyalinin B tutma kapasitesi incelendiğinde, en fazla B alım miktarının 128 ppm B konsantrasyona sahip deney grubunda gözlemlendiği ($10,845 \pm 0,314 \text{ mg l}^{-1}$), en az B

alımının ise 2 ppm B konsantrasyonunda ($0,497 \pm 0,114 \text{ mg l}^{-1}$) gerçekleştiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, çözelti içerisinde yer alan B konsantrasyonuna bağlı olarak alınan B miktarının arttığı, ancak B artımı için yalnızca GO kullanımının yeterli olmayacağı görülmektedir (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. GO partiküllerinin farklı konsantrasyonlarda B içeren ortamlardaki aldıkları B miktarları

3.2.2. pH ve İletkenlik Değerleri

4 günlük deney periyodu boyunca *L. minor* ve *L. gibba* türlerine ait su örneklerinin pH ve iletkenlik değeri kaydedilmiş ve aşağıda özetlenmiştir (Tablo 3.1 ve Tablo 3.2).

Tablo 3.1. *L. minor* türüne ait deney gruplarının 4 günlük deney periyodundaki pH ve iletkenlik değerleri

	Konsantrasyon	Giriş	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
pH	2 ppm	6,0	6,47	6,73	6,86	6,93
	4 ppm	6,0	6,44	6,62	6,69	6,82
	8 ppm	6,0	6,58	6,76	6,85	6,95
	16 ppm	6,0	6,43	6,68	6,69	6,84
	32 ppm	6,0	6,79	6,98	7,01	7,1
	64 ppm	6,0	6,45	6,59	6,58	6,73
	128 ppm	6,0	6,41	6,54	6,46	6,63
	2 ppm+G.O.	6,0	6,38	6,76	7,01	7,01
	4 ppm+G.O.	6,0	6,47	6,69	6,82	6,88
	8 ppm+G.O.	6,0	6,45	6,6	6,68	6,82
	16 ppm+G.O.	6,0	6,9	7,08	7,19	7,3
	32 ppm+G.O.	6,0	6,41	6,58	6,66	6,77
	64 ppm+G.O.	6,0	6,46	6,63	6,61	6,8
	128 ppm+G.O.	6,0	6,46	6,57	6,51	6,88
İletkenlik (μ S/cm)	2 ppm	1171	1157	1151	1158	1163
	4 ppm	1171	1154	1153	1158	1160
	8 ppm	1171	1158	1156	1159	1163
	16 ppm	1171	1153	1153	1157	1161
	32 ppm	1171	1143	1167	1167	1168
	64 ppm	1171	1149	1151	1152	1157
	128 ppm	1171	1142	1143	1147	1152
	2 ppm+G.O.	1172	1169	1176	1185	1191
	4 ppm+G.O.	1172	1154	1154	1159	1162
	8 ppm+G.O.	1172	1156	1156	1159	1161
	16 ppm+G.O.	1172	1153	1155	1157	1159
	32 ppm+G.O.	1172	1155	1159	1161	1167
	64 ppm+G.O.	1172	1153	1154	1153	1158
	128 ppm+G.O.	1172	1147	1147	1148	1158

Tablo 3.2. *L. gibba* türüne ait deney gruplarının 4 günlük deney periyodunu kapsayan pH ve iletkenlik değerleri

	Konsantrasyon	Giriş	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün
pH	2 ppm	6,0	6,38	6,73	6,88	7,43
	4 ppm	6,0	6,44	6,62	6,69	6,82
	8 ppm	6,0	6,58	6,76	6,85	6,95
	16 ppm	6,0	6,43	6,68	6,69	6,84
	32 ppm	6,0	6,79	6,98	7,01	7,1
	64 ppm	6,0	6,45	6,59	6,58	6,73
	128 ppm	6,0	6,41	6,54	6,46	6,63
	2 ppm+G.O.	6,0	6,4	6,78	7,05	7,4
	4 ppm+G.O.	6,0	6,47	6,69	6,82	6,88
	8 ppm+G.O.	6,0	6,45	6,6	6,68	6,82
	16 ppm+G.O.	6,0	6,9	7,08	7,19	7,3
	32 ppm+G.O.	6,0	6,41	6,58	6,66	6,77
	64 ppm+G.O.	6,0	6,46	6,63	6,61	6,8
128 ppm+G.O.	6,0	6,46	6,57	6,51	6,88	
İletkenlik (μS/cm)	2 ppm	1171	1154	1157	1160	1148
	4 ppm	1171	1160	1156	1158	1158
	8 ppm	1171	1158	1157	1158	1160
	16 ppm	1171	1163	1159	1160	1159
	32 ppm	1171	1158	1162	1160	1161
	64 ppm	1171	1162	1161	1160	1158
	128 ppm	1171	1162	1161	1162	1158
	2 ppm+G.O.	1168	1161	1157	1156	1148
	4 ppm+G.O.	1168	1160	1158	1157	1160
	8 ppm+G.O.	1168	1162	1157	1158	1161
	16 ppm+G.O.	1168	1161	1161	1160	1157
	32 ppm+G.O.	1168	1161	1161	1160	1156
	64 ppm+G.O.	1168	1162	1161	1160	1157
128 ppm+G.O.	1168	1163	1160	1161	1156	

Tablo 3.1. ve Tablo 3.2.'deki veriler incelendiğinde tüm deney gruplarında, ortamdaki GO ve B konsantrasyonuna bağlı olarak pH ve iletkenlik değerlerinin değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Ortamdaki B miktarının artışına paralel olarak pH artmakta ve buna paralel olarak iletkenlik seviyesinin azaldığı görülmektedir.

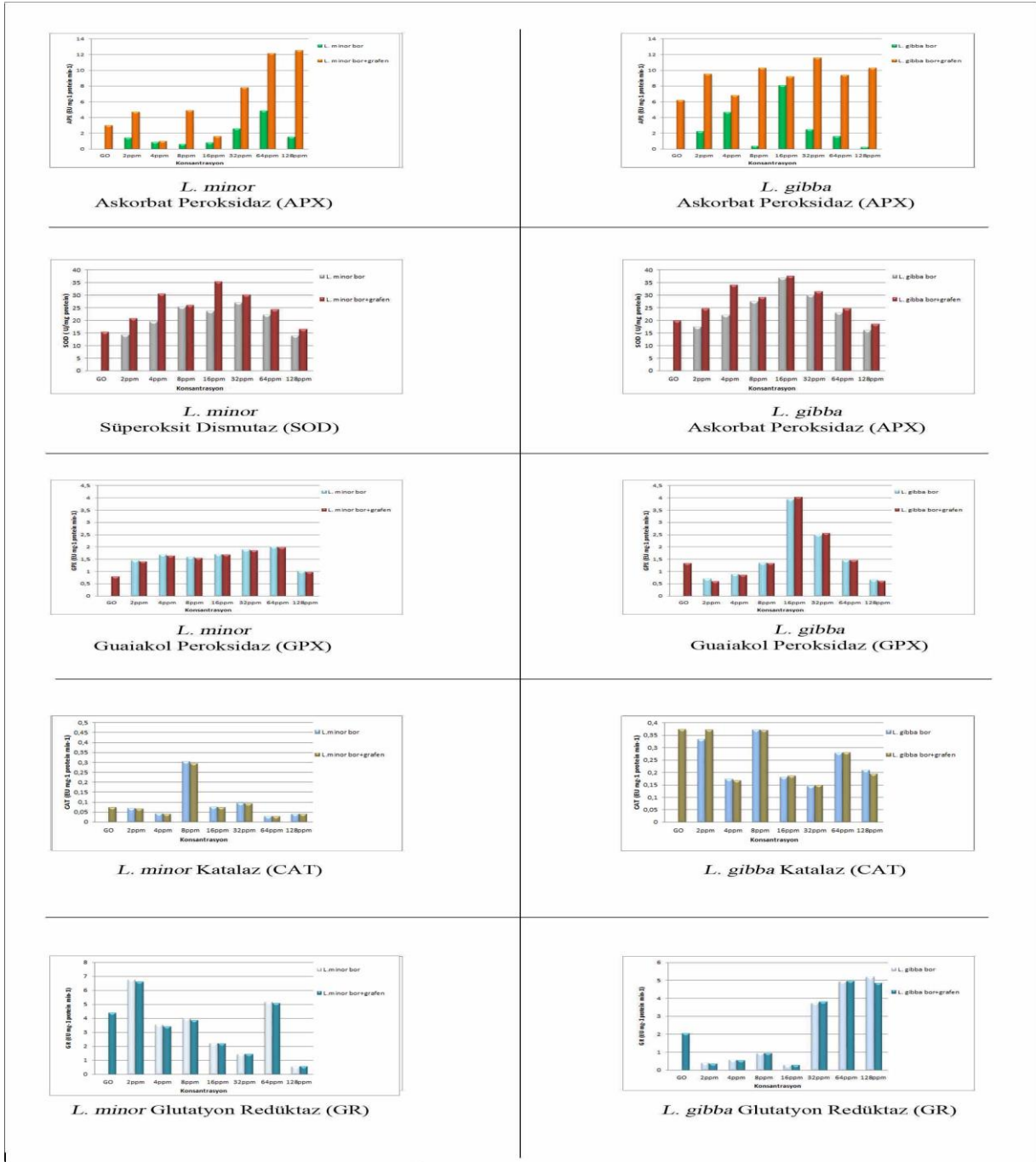
3.3. Enzim Aktivitesi Çalışmaları

4 günlük deney periyodu sonunda *L. minor* ve *L. gibba* türlerine ait deney gruplarının ortamda bulunan B ve GO toksisitesine karşı gösterdikleri askorbat peroksidaz, süperoksit dismutaz, guaiakol peroksidaz, katalaz ve glutatyon redüktaz enzim aktivitelerindeki değişimler Şekil 3.16'te gösterilmiştir.

Ortamda bulunan stres koşullarına bağlı olarak tüm deney gruplarında enzimatik aktivitelerin artış gösterdiği belirlenmiştir. Ancak bitki gruplarının yaşayamadığı çok yüksek B seviyelerinde ise aktivitenin sıfıra yakın seviyelere indiği ve bitkinin tolerans düzeyinin aşıldığı anlaşılmaktadır. Ayrıca GO içeren deney gruplarındaki enzimatik aktivitenin daha yüksek olduğu ancak ortamdaki B miktarına bağlı olarak bu aktivite düzeyin değişim gösterdiği belirlenmiştir.

