

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SU MERCİMEĞİ (*Lemna minor* Linneaus 1753) KULLANARAK FARKLI
KONSANTRASYONLARDAKİ AĞIR METAL (Cu, Cr, Pb) KARIŞIMLARININ
LABORATUVAR ORTAMINDA BİYOREMEDİASYONU

Esra ÜÇÜNCÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2011

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SU MERCİMEĞİ (*Lemna minor* Linnaeus 1753) KULLANARAK FARKLI KONSANTRASYONLARDAKİ AĞIR METAL (Cu, Cr, Pb) KARIŞIMLARININ LABORATUVAR ORTAMINDA BİYOREMEDİASYONU

Esra ÜÇÜNCÜ

Ankara Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ALTINDAĞ

Bu çalışmada; bakır nitrat [$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$], kurşun nitrat [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$], krom (III) oksit (Cr_2O_3) ve karışımlarının, 7 günlük süreçte, *Lemna minor* (Linnaeus 1753) kullanılarak biyoremediasyonu ve bu metallerin *L. minor* üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar istatistiki olarak Probit analiz (SPSS 17.0) yöntemine göre hesaplanmış ve *L. minor* üzerine, bakırın 48 saatlik EC_{50} değeri 4.359 mg/L, kurşunun EC_{50} değeri 0.875 mg/L ve kromun (III) EC_{50} değeri 10.946 mg/L bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar kurşunun, bakır ve kroma göre *L. minor* üzerine daha toksik olduğunu göstermiştir. Metallerin toksisite sıralaması $\text{Pb} > \text{Cu} > \text{Cr}$ (III) olarak bulunmuştur. Biyoremediasyon çalışmasından elde edilen sonuçlar ise; ICP-MS cihazında okutulmuş ve *L. minor* kullanılarak yapılan 7 günlük çalışma sonunda maksimum uzaklaştırma oranları kurşun için % 89-97, bakır için %37-51 ve krom için %99'un üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca; ICP sonuçlarına göre, karışımdaki bileşenlerin birbirleri üzerine olan etkileri de değerlendirilmiştir.

Haziran 2011, 84 sayfa

Anahtar Kelimeler: Ağır metal, karışım, biyoremediasyon, su mercimeği, *Lemna minor*, EC_{50}

ABSTRACT

Master Thesis

BIOREMEDIATION OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF HEAVY METAL
(Cu, Cr, Pb) MIXTURES BY USING DUCKWEED (*Lemna minor* Linnaeus, 1753)
UNDER LABORATORY CONDITIONS

Esra ÜÇÜNCÜ

Ankara University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ALTINDAĞ

In this study removal of copper nitrate [Cu(NO₃)₂.3H₂O], lead nitrate [Pb(NO₃)₂], chromium (III) oksit (Cr₂O₃) and their mixtures by using *Lemna minor* (Linnaeus, 1753) and toxicities of these metals to *L. minor* in a 7-day period were investigated. The data obtained were statistically evaluated with Probit Analysis method (SPSS 17.0) and the 48h EC₅₀ of copper, lead and chromium to *L. minor* were estimated for Cu to be 4.359 mg L⁻¹, for Pb 0.875mg L⁻¹, and for Cr (III) 10.946 mg L⁻¹ respectively. The results suggested that *L. minor* is more sensitive to lead than copper and chromium alone. The order of toxicity was found as Pb>Cu>Cr. The results of bioremediation tests were analyzed using ICP-MS and maximum removal rates were determined % 89-97 for Pb, %37-51 for Cu and over %99 for Cr (III). Besides, according to the results of ICP, effect of components in the mixture were evaluated.