APX enzimindeki değişiklik incelendiğinde özellikle *L. gibba* türünde B konsantrasyonu arttıkça enzimatik aktivite ciddi bir artış olduğu tespit edilmiştir. En yüksek enzimatik aktivitenin *L. minor* türüne ait 128 ppm deney grubunda $12,49 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ olduğu, en düşük aktivitenin ise 8 ppm B konsantrasyonu içeren deney grubunda $0,67 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ seviyesinde olduğu anlaşılmaktadır. *L. gibba* türüne ait deney gruplarında ise en fazla aktivite GO + 32 ppm B içeren deney grubunda $32,55 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ olduğu, en düşük aktivitenin ise 128 ppm B konsantrasyonu içeren deney grubunda $0,30 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ seviyesinde olduğu anlaşılmaktadır. Özellikle 64 ppm ve 128ppm gibi yüksek B konsantrasyonu içeren gruplarda GO içeren ve içermeyen grupların enzimatik aktivitelerinde önemli farklılıklar olduğu görülmektedir. APX enzimindeki artış vasıtasıyla bitkinin B toksisitesine karşı korunduğu elde edilen diğer bilgilerdendir. Öte yandan *L. minor* türünde de benzer sonuçlar görüldüğü anlaşılmaktadır. B direnci daha düşük olduğu bilinen *L. minor* türünün artan toksisiteye karşı daha fazla enzimatik reaksiyon gösterdiği ve aktivitesinde artan bir eğri oluşturduğu belirlenmiştir. SOD

aktivitesi incelendiğinde ise özellikle *L. minor* türünde artan B konsantrasyonuna bağlı olarak aktivitenin önemli düzeyde arttığı görülmektedir. En yüksek enzim aktivitesi



Şekil 3.16. *L. minor* ve *L. gibba* türüne ait deney gruplarının 4 günlük deney periyodu sonunda askorbat peroksidaz, süperoksit dismutaz, guaiakol peroksidaz, katalaz ve glutasyon redüktaz enzim aktivitesindeki değişim

128 ppm B içeren deney gruplarında $1,94 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ düzeyinde iken en düşük aktivite ise *L. gibba* türüne ait 128 ppm deney grubunda $0,108 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ seviyelerinde olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçla B toksisitesinin özellikle *L. gibba* türünde enzimatik reaksiyonlarda büyük bir artışa yol açmadığı fakat *L. minor* türü için önemli bir korunma mekanizması olduğu düşünülmektedir.

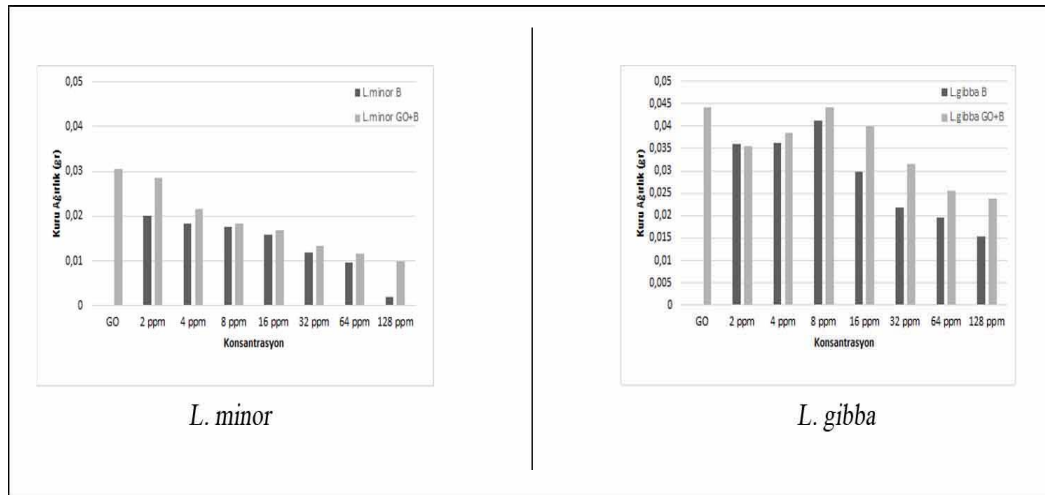
GPX enziminin ise artan B toksisitesine karşı geliştirdiği enzimatik reaksiyonların B konsantrasyonuna bağlı olarak farklı düzeylerde gerçekleştiği görülmektedir. En yüksek enzimatik aktivitenin *L. minor* türüne ait deney grubunda 64 ppm B konsantrasyonunda olduğu $2,00 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ olduğu, en düşük aktivite ise $0,79 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ ile yalnızca GO içeren deney grubunda gerçekleştiği anlaşılmaktadır. *L. gibba* türüne ait deney gruplarında ise en yüksek enzimatik aktivite GO + 16 ppm B içeren deney grubunda $4,027 \text{ EU mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$, en düşük aktivite ise GO + 2 ppm B içeren deney grubunda ($0,608 \text{ EU mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$) kayıt edilmiştir. Ayrıca artan B konsantrasyonuna bağlı olarak 16 ppm B seviyesine kadar artış eğilimi gösteren enzimatik aktivitenin bu düzeyinden sonra azalış gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca ortamda bulunan GO miktarının her iki bitki grubundaki enzimatik reaksiyonları harekete geçirdiği ancak bitki morfolojisinde herhangi bir toksik semptomu yol açmadığı belirlenmiştir.

CAT aktivitesi ise GO bulunan deney gruplarında yalnızca B içeren gruplarla yakın sonuçlar içermektedir. Özellikle *L. gibba* türüne ait yalnızca GO içeren deney grubundaki enzimatik aktivite diğer gruplara oranla daha yüksektir. En yüksek enzimatik aktivite *L. gibba* türünün 2 ppm B konsantrasyonunda $0,430,62 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$, en düşük seviyenin ise $0,030,62 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ ile 64 ppm B içeren *L. minor* türünde görülmektedir. Ayrıca artan B konsantrasyonuna bağlı olarak her iki bitki grubunda da aktivitenin değişim gösterdiği özellikle *L. minor* türünde 16 ppm ve üzerindeki B konsantrasyonlarda enzimatik aktivitenin çok düşük seviyelerde olduğu belirlenmiştir. *L. gibba* türünde ise bir korunma yöntemi olarak katalaz aktivitesinin 64 ppm ve 128 ppm düzeylerinde yüksekliği dikkat çekmektedir. GR aktivitesinde değişimler incelendiğinde ise *L. minor* türünün tüm deney gruplarında enzimatik aktivitenin yüksek olduğu, *L. gibba* türünde ise 64 ppm seviyelerinden sonra aktivitenin artış gösterdiği belirlenmiştir. En fazla

aktivitenin $6,790,62 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ ile *L. minor* türünün 2 ppm B seviyesinde, en düşük aktivitenin ise *L. gibba* türünün 16 ppm B seviyesinde olduğu görülmüştür. GO içeren ve içermeyen deney grupları karşılaştırıldığında ise her iki bitki türü için de birbirine yakın sonuçlar elde edildiği anlaşılmaktadır. Bu sebeple ortamda bulunan GO bileşeninin GR aktivitesinde önemli bir farklılığa yol açmadığı düşünülmektedir.

3.5. Biyomas Sonuçları

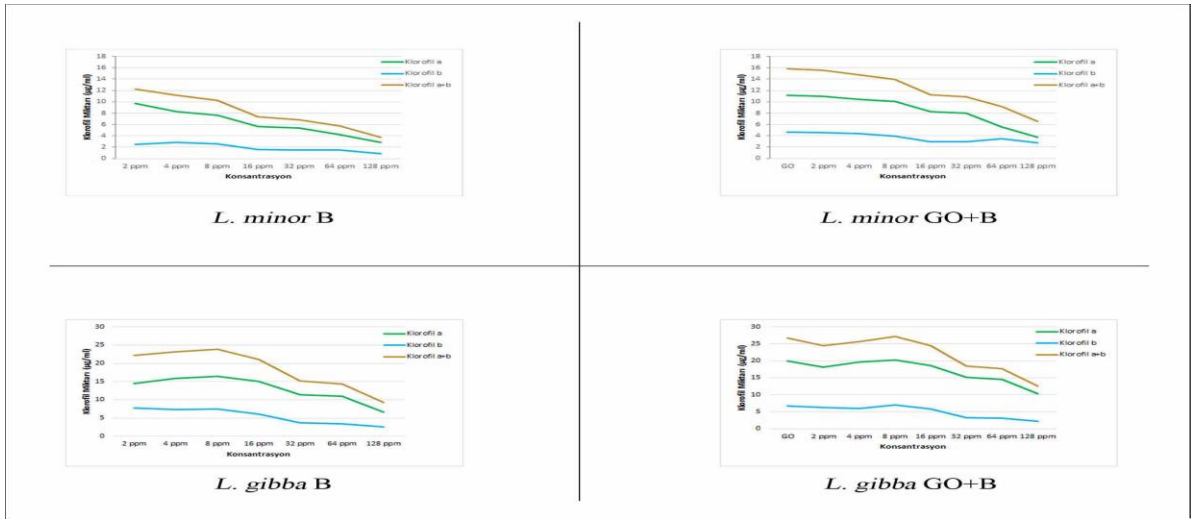
Fitoremediasyon sonucu elde edilen biyokütle miktarının belirlenmesi için gerçekleştirilen biyomas deneyinde, her iki bitki türüne ait örnekler kurutulmuş ve elde edilen biyomas hesaplanmıştır (Şekil 3.17). *L. minor* türüne ait deney grubunda, en yüksek biyomas elde edilen grup yalnızca GO içeren deney seti (0,030 gr), en az biyomas elde edilen grup ise 128 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubudur (0,001 gr). *L. gibba* türünde ise, benzer şekilde en yüksek biyomas yalnızca GO içeren deney seti (0,044 gr), en az biyomas elde edilen grup ise 128 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubudur (0,015 gr). Öte yandan, aynı konsantrasyona sahip deney grupları karşılaştırıldığında *L. gibba* türünün daha fazla biyomas ürettiği görülmektedir. Ayrıca GO içeren deney gruplarının biyomas üretiminde daha başarılı oldukları ve B toksisitesine karşı daha fazla direnç gösterdikleri belirlenmiştir.



Şekil 3.17. *L. minor* ve *L. gibba* türlerinin yalnızca GO içeren ve GO ile birlikte farklı B konsantrasyonlarına sahip deney gruplarındaki toplam biyomas miktarları

3.4. Klorofil Miktarları

Bitkideki toksik bileşenlerin enzimatik ve fizyolojik sonuçları sebebiyle yapraklar içerisindeki klorofil miktarının belirlenmesi, morfolojik açıdan ayırt edilemeyen toksik semptomların daha net bir şekilde anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. Bu sebeple, *L. minor* ve *L. gibba* türlerinin deney sonunda klorofil miktarları belirlenmiş, B toksisitesi sonucu meydana gelen değişimler ve GO-B etkileşimi açıklanmaya çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, her iki bitki türünde de artan B konsantrasyonuna bağlı olarak klorofil miktarlarının azaldığı belirlenmiştir (Şekil 3.17). *L. minor* türünde toplam klorofil miktarının (klorofil a+b) en fazla olduğu grup yalnızca GO içeren deney seti (15,828 µg/ml), en az klorofil miktarına sahip deney grubu ise 128 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubudur (3,751 µg/ml). *L. gibba* türünde ise, en fazla klorofil miktarı GO + 8 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubunda (27,234 µg/ml), en az klorofil miktarı ise 128 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubuna (9,238 µg/ml) aittir. Ayrıca GO içeren ve içermeyen deney grupları karşılaştırıldığında, GO bulunan deney gruplarının daha fazla klorofil miktarı içerdiği görülmektedir.



Şekil 3.18. *L. minor* ve *L. gibba* türlerinin yalnızca GO içeren ve GO ile birlikte farklı B konsantrasyonlarına sahip deney gruplarındaki klorofil a, b ve a+b miktarları

3.6. Adsorpsiyon Deneyi

GO partiküllerinin B tutma kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen adsorpsiyon deneyi ile hibri sistemlerde görev alan materyallerin bireysel artım başarılarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, GO materyalinin maksimum B tutma değeri 17,985 mg/g olarak bulunmuştur (Şekil 3.19). Her iki eşitlikte elde edilen R² değerleri de yüksek olmasına karşın, denklemlerin R² değerleri kıyaslandığında GO partiküllerinin B adsorpsiyon mekanizmasının anlaşılmasında Langmuir izoterm denkleminin tercih edilmesi daha doğru olacaktır.

Langmuir			
q_m	K_L	R^2	Regresyon Denklemi
17,985 mg/g	0,002	0,986	$y = 0,0556x + 0,3101$

Freundlich			
K_F	n	R^2	Regresyon Denklemi
5,843	3,039	0,976	$y = 0,5398x - 1,2815$

Şekil 3.19. GO adsorpsiyonuna bağlı elde edilen Langmuir ve Freundlich izoterm denklemleri

4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Gerek doğal gerekse antropojenik kökenli faaliyetlerin çevre ile etkileşimlerinin incelendiği çalışmalardaki temel motivasyon, ekosistemde meydana gelen değişikliğin doğal yapı ve nihayetinde insan üzerinde ortaya çıkarabileceği olası etkileri araştırmaktır. Doğal yapı içerisinde herhangi bir unsurun etkilerinin tek başına bağımsız olarak ortaya konması her zaman mümkün değildir. Çünkü doğal ekosistemlerde herhangi bir faaliyet sonucunda ortaya çıkan sonuç, o canlı üzerinde etkili olan faktörlerin bir bileşkesi sonucu gerçekleşir. Dolayısıyla ekologlar, ekosistem üzerinde etkili olabilecek faktörlerin etki düzeylerini ve özelliklerini öğrenebilmek için çoğunlukla bu faktörleri laboratuvar ortamında bir ya da birkaç faktöre indirgeyerek çalışma eğilimindedir. Bu tarz çalışmaları yaparken de genellikle daha iyi tanınan ve dünyada da sıklıkla tercih edilen model organizmaları kullanırlar (Parnian vd., 2016; Z. Zhao vd., 2017, 2018; Paolacci vd., 2018).

Lemna cinsine ait bitki türleri, bu anlamda özellikle sulak alanlar ile ilgili çalışmaların biyo (canlı) ögesini oluşturan ana unsurlardan olan model organizmalardandır. Ekolojik toleranslarının yüksek oluşu, hızlı gelişim göstermeleri, küçük yapıda olmaları, çevresel değişimlere hızlı ve belirgin tepkiler vermeleri, aseksüel üreme yetenekleri ve in-vitro ortamda kolaylıkla yetişebilmeleri nedeniyle mükemmel bir model organizma niteliği taşımaktadırlar. Bu yüzden bu çalışmada da, dünyanın birçok yerinde geniş yayılışı bulunan (kozmpolit nitelikte) *L. minor* ve *L. gibba* türleri kullanılmıştır. Dünyadaki sulak alanların floristik yapı itibariyle birbirine karasal ekosistemlere nazaran daha çok benzediği düşünüldüğünde, bu tarz çalışmalarda böyle kozmpolit türlerin kullanılması bu türlerin belki de genel veya o bölgeye özgü farklı çevresel faktörlere verdikleri tepkilerin daha iyi anlaşılmasını sağlamakta ve bilimsel anlamda kıyaslama olanağını arttırmaktadır.

Bu çalışmayı da diğer çalışmalardan ayıran en büyük özellik, Türkiye'nin dünyanın B rezerv alanlarının %70 gibi çok büyük bir oranına sahip olması ve bu doğal yapı ile çevre arasındaki etkileşimleri incelemek anlamında mükemmel bir fırsat sunuyor olmasıdır. Bu çalışmayı farklı kılan bir diğer özellik te, GO molekülünün böyle bir çalışmaya ilk defa dâhil edilmiş olmasıdır. GO (C₁₄₀H₄₂O₂₀), son zamanlarda endüstriyel alanda yoğun olarak kullanılmaya başlanan, yeni, sentetik ve organik bir karbon materyalidir. Sahip olduğu

elektrokimyasal özellikler ve kirletilmiş ortamlarda bitkilere sağladığı avantajlar nedeniyle, son dönemde dikkati çekmeye başlamış olmasına rağmen, GO'nin çevre kirliliğinin fitoremediasyon aracılığı ile azaltılması sırasında kullanımı ile ilgili çalışmalar oldukça yenidir. Bu nedenle ilk defa bu çalışmada, B ile GO etkileşimi ve bunun fitoremediasyonda kullanım olanakları ortaya konulmaya çalışılmıştır. Bu özelliği nedeniyle bu çalışma, fitoremediasyonda hem bitki hem de sentetik bir organik maddeyi işe koşması nedeniyle, kompozit bir arıtım sistemi olarak değerlendirilebilir. Bu özelliği ile de, özgün bir nitelik taşımaktadır.

Fitoremediasyon çalışmalarında zincirin en zayıf halkası konumunda bitkiler yer almaktadır. Çalışılan bitki gruplarının sağlıklı tutularak fitoremediasyon performanslarının yükseltilmesi kullanılan sistemlerin hem arıtım potansiyelinin artmasına hem de sürdürülebilirliğin yükseltilmesine büyük katkılar sağlamaktadır. Bu sebeple, ortamda bulunan GO partikülleri vasıtasıyla çalışılan bitki gruplarının toksik bileşenlerden en az etkilenmesi sağlanarak fitoremediasyon başarısının en üst düzeye çıkarılması hedeflenmiştir.

Toksik etkilere sebep olan B konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen toksisite çalışmaları sonucunda elde edilen verilere göre; *L. minor* türünde artan B konsantrasyonuna bağlı olarak yaprak sayılarında azalma eğilimi olduğu Şekil 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4'de görülmektedir. Özellikle 64 ppm ve 128 ppm B konsantrasyonlarında, *L. minor* türünün toksisite sebebiyle yaprak sayılarını arttıramadığı ve canlı birey sayısında büyük bir düşüş gözlemlendiği belirlenmiştir. Ancak B ile birlikte GO içeren deney gruplarında toksik semptomların daha az gözlemlendiği ve buna bağlı olarak yaprak sayısının GO içermeyen deney gruplarına kıyasla daha fazla olduğu görülebilmektedir. İstatistiksel değerlendirmeler de bu sonucu teyit etmektedir. Yalnızca morfolojik özelliklere bakılarak dahi GO materyalinin çalışmada kullanılan *Lemna* türlerindeki koruyucu etkileri rahatlıkla fark edilebilmektedir. Benzer şekilde *L. gibba* türünün de birey sayısı ve toksik semptomların artan B konsantrasyonuna bağlı olarak ortaya çıkmaya başladığı belirlenmiştir. Ayrıca GO partiküllerinin B ile bağlanması sonucu bitkideki toksisitenin azaldığı Şekil 3.4'de görülmektedir. Ancak *L. minor* türünden farklı olarak *L. gibba*

türünün B toksisitesine ekolojik toleransının daha yüksek olduğu ve ortamdaki B kirliliğinden nispeten daha az etkilendiği görülmektedir. Benzer şekilde yapılan birçok çalışmada 16 ppm B konsantrasyonunun *Lemna* türleri için kritik önem arz ettiği ve bu seviyenin üzerine çıktığında bitki gruplarında toksisiteye yol açtığı rapor edilmiştir (Böcük vd., 2013; Gür vd., 2016).