June 2011, 84 pages

Key Words: heavy metal, mixture, bioremediation, duckweed, *Lemna minor*, EC₅₀

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında mesleki bilgi ve tecrübelerini ve yardımlarını esirgemeyen, çalışmam sırasında her türlü desteği sunan, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ALTINDAĞ (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Dekan Yardımcısı)'a; ilgi ve desteklerini hep yanımda hissettiğim değerli hocam Sayın Doç. Dr. Sibel ATASAĞUN (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi)'a; çalışmalarımın her aşamasında yanımda olan, bilgilerini ve fikirlerini benimle paylaşan ve bana her türlü sıkıntıda usanmadan yardımcı olan arkadaşım Evren TUNCA'ya; çalışmalarım boyunca tüm sorularıma cevap veren, yardımlarını benden esirgemeyen arkadaşlarım Arş. Gör. Şeyda FİKİRDEŞİCİ (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) ve Özge BUYURGAN'a; kimyasal sıkıntımı gideren Sayın Prof. Dr. Mustafa GÜLLÜ (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi)'ye; tezim için gerekli metal okutmalarının yapılmasında yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Fatih DUMAN (Erciyes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü)'a; çalışmam süresince bana güç veren ve desteğini her zaman hissettiğim ikiz kardeşim Tuğba ÜÇÜNCÜ'ye; bilgisayar konusunda sorularımı cevaplayan ve fotoğraflar konusunda benden yardımını esirgemeyen kardeşim Koray ÜÇÜNCÜ'ye; araştırmamın her aşamasında yanımda olan, benden maddi manevi ilgi ve desteklerini esirgemeyen, bana her türlü zorlukla baş edebilme gücünü veren, güvenlerini ve sevgilerini her zaman hissettiğim sevgili annem Fatma ÜÇÜNCÜ ve sevgili babam Osman ÜÇÜNCÜ'ye; laboratuvardaki tüm arkadaşlarıma ve tez çalışmama destek veren TÜBİTAK'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışması; "Su mercimeği (*Lemna minor* Linnaeus 1753) kullanarak farklı konsantrasyonlardaki ağır metal karışımlarının laboratuvar ortamında biyoremediasyonu" konulu 110Y202 no'lu TÜBİTAK projesiyle desteklenmiştir.

Esra ÜÇÜNCÜ

Ankara, Haziran 2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
1.1 Bakır ile İlgili Genel Bilgiler	4
1.2 Kurşun ile İlgili Genel Bilgiler	5
1.3 Krom ile İlgili Genel Bilgiler	7
1.4 Lemnaceae	8
1.4.1 <i>Lemna minor</i> (Linneaus 1753).....	9
1.4.2 <i>Lemna minor</i> 'un sistematığı	10
1.4.3 <i>Lemna minor</i> 'un yayılış alanları	10
1.4.4 <i>Lemna minor</i> 'un morfolojisi, anatomisi ve beslenmesi.....	11
1.4.5 <i>Lemna minor</i> 'un üremesi, büyümesi ve gelişmesi	12
2. KAYNAK ÖZETLERİ	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1 Kültür Şartları	20
3.2 Kullanılacak Cihazlar	20
3.3 Deney Yöntemi	21
3.3.1 <i>Lemna minor</i> (Linneaus 1753)'un deneye hazırlanması	21
3.3.2 Doz belirleme çalışması.....	22
3.4 Biyoabsorbsiyon deneyi	23
3.4.1 Biyodenedeyde stok çözeltilerin hazırlanması.....	24
3.4.2 Doku örneklerinin alımı	25
3.4.3 Su örneklerinin alımı	26
3.5 Numune Hazırlama.....	27
3.6 Seyreltme Suyunun Hazırlanması	27
3.7 EC ₅₀ Çalışmaları	29

3.8 Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	29
4. BULGULAR	30
4.1 Bakır (Cu) Sonuçları.....	30
4.2 Krom (Cr) Sonuçları.....	35
4.3 Kurşun (Pb) Sonuçları.....	40
4.4 EC ₅₀ Çalışmasının Sonuçları.....	45
4.5 Parametre Ölçümleri	51
4.5.1 Deney öncesi parametreler	51
4.5.2 Deney sonundaki parametreler.....	53
4.6 Büyüme Oranı ve Biyokütle İnhibisyon Hesabı	54
5. TARTIŞMA	56
5.1 ICP Sonuçlarının Değerlendirilmesi	56
5.2 EC ₅₀ Sonuçlarının Değerlendirilmesi	60
6. SONUÇ.....	63
KAYNAKLAR	64
EKLER.....	72
EK 1 Toksikolojik Genel Tanımlar	73
EK 2 Kıta İçi Su Kalite Parametreleri (Anonim 2004).....	74
EK 3 Deney öncesinde <i>Lemna minor</i> 'un görünümü.....	75
EK 4 (Cr, Pb, Cu) karışımında bulunan <i>Lemna minor</i> 'un 7. gün sonundaki görünümü	76
EK 5 (2Cr, Pb) karışımında bulunan <i>Lemna minor</i> 'un 7. gün sonundaki görünümü	77
EK 6 (Cr, 2Pb) karışımında bulunan <i>Lemna minor</i> 'un 7. gün sonundaki görünümü	78
EK 7 (2Cu, Pb) karışımında bulunan <i>Lemna minor</i> 'un 7. gün sonundaki görünümü	79
EK 8 (Cu, 2Pb) karışımında bulunan <i>Lemna minor</i> 'un 7. gün sonundaki görünümü	80
EK 9 (Cr, 2Cu) karışımında bulunan <i>Lemna minor</i> 'un 7. gün sonundaki görünümü	81
EK 10 (2Cr, Cu) karışımında bulunan <i>Lemna minor</i> 'un 7. gün sonundaki görünümü	82