Bitkiler, çoğu canlı grubundan farklı olarak sesil (toprağa sabit bir şekilde) bir yaşam sürdürmeleri sebebiyle çevrelerindeki tehlikelerden fiziksel olarak kaçma şansına sahip değildir. Bu nedenle türün devamlılığı düşünüldüğünde, bitki grupları tarafından ortamda bulunan toksik etmenlerin tolere edilebilmesi için çeşitli korunma mekanizmalarının varlığı oldukça önemlidir. Bu sebeple, stres faktörlerine karşı bitkiler tarafından fitostabilizasyon (sabitlenme), fitovolatilizasyon (buharlaştırma), fitodegradasyon (bozulma) ve fitoekstraksiyon (alınım) gibi birçok korunma mekanizması geliştirilmiştir. (Greipsson, 2015). Şekil 3.10'daki görselde bitki köklerine sabitlenmiş GO ve B bileşenlerinden oluşan partiküller görülebilmektedir. Bu yapı ile hem bitki B toksisitesine karşı korunmakta hem de ortamda bulunan toksik bileşenlerin bitki içerisine alınmadan rizosferde tutulması sağlanmaktadır (Hu vd., 2018b). Ayrıca simbiyotik yaşamın bir sonucu olarak bitkinin rizosfer kısmındaki bakteri florasının da bitkiyi toksik bileşenlere karşı koruduğu belirlenmiştir (Stout vd., 2010). Bu sebeple, özellikle remediasyon sistemlerinde sürecin sağlıklı olarak yönetilebilmesi için ekolojik etmenlerin ve çevresel faktörlerin de gözardı edilmemesi gerekmektedir.

Hızlı çalışan ve verimi yüksek arıtım sistemlerinin geliştirilebilmesi için kullanılan bitki gruplarının gelişim oranlarının tespit edilmesi zaman tasarrufu ve sistem analizi için büyük bir öneme sahiptir. Bu sebeple sistem içerisinde yer alan bitki gruplarının nispi gelişim oranları gözlenerek toksisite ve morfolojik değişimler kayıt altına alınmıştır. *Lemna* türlerindeki nispi gelişim oranları incelendiğinde, artan B toksisitesine bağlı olarak nispi gelişimin azaldığı ve yeni birey oluşumunun yavaşladığı belirlenmiştir (Şekil 3.9). Ek olarak her iki bitki grubunda da en fazla gelişim ilk iki gün içerisinde gerçekleştiği görülmektedir. Toksik semptomların etkilerinin ikinci günden itibaren ortaya çıkmaya başladığı düşünüldüğünde bu azalış beklenen bir sonuçtur. Ayrıca ortamda bulunan GO

miktarının bitkide morfolojik bir değişikliğe yol açmadığı ve buna bağlı olarak bitki gelişimi üzerine negatif bir etkiye sebep olmadığı da nispi gelişim oranlarından anlaşılmaktadır. Benzer şekilde, diğer birçok çalışmada da, 5 mg l⁻¹ seviyesindeki GO konsantrasyonun *Lemna* türlerinde bir toksisiteye yol açmadığı bildirilmektedir (Hu vd., 2016, 2018).

Ekolojik çevrenin olabildiğince optimum bir şekilde analiz edilebilmesi için ortamın fiziksel özellikleri ile birlikte kimyasal faktörlerin de değerlendirilmesi gerekmektedir. Özellikle suluk ekosistemlerde pH ve elektriksel iletkenlik değerleri birçok canlı türünün yaşamını doğrudan etkilemektedir. Bu sebeple, suluk habitatların simüle edildiğı yapay sulak alanlar ve benzer sistemler için pH ve elektriksel iletkenlik değerlerinin belirlenmesi kritik bir gerekliliktir. *Lemna* türlerine ait deney gruplarının pH ve elektriksel iletkenlik değerleri incelendiğinde (Tablo 3.1, 3.2), pH 'nın bitkiler tarafından salgılanan enzimler vasıtası ile yükseltildiğı ve buna bağlı olarak elektriksel iletkenlik değerlerinin düştüğü belirlenmiştir. pH artışının ortamdaki serbest halde bulunan B konsantrasyonunun azaltmasına ve böylece bitkinin B toksisitesine karşı dayanma gücünün artırılması konusunda destek olduğu düşünölmektedir (Böcük, 2010).

İçme suyu ve sulama suyu gibi eser miktarlarda toksik bileşen içeren ortamlar düşünöldüğünde, ortamda bulunan canlı gruplarındaki morfolojik yapılar bakılarak habitat ile ilgili bilgi sahibi olunabilmesi oldukça güçtür. Bu sebeple, enzimatik ve fizyolojik değişiminlerin incelenmesi hem toksifikasyon mekanizmasının anlaşılmasına hem de anlık değişimlerin tespit edilebilmesine olanak sağlamaktadır (Böcük vd., 2013). Bitkiler tarafından, ortamda meydana gelen stres faktörlerine bağlı olarak bitki bünyesinde reaktif oksijen grupları ortaya çıkmaktadır (Maleki vd., 2017). Ancak savunma mekanizması sonucu bertaraf edilemeyen ROS'lar, hücre yüzeyindeki membran lipitlerini tahrip ederek DNA ve RNA başta olmak üzere önemli birçok hayati yapı üzerinde tahribata sebep olmakta ve ortamda bulunan proteinlerin yıkılarak amino asitlerin oksidasyonuna neden olmaktadır (Maleki vd., 2017). Bu sebeple, bitki bünyesinde yer alan antioksidant enzimler ortamda bulunan ROS'ların farklı mekanizmalar aracılığı ile zararsız bileşenlere bağlanmasını ya da dönüştürölmesini sağlamaktadır. Enzimatik aktivitenin belirlenmesi,

herhangi bir çevresel faktöre bağılı olarak bitkinin strese giripi girmediğinin belirlenmesi açısından da önem taşımaktadır. Çünkü bitkinin stres halinin morfolojik olarak hemen gözlenememesi nedeniyle, enzimatik aktivitenin belirlenmesi önemli hale gelmektedir.

Bitkide stres faktörlerine karşı geliştirilen enzimatik cevabın mekanizması şu şekilde özetlenebilir. Oksidatif strese karşı öncül korunma mekanizmalarından sayılan SOD enzimi çalışma prensibi gereği ortamda bulunan süperoksit moleküllerini yakalayıarak onların H₂O₂'e katalizlenmesini sağlamaktadır (Hou vd., 2007). Ancak hücre içerisindeki konsantrasyonu artan H₂O₂'nin parçalanarak zararsız hale dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu sebeple, SOD enzim aktivitesi ve hücre içerisindeki H₂O₂ seviyesine bağılı olarak CAT, APX ve GR enzimlerinin harekete geçmektedir (Tehrani ve Moosavi-Movahedi, 2018; Yılmaz ve Parlak, 2011). Ortamda biriken H₂O₂ ismi geçen enzimler vasıtasıyla bitki için zararsız olan H₂O ve O₂'ye dönüştürülmektedir (Şekil 1.2).

Enzimatik aktivite çalışmaları sonucunda elde edilen verilere göre artan B konsantrasyonuna bağılı olarak SOD aktivitesinin de arttığı görülmektedir (Şekil 3.16). *L. minor* türünü içeren deney grubunda en yüksek SOD aktivitesi 16 ppm B konsantrasyonunda (35,257 EU mg⁻¹ protein min⁻¹), en düşük aktivite ise 2 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubunda (14,386 EU mg⁻¹ protein min⁻¹) kayıt edilmiştir. Ancak 64 ve 128 ppm B içeren deney gruplarındaki enzimatik aktivitenin 16 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubundan daha düşük olduğu görülmektedir. Benzer şekilde *L. gibba* türünü içeren deney grubunda en yüksek SOD aktivitesi GO + 16 ppm B konsantrasyonunda (37,416 EU mg⁻¹ protein min⁻¹), en düşük aktivite ise 2 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubunda (17,430 EU mg⁻¹ protein min⁻¹) kayıt edilmiştir. SOD enzimi artan toksik bileşenlere karşı diğer enzim gruplarından farklı savunma mekanizmaları izlemektedir. Belirli bir konsantrasyona kadar toksik bileşenlerin zararlı etkilerinin önlenmesi için aktivitesi artarken, bir seviyeden sonra enzim yapısında ve kapasitesinde meydana gelen bozulmalara bağılı olarak aktivitesinin düştüğü ifade edilmektedir (Babić vd., 2009). 16 ppm B seviyesinin de SOD enzimi için kritik bir değer olduğu, bu seviyedeki B konsantrasyonunda enzim inhibisyonunun başladığı ve sonuç olarak konsantrasyon artsa dahi aktivitenin artmadığı kaldığı düşünülmektedir. Ayrıca GO

içeren ve içermeyen deney grupları karşılaştırıldığında, tüm deney gruplarında GO varlığının ortamda bulunan SOD enziminin aktivitesini artırdığını göstermektedir. Bu sebeple morfolojik olarak herhangi bir toksik etkiye sebep olmasa da, ortamdaki GO varlığının *Lemna* türlerinde enzimatik faaliyetleri harekete geçirdiği ve bitki tarafından bir stres koşulu olarak değerlendirildiği belirlenmiştir (Hu vd., 2015; Maleki vd., 2017; J. Zhao vd., 2017). Hu vd. (2018) yaptığı çalışmada *L.minor* türünde GO varlığının bakır stresine olan etkileri araştırmış, elde ettikleri sonuçlara göre; GO varlığının SOD ve diğer antioksidant enzimlerin aktivitelerinde artışa yol açtığı ifade edilmiştir. Ancak meydana gelen bu artışın, bakır toksisitesinin azaltılmasına sağladığı ve böylece bitkiyi toksik bileşenlere karşı koruduğu ifade edilmektedir (Hu vd., 2018b). Diğer bir söylemle ortamda bulunan GO varlığı ile enzimatik reaksiyonların arttığı ve ortaya çıkan bu durumun B toksisitesine bağlı olarak gelişecek oksidatif strese karşı korunma mekanizmalarının önceden devreye sokarak bitkiyi harekete geçirdiği düşünülmektedir.

CAT enzimi ise SOD aktivitesi sonucu parçalanmış ROS gruplarının son ürünü olan H_2O_2 moleküllerinin hücre için zararsız olan su (H_2O) ve oksijene (O_2) dönüştüren önemli bir enzim türüdür. Bu enzim normal şartlar altında hücre içerisinde çok düşük seviyelerde bulunmasına karşın, artan oksidatif strese bağlı olarak aktivitesi önemli oranda yükselmektedir (Tehrani ve Moosavi-Movahedi, 2018). CAT enzimi yapısı gereği hücre içerisinde yer alan H_2O_2 'in parçalanmasında görev almasına karşın düşük afiniteye sebep olması sebebiyle oksidatif stresin yoğun olduğu durumlarda aktive edilmektedir (Mittler, 2002). *L. minor* ve *L. gibba* türlerindeki deney gruplarının enzimatik aktiviteleri incelendiğinde; B toksisitesine bağlı olarak her iki bitki türünde de CAT aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (Şekil 3.16). *L. minor* türüne ait deney gruplarında, en fazla CAT aktivitesinin 8 ppm B konsantrasyonuna sahip deney setinde ($0,305 \text{ EU mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$), en az aktivitenin ise 64 ppm B içeren deney grubunda ($0,030 \text{ EU mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$) belirlenmiştir. *L. gibba* türüne ait deney grubu incelendiğinde ise, CAT enzimine ait en yüksek aktivitenin 8 ppm B konsantrasyonunda ($0,371 \text{ EU mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$), en düşük aktivite ise GO+ 32 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubunda ($0,149 \text{ EU mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$) kayıt edilmiştir. Her iki bitki türünde de 8 ppm B konsantrasyonunun kritik eşik olduğu belirlenmiş ve bu seviyenin üzerindeki B konsantrasyonunda aktivitenin

kademeli olarak azaldığı görülmektedir. Ancak diğer B konsantrasyonları ve elde edilen enzimatik aktiviteler kıyaslandığında *L. gibba* türünün CAT aktivitesinin *L. minor* türüne oranla daha yüksek seviyede olduğu görülmektedir. *L. gibba* türündeki CAT aktivitesinin B toksisitesiyle baş edilmesinde daha etkin rol aldığı ve yüksek B konsantrasyonlarında dahi aktivitenin gözlemlendiği belirlenmiştir. CAT enzimi, bir dezavantaj olarak APX ve GPX enzimlerinden farklı olarak, H₂O₂'ye affinitesi nispeten düşük olup, bu molekülün konsantrasyonu çok fazla arttığında faaliyet göstermektedir (Tehrani ve Moosavi-Movahedi, 2018). Bu da B stresi altında oluşan H₂O₂ konsantrasyonunun CAT'ı aktif hale getirebilecek kadar fazla üretildiğinin bir göstergesidir. *L. gibba* türünün B toksisitesine karşı daha dirençli olmasının bir sebebinin de CAT enziminin faaliyetinin daha fazla gerçekleşmesi nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

APX enzimi, GPX ve CAT enzimleriyle ortak çalışan bir enzim türüdür. Bu enzim SOD tarafından H₂O₂ 'e dönüştürülmüş süperoksitlerin H₂O ve O₂ 'e dönüştürülme işlemini gerçekleştirir. Benzer görevler üstlenmelerine karşın APX enziminin CAT enzime kıyasla H₂O₂ 'e bağlanma afinitesinin daha yüksek olması sebebiyle oksidatif stresin önlenmesinde daha önemli bir enzim grubu olduğu belirtilmektedir (Büyük, 2012). Ayrıca yapılan birçok çalışmada, stres koşulları sebebiyle APX enzimi aktivitesi ve gen ekspresyonunda artış olduğu belirlenmiştir (Beauchamp ve Fridovich, 1971; Polidoros ve Scandalios, 1999; Mobin ve Khan, 2007). Deneysel sonuçları değerlendirildiğinde her iki bitki türüne ait deney gruplarında da artan B konsantrasyonuna bağlı olarak APX enzim aktivitesinin artış gösterdiği görülmektedir. *L. minor* türüne ait deney grubunda en yüksek APX enzim aktivitesi, 128 ppm B içeren deney setinde (12,499 EU mg⁻¹ protein min⁻¹), en düşük aktivite ise 8 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubunda (0,672 EU mg⁻¹ protein min⁻¹) belirlenmiştir. Ayrıca ortamda bulunan GO materyali ve B konsantrasyonuna bağlı olarak APX enzim aktivitesinin artırdığı tespit edilmiştir. *L. gibba* türünü içeren deney grubunda ise, APX enzime ait en yüksek aktivite GO + 32 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubunda (32,551 EU mg⁻¹ protein min⁻¹), en düşük aktivite ise 128 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubunda (0,307 EU mg⁻¹ protein min⁻¹) belirlenmiştir. Aynı B konsantrasyonuna sahip GO içeren ve içermeyen deney grupları kıyaslandığında, GO içeren grupların APX enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Fakat ortaya çıkan

bu enzimatik değişimin bitki üzerinde morfolojik bir değişime yol açmadığı görülmektedir.

GPX enzimi de, CAT ve APX gibi ortamda serbest halde bulunan H_2O_2 'in parçalanmasında diğer enzimlerle birlikte rol almaktadır. Hücre içerisinde iki farklı tipi bulunan GPX enzimi, oksidatif stres sonucu oluşan H_2O_2 'lerin haricinde organik olarak meydana gelen H_2O_2 'lerin de detoksifikasyonundan sorumludur. Yapılan birçok çalışmada stres koşulları altında GPX'in koruyucu olarak görev aldığı gösterilmiştir (Dixit vd., 2001; Leisinger vd., 2001). *L. minor* ve *L. gibba* türlerine ait GPX seviyeleri incelendiğinde artan B konsantrasyonuna bağlı olarak bu enzimin aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (Şekil 3.16). *L. minor* türünde en yüksek GPX aktivitesi, 64 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubunda ($2,000 \text{ EU mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$), en düşük aktivite ise yalnızca GO içeren deney grubunda ($0,793 \text{ EU mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$) bulunmuştur. *L. gibba* türünde ise en yüksek GPX aktivitesi, GO + 16 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubunda ($4,027 \text{ EU mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$), en düşük aktivite ise GO + 2 ppm B içeren deney grubunda ($0,608 \text{ EU mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$) kayıt edilmiştir. Ayrıca ortamda bulunan metilen mavisi atıklarının giderilmesi sebebiyle *L. minor* türlerinin kullanıldığı bir çalışmada ortamda bulunan konsantrasyona bağlı olarak meydana gelen oksidatif stres sonucu GPX enzim aktivitesinde artış gözleendiği ifade edilmiştir (Imron vd., 2019). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, GPX enzim aktivitesinin gerçekleştirdiğimiz deney sonuçlarını destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

Glutasyon (GSH), bitki hücrelerinin neredeyse tüm kısımlarında (kloroplast, sitozol, mitokondri) yer alan ve multifonksiyonel bir yapıya sahip bir metabolittir (Çulha, 2012). GSH hücre içerisinde, H_2O_2 detoksifikasyonu yanı sıra sinyal iletimi, hücre farklılaşması, patojen direnci gibi birçok faaliyette aktif olarak görev almaktadır (Khan ve Gill, 2008; Navari-Izzo vd., 2006). Hücresel fonksiyonların sağlıklı olarak yerine getirilebilmesi için hücre içerisindeki GSH/GSSG (oksidatif glutasyon) oranı büyük bir öneme sahiptir ve bu oran GR tarafından düzenlenmektedir (Toribio vd., 1996; Noctor ve Foyer, 1998). Ancak oksidatif stres durumuna bağlı olarak hücre içerisindeki GSH seviyesi azalarak GSSG (oksidatif glutasyon) miktarı artmaktadır. B konsantrasyonuna bağlı olarak GR aktivitesindeki değişimler incelendiğinde, artan B konsantrasyonu ile birlikte GR aktivitesinin de artma eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. *L. minor* türünde B

konsantrasyonuna bağlı olarak artış gösteren GR aktivitesi GO + 128 ppm B konsantrasyona sahip deney grubunda (0,592 EU mg⁻¹ protein min⁻¹) ise en düşük seviyeye ulaşmaktadır. *L. gibba* türünde ise GR, düşük B konsantrasyonlarında (2, 4, 8, 16 ppm) daha az aktivite gösterirken artan B konsantrasyonu ile aktivitenin artış gösterdiği belirlenmiştir. *L. gibba* türünün kadmiyum toleransının belirlendiği bir çalışmada; artan konsantrasyona bağlı olarak GR enzim aktivitesinin artış gösterdiği, ancak belirli bir konsantrasyonun üzerine çıkıldığında aktivitenin azalmaya başladığı ifade edilmiştir (Parlak ve Yılmaz, 2013). Elde edilen bu sonuçlar ile B toksisitesi sonucu meydana gelen GR enzim aktivitesinin kadmiyum toksisitesi ile aynı enzimatik cevapların oluşturulduğunu göstermektedir.

Son yıllarda konvensiyonel sistemlere ek olarak hibrit arıtım yöntemlerinin gelişimi özellikle remediasyon çalışmalarına yeni bir boyut katmıştır (Türker ve Yakar, 2017). Geleneksel yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda birbirini tamamlayıcı materyallerin birlikte kullanımı ile biyosorbentlerin bireysel başarılarından daha yüksek verim elde edilmesi sağlanmıştır. GO ve *Lemna* etkileşiminin incelendiği bu çalışmada, ortamda bulunan GO partikülleri hem B arıtımına katkı sağlamakta hem de bitkiyi B toksisitesine karşı koruyarak fitoremediasyon sürecinin kesintiye uğramadan devamlılığını kontrol altında tutmaktadır (Şekil 3.15). Beklendiği üzere ortamdaki B konsantrasyonu artışına bağlı olarak bitki kökleri tarafından tutulan B miktarının artacağı ve B arıtım düzeylerinin daha fazla olacağı görülmektedir. Düşük B konsantrasyonlarında arıtım performansı daha yüksek olsa da toplam B arıtım değerleri göz önünde bulundurulduğunda yüksek konsantrasyonlardaki B alınımının daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 3.13. ve Şekil 3.14.). En yüksek % B arıtım değeri beklendiği üzere 2 ppm seviyesinde gerçekleşirken en az arıtım ise % olarak 128 ppm de tespit edilmiştir. Ancak toplam B arıtım seviyeleri incelendiğinde 2 ppm düzeyindeki B alınımı 1-1,5 mg l⁻¹ düzeyinde iken 128 ppm seviyelerinde B alınımı 24-26 mg l⁻¹ düzeylerine kadar çıkmaktadır. Ayrıca *L. gibba* türünün ekolojik toleransının daha yüksek olması sebebiyle ortamda daha rahat hayatta kalarak daha fazla B tutma kapasitesine sahip olduğu ve böylece *L. gibba* türü ile daha fazla B arıtıldığı belirlenmiştir.

Bitkilerdeki oksidatif stresin enzimatik ve fizyolojik etkileri sebebiyle bitkideki birçok hayati fonksiyona ket vurulmaktadır. Özellikle bitkinin temel yaşam kaynağı olan, fotosentez reaksiyonunun baş aktörü klorofil pigmentleri, hücre içerisinde meydana gelen toksifikasyona bağlı olarak telafisi mümkün olmayan zararlara uğramaktadır. Gerek hücrenel faaliyetlerin devam ettirilmesi gerekse yeni bireylerin oluşturulabilmesi için klorofil pigmentlerinin varlığı oldukça önemlidir. Bu sebeple, stres koşullarının değerlendirilmesinde bitki grubunun bünyesindeki klorofil miktarlarının belirlenmesi oksidatif stresin önlenmesi için büyük bir gerekliliktir. *Lemna* türlerinin B toksisitesine bağlı olarak klorofil miktarlarındaki değişikliklerin incelenerek, morfolojik açıdan ayırt edilemeyen toksik semptomların belirlenmesi B ile mücadelede büyük bir fayda sağlayacaktır. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, artan B konsantrasyonuna bağlı olarak her iki *Lemna* türünde de toplam klorofil (klorofil a+b) miktarlarının azaldığı belirlenmiştir (Şekil 3.18). Ortaya çıkan bu durumun kloroplast içerisindeki tilakoid zarda meydana gelen harabiyet sonucu gerçekleşebileceği ya da klorofil pigmentlerinin biosentezini gerçekleştiren enzimlerin inhibisyonuna bağlı olarak oluşabileceği ön görülmektedir (Qian vd., 2009; Landi vd., 2013; Singh ve Prasad, 2014).

Fitoremediasyon çalışmalarında kullanılan bitki gruplarından beklenen en önemli başarı sağlıklı olarak ortamda hayatta kalabilmeleri ve biyokütle üretimini artırarak ortamda bulunan kirlilik etmenlerinin uzaklaştırmasını sağlamalarıdır. Dolayısıyla, elde edilecek biyokütle miktarı artırım performansını doğrudan etkilemektedir. Bu sebeple bu çalışmada elde edilen sonuçlar incelendiğinde, *L. minor* türüne ait deney grubunda en yüksek biyomas, yalnızca GO içeren deney seti (0,030 gr), en az biyomas ise, 128 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubu olarak belirlenmiştir (0,001 gr). *L. gibba* türünde ise, benzer şekilde en yüksek biyomas yalnızca GO içeren deney seti (0,044 gr), en az biyomas elde edilen grup ise 128 ppm B konsantrasyonuna sahip deney grubunda tespit edilmiştir (0,015 gr). Öte yandan, aynı konsantrasyona sahip deney grupları karşılaştırıldığında *L. gibba* türünün daha fazla biyomas ürettiği görülmektedir.

Adsorpsiyon yönteminin açıklanması için kullanılan izoterm eşitlikleri ile ortamda meydana gelen toksifikasyonun gerçekleşme mekanizması anlaşılmaktadır. Langmuir

modeli, homojen yüzeyler üzerindeki adsorpsiyona dayanmaktadır. Meydana gelen adsorpsiyonun tek tabakalı bir şekilde gerçekleştiği ve adsorplayıcı yüzey üzerinde sabit enerjiye sahip aktif bölgelerin bulunduğu modeldir. Freundlich modeli ise, heterojen yüzeyler üzerinde gerçekleşen bağlanmayı ifade etmektedir (Temel, 2016). Adsorpsiyon deneyi sonucunda elde edilen verilere göre, GO partiküllerinin B ile etkileşiminde en yaygın iki izoterm modelinin de (Langmuir ve Freundlich) uygulanabileceği tespit edilen R^2 değerlerinden anlaşılmaktadır (Şekil 3.19). Ancak her iki izoterm modeli birbiri ile kıyaslandığında Langmuir izoterminin tercih edilmesinin daha doğru olacağı görülmektedir.

GO kullanımı ile ilgili en büyük önyargı üretim maliyeti ve zorluğu hakkındaki yanlış bilgilerdir. Bu sebeple özellikle arıtım teknolojilerindeki kullanımının kısıtlı olabileceği ya da küçük ölçekli sistemler için tercih edilemeyeceği düşünülmektedir. Ancak sanılanın aksine, son yıllarda gerçekleştirilen yeni üretim tekniklerine bağlı olarak GO eldesi erişilebilir seviyelere ulaşmıştır (Paulchamy vd., 2015; Ranjan vd., 2018). Öte yandan arıtım sistemlerinde kullanılacak GO materyalinin biyokütle olarak seçilen canlı grupları ile etkileşimi sonucu toksik yan etkilerin oluşabileceği endişesi sebebiyle çoğunlukla canlı gruplarının tercih edildiği sistemlerde GO materyaline rastlanmamaktadır. Fakat son yıllarda elde edilen verilere göre GO materyalinin düşük konsantrasyonlarda toksik yan etkilere yol açmadığı belirlenmiş ve GO kullanımı giderek yaygınlaşmaya başladığı görülmektedir (Hu vd., 2016, 2018).

Biyolojik arıtım sistemleri sonucu ortaya çıkan ürünler, kimyasal yöntemlerin aksine farklı alanlarda kullanım şansına sahip olmaktadır. Ortamdan uzaklaştırılan toksik etmenler ve biyokütle atıkları enerji ve diğer birçok alanda hammadde olarak kullanılabilir (Türker vd., 2016a). Ayrıca elde edilen atıkların desorpsiyon yöntemi ile biyokütleden uzaklaştırılarak aynı materyalin tekrar tekrar kullanılması sağlanmaktadır (Tükmen vd., 2010). Öte yandan kullanılan GO partikülleri ve buna bağlanan B elementi ile elde edilecek B katkılı GO materyali ile farklı sistemlerde organik atıkların temizlenmesi gerçekleştirilmektedir (Singh vd., 2018).

Bu çalışma bir bütün olarak değerlendirildiğinde GO varlığının *Lemna* türlerindeki B arıtım performansının arttırılmasına önemli düzeyde katkı sağladığı ve hibrit sistemlerin kullanılabilirliğini kanıtlamaktadır. Ayrıca kullanılan GO bileşenin daha sonra sistemden ayrıştırılarak tekrar kullanılabilceği düşünöldüğünde maliyet ve sürdürülebilirlik açısından biyoremediasyon çalışmalarına yeni bir bakış açısı getireceği daha etkin arıtım değerlerine ulaşılabilceği ön görölmektedir. Çalışmamızın bu anlamda, alanda yapılan çalışmalara katkı sağlayacağı kanısındayız.



KAYNAKÇA

- Aebi, H.B.T.-M. in E., 1984. [13] Catalase in vitro, içinde: Oxygen Radicals in Biological Systems. Academic Press, ss. 121–126. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Akhavan, O., Ghaderi, E., 2010. Toxicity of graphene and graphene oxide nanowalls against bacteria. *ACS Nano* 4, 5731–5736. <https://doi.org/10.1021/nn101390x>
- Anonim, 2008. World water quality facts and statistics. *Annual Water Review (2008)* 35(Who 2002) 109
- Anonim, 2009. UN-Water Annual Report 2009. <https://www.unwater.org/publications/un-water-annual-report-2009/>
- Arvidsson, R., Molander, S., Sandén, B.A., 2013. Review of Potential Environmental and Health Risks of the Nanomaterial Graphene. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 19, 873–887. <https://doi.org/10.1080/10807039.2012.702039>
- Babić, M., Radić, S., Cvjetko, P., Roje, V., Pevalek-Kozlina, B., Pavlica, M., 2009. Antioxidative response of Lemna minor plants exposed to thallium(I)-acetate. *Aquat. Bot.* 91, 166–172. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2009.05.005>
- Banks, D., Younger, P.L., Arnesen, R.T., Iversen, E.R., Banks, S.B., 1997. Mine-water chemistry: The good, the bad and the ugly. *Environ. Geol.* 32, 157–174. <https://doi.org/10.1007/s002540050204>
- Basile, A., Sorbo, S., Cardi, M., Lentini, M., Castiglia, D., Cianciullo, P., Conte, B., Loppi, S., Esposito, S., 2015. Effects of heavy metals on ultrastructure and Hsp70 induction in Lemna minor L. exposed to water along the Sarno River, Italy. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.01.009>
- Beauchamp, Charles, Fridovich, I., 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 44, 276–287. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)

- Böcük, H., 2010. Batı anadolu’da yüksek bor içeren topraklarda doğal yayılış gösteren bitkilerin toprak bitki ilişkisi bakımından araştırılması 1–190.
- Böcük, H., Yakar, A., Türker, O.C., 2013. Assessment of *Lemna gibba* L. (duckweed) as a potential ecological indicator for contaminated aquatic ecosystem by boron mine effluent. *Ecol. Indic.* <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.01.029>
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Büyük, İ., 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. 69, 97–110.
- Cicero-Fernández, D., Peña-Fernández, M., Expósito-Camargo, J.A., Antizar-Ladislao, B., 2017. Long-term (two annual cycles) phytoremediation of heavy metal-contaminated estuarine sediments by *Phragmites australis*. *N. Biotechnol.* <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.07.011>
- College, M., Va, W., Du, A.A.B., 1959. Carminic Acid Procedure for Determination of Boron 1434–1437. <https://doi.org/10.1021/ac60152a061>
- Çulha, Ş., 2012. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi Tuzluluğun Bitkiler Üzerine Etkileri ve Tuz Tolerans Mekanizmaları 11, 11–34.
- D. W. Boukhvalov and M. I. Katsnelson, 2008. Modeling of graphite oxide. *J. Am. Chem. Soc.* 130, 10697–10701. <https://doi.org/10.1021/ja8021686>
- Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R., 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). *J. Exp. Bot.* 52, 1101–1109. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.358.1101>
- Drost, W., Matzke, M., Backhaus, T., 2006. Heavy metal toxicity to *Lemna minor*: studies on the time dependence of growth inhibition and the recovery after exposure. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.018>
- Evans, G.C., 1972. *The Quantitative Analysis of Plant Growth, Studies in ecology.*

University of California Press.

Franco, M.P. V, 2018. Searching for a Scientific Paradigm in Ecological Economics: The History of Ecological Economic Thought, 1880s–1930s. *Ecol. Econ.* 153, 195–203. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2018.07.022>

Greipsson, S., 2015. Phytoremediation.

Gür, N., Türker, O.C., Böcük, H., 2016. Toxicity assessment of boron (B) by *Lemna minor* L. and *Lemna gibba* L. and their possible use as model plants for ecological risk assessment of aquatic ecosystems with boron pollution. *Chemosphere* 157, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.138>

Harrison, S., McAree, C., Mulville, W., Sullivan, T., 2019. The problem of agricultural ‘diffuse’ pollution: Getting to the point. *Sci. Total Environ.* 677, 700–717. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.169>

Holm, G., 1954. Chlorophyll Mutations in Barley. *Acta Agric. Scand.* 4, 457–471. <https://doi.org/10.1080/00015125409439955>

Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q., Chi Chang, C., 2007. Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiol. Biochem.* 45, 62–69. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.12.005>

Hu, C., Hu, N., Li, X., Zhao, Y., 2016. Graphene oxide alleviates the ecotoxicity of copper on the freshwater microalga *Scenedesmus obliquus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 132, 360–365. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.06.029>

Hu, C., Liu, L., Li, X., Xu, Y., Ge, Z., Zhao, Y., 2018. Effect of graphene oxide on copper stress in *Lemna minor* L. : evaluating growth , biochemical responses , and nutrient uptake. *J. Hazard. Mater.* 341, 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.07.061>

Hunt, R., 1982. Plant growth curves: The functional approach to plant growth analysis.

Imron, M.F., Kurniawan, S.B., Soegianto, A., Wahyudianto, F.E., 2019. Phytoremediation

- of methylene blue using duckweed (*Lemna minor*). *Heliyon* 5, e02206.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02206>
- Jastrzębska, A.M., Olszyna, A.R., 2015. The ecotoxicity of graphene family materials: current status, knowledge gaps and future needs. *J. Nanoparticle Res.* 17.
<https://doi.org/10.1007/s11051-014-2817-0>
- Khan, N., Gill, S., 2008. Abiotic Stress and Plant Responses, *Current Opinion in Biotechnology - CURR OPIN BIOTECHNOL.*
- Kistler, R.B., Helvaci, C., 1994. Boron and Borates. *Ind. Miner. Rocks* 171–186.
- Landi, M., Pardossi, A., Remorini, D., Guidi, L., 2013. Antioxidant and photosynthetic response of a purple-leaved and a green-leaved cultivar of sweet basil (*Ocimum basilicum*) to boron excess. *Environ. Exp. Bot.* 85, 64–75.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.08.008>
- Leisinger, U., Rüfenacht, K., Fischer, B., Pesaro, M., Spengler, A., Alexander, J.B., Eggen, R.I.L., 2001. The glutathione peroxidase homologous gene from *Chlamydomonas reinhardtii* is transcriptionally up-regulated by singlet oxygen 395–408.
- Liu, C., Dai, Z., Sun, H., 2017. Potential of duckweed (*Lemna minor*) for removal of nitrogen and phosphorus from water under salt stress. *J. Environ. Manage.*
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.11.006>
- Ma, S., Lin, D., Zhao, J., Wang, Z., White, J.C., Xing, B., 2013. The biophysicochemical interactions at the interfaces between nanoparticles and aquatic organisms: Adsorption and internalization. *Environ. Sci. Process. Impacts* 15, 9995–10009.
<https://doi.org/10.1039/c2em30637a>
- Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awasthi, M.K., Lahori, A.H., Wang, Q., Li, R., Zhang, Z., 2016. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.023>
- Maleki, M., Ghorbanpour, M., Kariman, K., 2017. Physiological and antioxidative

- responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. *Plant Gene*.
<https://doi.org/10.1016/j.plgene.2017.04.006>
- Mandakini, L., Bandara, N., Gunawardana, D., 2016. A Study on the Phytoremediation Potential of *Azolla pinnata* under Laboratory Conditions. *J. Trop. For. Environ.* 6, 36–49.
- Maria Sgherri, C.L., Loggini, B., Puliga, S., Navari-Izzo, F., 1994. Antioxidant system in *Sporobolus stapfianus*: Changes in response to desiccation and rehydration. *Phytochemistry* 35, 561–565. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90561-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90561-2)
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
- Mobin, M., Khan, N.A., 2007. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *J. Plant Physiol.* 164, 601–610. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.03.003>
- Murray, C.C., Maximenko, N., Lippiatt, S., 2018. The influx of marine debris from the Great Japan Tsunami of 2011 to North American shorelines. *Mar. Pollut. Bull.* 132, 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.004>
- Elkins, N.Z.; Parker, L.W.; Aldon, E.; Whitford, W.G. 1984. Responses of soil biota to organic amendments in stripmine spoils in northwestern New Mexico. *J. Environ. Qual.*
- Nable, R.O., Ba, G.S., Paull, J.G., 1997. [art:10.1023/A:1004272227886](https://doi.org/10.1023/A:1004272227886) 181–198.
- Nakano, Y., Asada Uji (Japan). Research Inst. for Food Science), K. (Kyoto U., 1982. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*
- Nassouhi, D., Ergonul, M., ATASAĞUN, S., 2018. The phytoremediation potential of water lettuce *Pistia stratiotes* exposed to Cadmium and Lead.

- Navari-Izzo, F., Meneguzzo, S., Loggini, B., Vazzana, C., Sgherri, C., 2006. The role of the glutathione system during dehydration of *Boea hygroskopica*. *Physiol. Plant.* 99, 23–30. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb03426.x>
- Ng, Y.S., Chan, D.J.C., 2018. Phytoremediation capabilities of *Spirodela polyrhiza*, *Salvinia molesta* and *Lemna* sp. in synthetic wastewater: A comparative study. *Int. J. Phytoremediation* 20, 1179–1186. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1375895>
- Noctor, G., Foyer, C., 1998. Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 249–279. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.249>
- Novoselov, K.S., Fal'Ko, V.I., Colombo, L., Gellert, P.R., Schwab, M.G., Kim, K., 2012. A roadmap for graphene. *Nature* 490, 192–200. <https://doi.org/10.1038/nature11458>
- Oecd, 2006. Test No. 221: *Lemna* sp. Growth Inhibition Test. *Guidel. Test. Chem.* 1–26. <https://doi.org/10.1787/9789264016194-en>
- Pandey, J., Verma, R., Singh, S., 2019. Suitability of aromatic plants for phytoremediation of heavy metal contaminated areas: a review. *Int. J. Phytoremediation* 21, 1–14. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1540546>
- Paolacci, S., Harrison, S., Jansen, M.A.K., 2018. The invasive duckweed *Lemna minuta* Kunth displays a different light utilisation strategy than native *Lemna minor* Linnaeus. *Aquat. Bot.* 146, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2018.01.002>
- Parnian, A., Chorom, M., Jaafarzadeh, N., Dinarvand, M., 2016. Use of two aquatic macrophytes for the removal of heavy metals from synthetic medium. *Ecohydrol. Hydrobiol.* <https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2016.07.001>
- Paulchamy, B., Arthi, G., Bd, L., 2015. A Simple Approach to Stepwise Synthesis of Graphene Oxide Nanomedicine & Nanotechnology 6, 1–4. <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000253>
- Polidoros, A.N., Scandalios, J.G., 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 .) 112–120.

- Porra, R.J.W.A.T.P.E.K., 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents : verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy 975, 384–394.
- Qian, H., Li, J., Sun, L., Chen, W., Sheng, G.D., Liu, W., Fu, Z., 2009. Combined effect of copper and cadmium on *Chlorella vulgaris* growth and photosynthesis-related gene transcription. *Aquat. Toxicol.* 94, 56–61.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.05.014>
- Quintella, C.M., Mata, A.M.T., Lima, L.C.P., 2019. Overview of bioremediation with technology assessment and emphasis on fungal bioremediation of oil contaminated soils. *J. Environ. Manage.* 241, 156–166.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.019>
- Ranjan, P., Agrawal, S., Sinha, A., Rao, T.R., Balakrishnan, J., Thakur, A.D., 2018. OPEN A Low-Cost Non-explosive Synthesis of Graphene Oxide for Scalable Applications 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30613-4>
- Razinger, J., Dermastia, M., Drinovec, L., Drobne, D., Zrimec, A., Koce, J., 2007. Antioxidative responses of Duckweed (*Lemna minor* L.) to short-term copper exposure. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 14, 194–201.
<https://doi.org/10.1065/espr2006.11.364>
- Reddy, R., Appannagari, R., 2018. North Asian International Research Journal of ENVIRONMENTAL POLLUTION CAUSES AND CONSEQUENCES : A STUDY.
- Rosenstein, B., Lewkowicz, M., Kao, H.C., Korniyenko, Y., 2010. Ballistic transport in graphene beyond linear response. *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* 81, 1–5. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.81.041416>
- Sarwar, N., Rehim, A., Kamran, M.A., Shaheen, M.R., Matloob, A., Imran, M., Ishaque, W., Hussain, S., Shaheen, M.R., Ishaque, W., Kamran, M.A., Matloob, A., Rehim, A.,

- Hussain, S., 2017. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. *Chemosphere*.
- Singh, M., Kaushal, S., Singh, P., Sharma, J., 2018. Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry Boron doped graphene oxide with enhanced photocatalytic activity for organic pollutants. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 364, 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2018.06.002>
- Singh, S., Prasad, S.M., 2014. Growth, photosynthesis and oxidative responses of *Solanum melongena* L. seedlings to cadmium stress: Mechanism of toxicity amelioration by kinetin. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 176, 1–10. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.06.022>
- Stout, L.M., Dodova, E.N., Tyson, J.F., Nüsslein, K., 2010. Phytoprotective influence of bacteria on growth and cadmium accumulation in the aquatic plant *Lemna minor*. *Water Res.* 44, 4970–4979. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.073>
- Tan, C., Shan, X., Xu, G., Lin, Y.-M., Chen, Z., 2011. Phytoaccumulation of cadmium through *Azolla* from aqueous solution. *Ecol. Eng.* 37, 1942–1946. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2011.01.010>
- Tanaka, M., Fujiwara, T., 2008. Physiological roles and transport mechanisms of boron: Perspectives from plants. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* 456, 671–677. <https://doi.org/10.1007/s00424-007-0370-8>
- Tang, Y., Tian, J., Li, S., Xue, C., Xue, Z., Yin, D., Yu, S., 2015. Combined effects of graphene oxide and Cd on the photosynthetic capacity and survival of *Microcystis aeruginosa*. *Sci. Total Environ.* 532, 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.081>
- Tavakoli, O., Goodarzi, V., Saeb, M.R., Mahmoodi, N.M., Borja, R., 2017. Competitive removal of heavy metal ions from squid oil under isothermal condition by CR11 chelate ion exchanger. *J. Hazard. Mater.* 334, 256–266.

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.04.023>

- Tehrani, H.S., Moosavi-Movahedi, A.A., 2018. Catalase and its mysteries. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 140, 5–12. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2018.03.001>
- Temel, K., 2016. ERCİYES ÜNİVERSİTESİ Çevre Mühendisliği Bölümü Fiziksel ve Kimyasal Temel İşlemler Laboratuvarı Dersi Güncelleme: Eylül 2016.
- Thompson Terrence, Fawell John, Kunikane Shoichi, Jackson Darryl, A., Stephen, 2012. Chemical Safety of Drinking-Water: Assessing Priorities for Risk Management. *Int. J. Environ. Stud.* 69, 1001–1001. <https://doi.org/10.1080/00207233.2011.565947>
- Toribio, F., Martínez-Lara, E., Pascual, P., López-Barea, J., 1996. Methods for purification of glutathione peroxidase and related enzymes. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 684, 77–97. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-4347\(95\)00504-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-4347(95)00504-8)
- Tükmen, D., Öztük, N., Akgöl, S., Denizli, A., 2010. CHAPTER 2 - High Capacity Removal of Mercury(II) Ions by Poly(Hydroxyethyl Methacrylate) Nanoparticles, içinde: Fan, M., Huang, C.-P., Bland, A.E., Wang, Z., Slimane, R., Wright, I. (Ed.), *Environanotechnology*. Elsevier, Amsterdam, ss. 23–38. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-054820-3.00002-2>
- Türe, C., Bell, R.W., 2004. Plant distribution and its relationship to extractable boron in naturally-occurring high boron soils in Turkey. *Isr. J. Plant Sci.* 52, 125–132. <https://doi.org/10.1560/ldyy-t420-w5lt-jn9y>
- Türker, O.C., Böcük, H., Yakar, A., 2013. The phytoremediation ability of a polyculture constructed wetland to treat boron from mine effluent. *J. Hazard. Mater.* <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.02.032>
- Türker, O.C., Türe, C., Böcük, H., Chen, Y., 2016a. Evaluation of an innovative approach based on prototype engineered wetland to control and manage boron (B) mine effluent pollution 19302–19316. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7122-2>
- Türker, O.C., Türe, C., Böcük, H., Yakar, A., 2016b. Phyto-management of boron mine effluent using native macrophytes in mono-culture and poly-culture constructed

- wetlands. *Ecol. Eng.* 94, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.05.043>
- Türker, O.C., Yakar, A., 2017. A hybrid constructed wetland combined with microbial fuel cell for boron (B) removal and bioelectric production. *Ecol. Eng.* 102, 411–421. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.02.034>
- Türker, O.C., Türe, C., Yakar, A.A., Saz, Ç., 2017. Engineered wetland reactors with different media types to treat drinking water contaminated by boron (B). *J. Hazard. Mater.* 168, 129–141. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.09.023>
- Türker, O.C., Yakar, A., Gür, N., 2017. Bioaccumulation and toxicity assessment of irrigation water contaminated with boron (B) using duckweed (*Lemna gibba* L.) in a batch reactor system. *J. Hazard. Mater.* 324, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.10.044>
- UN-Water Annual Report 2009, 2009.
- UNESCO, 2003. Water for People, Water for Life (Executive Summary). World Water Assess. Program. 36.
- Uruç Parlak, K., Demirezen Yilmaz, D., 2013. Ecophysiological tolerance of *Lemna gibba* L. exposed to cadmium. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 91, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.01.009>
- Van Oosten, M.J., Maggio, A., 2015. Functional biology of halophytes in the phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Environ. Exp. Bot.* <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.11.010>
- Verma, R., Suthar, S., 2015. Lead and cadmium removal from water using duckweed - *Lemna gibba* L.: Impact of pH and initial metal load. *Alexandria Eng. J.* <https://doi.org/10.1016/j.aej.2015.09.014>
- Verma, S., Kuila, A., 2019. Bioremediation of heavy metals by microbial process. *Environ. Technol. Innov.* 14, 100369. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100369>
- Wang, A., Pu, K., Dong, B., Liu, Y., Zhang, L., Zhang, Z., Duan, W., Zhu, Y., 2013. Role

- of surface charge and oxidative stress in cytotoxicity and genotoxicity of graphene oxide towards human lung fibroblast cells. *J. Appl. Toxicol.* 33, 1156–1164. <https://doi.org/10.1002/jat.2877>
- Yao, W., Wang, J., Wang, P., Wang, Xiangxue, Yu, S., Zou, Y., Hou, J., Hayat, T., Alsaedi, A., Wang, Xiangke, 2017. Synergistic coagulation of GO and secondary adsorption of heavy metal ions on Ca/Al layered double hydroxides. *Environ. Pollut.* 229, 827–836. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2017.06.084>
- Yilmaz, D.D., Parlak, K.U., 2011. Changes in proline accumulation and antioxidative enzyme activities in *Groenlandia densa* under cadmium stress. *Ecol. Indic.* <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2010.06.012>
- Zhao, J., Cao, X., Wang, Z., Dai, Y., Xing, B., 2017. Mechanistic understanding toward the toxicity of graphene-family materials to freshwater algae. *Water Res.* <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.12.037>
- Zhao, Z., Shi, H., Kang, X., Liu, C., Chen, L., Liang, X., Jin, L., 2017a. Inter- and intra-specific competition of duckweed under multiple heavy metal contaminated water. *Aquat. Toxicol.* <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.09.023>
- Zhao, Z., Shi, H., Kang, X., Liu, C., Chen, L., Liang, X., Jin, L., 2017b. Inter- and intra-specific competition of duckweed under multiple heavy metal contaminated water. *Aquat. Toxicol.* 192, 216–223. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.09.023>
- Zhao, Z., Shi, H., Liu, Y., Zhao, H., Su, H., Wang, M., Zhao, Y., 2014. The influence of duckweed species diversity on biomass productivity and nutrient removal efficiency in swine wastewater. *Bioresour. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.031>
- Zhou, Q., Lin, Y., Li, X., Yang, C., Han, Z., Zeng, G., Lu, L., He, S., 2018. Effect of zinc ions on nutrient removal and growth of *Lemna aequinoctialis* from anaerobically digested swine wastewater. *Bioresour. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.10.044>
- Zou, W., Bai, H., Gao, S., Li, K., 2013. Characterization of modified sawdust, kinetic and

equilibrium study about methylene blue adsorption in batch mode. *Korean J. Chem. Eng.* 30, 111–122. <https://doi.org/10.1007/s11814-012-0096-y>

Zurutuza, A., Marinelli, C., 2014. Challenges and opportunities in graphene commercialization. *Nat. Nanotechnol.* 9, 730–734. <https://doi.org/10.1038/nnano.2014.225>



Evet Hayır

Tez, “Tez Yazım Kılavuzu”na uygun olarak yazıldı.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dış kapak ve iç kapak sayfası eklerde belirtilen şekilde düzenlendi.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ön sayfalar i, ii, iii şeklinde Romen rakamları ile numaralandırıldı.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dizinler, “Tez Yazım Kılavuzu”na göre sıralandı ve metin içindeki yerleşime göre sayfa numaraları verildi.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Özet ve Abstract hazırlandı.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Onay sayfası “Tez Yazım Kılavuzu”na uygun olarak hazırlandı ve imzalatıldı.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Etik İlke ve Kurallara Uygunluk Beyannamesi sayfası imzalandı.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Simgeler, kısaltmalar, tablolar ve şekillerin tamamı kontrol edilerek ilgili dizinde gösterildi.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ana metinde harf karakteri, harf büyüklüğü ve satır aralıkları “Tez Yazım Kılavuzu”na uygun olacak şekilde düzenlendi.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Görsel öğeler, tablolar (çizelgeler), şekiller ve denklemler metin içine “Tez Yazım Kılavuzu”na uygun şekilde yerleştirildi.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kaynakça “Tez Yazım Kılavuzu”na göre düzenlendi.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kaynakların tamamına tez içerisinde atıfta bulunularak kaynakça bölümünde yer verildi.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Etik Kurul onayı gerekli ise teze eklendi. (Etik Kurul onayı gerekmiyorsa yandaki “HAYIR” kutucuğunun altına “YOK” yazılacak).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anket, görüşme veya veri formları kullanıldıysa ilgili kurumlardan alınan izin yazıları ve formlar teze eklendi. (Bu formlar kullanılmadıysa yandaki “HAYIR” kutucuğunun altına “YOK” yazılacak).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ekler “Tez Yazım Kılavuzu”nda belirtildiği şekilde sunuldu. (Ek kullanılmadıysa yandaki “HAYIR” kutucuğunun altına “YOK” yazılacak).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

“Lemna Cinsine Ait Bazı Bitki Türlerinin Bor Ekotoksitesinin Azaltılmasında Grafen Oksit Kullanımının Etkisinin Araştırılması” başlıklı Tez, yukarıdaki listede yer alan konularla ilgili olarak tarafımızca kontrol edilmiş ve gerekleri yerine getirilmiştir.

22/11/2019

Erhan İLTER

Doç. Dr. Harun BÖCÜK

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Erhan İLTER

Doğum Yeri ve Yılı : Eskişehir / 10.03.1991

İletişim Adresi : erhnilter@gmail.com

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

2015-2019, Eskişehir Teknik Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Botanik, Yüksek Lisans.

2018-2018, Anadolu Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Pedagojik Formasyon.

2011-2015, Anadolu Üniversitesi, İşletme Fakültesi, İşletme, Lisans.

2009-2014, Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji, Lisans.

İlgi Alanları:

Atık Sular

Ekoteknoloji

Bitkisel Arıtım Teknikleri

Bitki Ekolojisi

Yapay Sulak Alanlar

Bitki Biyoteknolojisi

Sınav Bilgileri:

ALES : 70,36

YDS : 65,00