EK 11 Kontrol grubunda bulunan *Lemna minor*'un

7. gün sonundaki görünümü	83
ÖZGEÇMİŞ.....	84

SİMGELER DİZİNİ

μ	Mikron
μm	Mikrometre
mg	Miligram
cm	Santimetre
L	Litre
g	Gram
cm^3	Santimetre küp
m	Metre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
%	Yüzde
ppm	Milyonda bir kısım
ppb	Milyarda bir kısım
C	Konsantrasyon (derişim)
EC	Elektriksel iletkenlik
Kg	Kilogram
μg	Mikrogram
mm	Milimetre
LC_{50}	Ortalama Öldürücü Konsantrasyon
EC_{50}	Ortalama Etkili Konsantrasyon
Ca	Kalsiyum

Cr	Krom
Cu	Bakır
Pb	Kurşun
Fe	Demir
Cd	Kadmiyum
As	Arsenik
Mg	Magnezyum
Zn	Çinko
MgSO ₄ .7H ₂ O	Magnezyum sülfat hepdahidrat
HNO ₃	Nitrik asit
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
H ₂ O	Su

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Su mercimeğinin (<i>L. minor</i>) görüntüsü.....	9
Şekil 1.2 Su mercimeğinin (<i>L. minor</i>) morfolojik yapısı.....	10
Şekil 4.1 Bakırın sudaki konsantrasyonu (Cr, Pb, Cu (a, b, c) karışımında).....	30
Şekil 4.2 Bakırın sudaki konsantrasyonu(2Cr-Cu (2a, c) karışımında).....	31
Şekil 4.3 Bakırın sudaki konsantrasyonu(Cr-2Cu (a, 2c) karışımında).....	32
Şekil 4.4 Bakırın sudaki konsantrasyonu(2Pb-Cu (2b, c) karışımında).....	33
Şekil 4.5 Bakırın sudaki konsantrasyonu (Pb-2Cu (b, 2c) karışımında).....	34
Şekil 4.6 Kromun (III) sudaki konsantrasyonu(Cr, Pb, Cu(a, b, c) karışımında).....	35
Şekil 4.7 Kromun (III) sudaki konsantrasyonu(2Cr-Cu (2a, c) karışımında).....	36
Şekil 4.8 Kromun (III) sudaki konsantrasyonu(Cr-2Cu (a, 2c) karışımında).....	37
Şekil 4.9 Kromun (III) sudaki konsantrasyonu(2Cr-Pb (2a, b) karışımında).....	38
Şekil 4.10 Kromun (III) sudaki konsantrasyonu(Cr-2Pb (a, 2b) karışımında).....	39
Şekil 4.11 Kurşunun sudaki konsantrasyonu (Cr, Pb,Cu (a, b, c) karışımında).....	40
Şekil 4.12 Kurşunun sudaki konsantrasyonu (2Pb-Cu (2b, c) karışımında).....	41
Şekil 4.13 Kurşunun sudaki konsantrasyonu (Pb-2Cu (b, 2c) karışımında).....	42
Şekil 4.14 Kurşunun sudaki konsantrasyonu (2Cr-Pb (2a, b) karışımında).....	43
Şekil 4.15 Kurşunun sudaki konsantrasyonu (Cr-2Pb (a, 2b) karışımında).....	44
Şekil 4.16 <i>Lemna minor</i> bitkisinde bakır metali için hesaplanan 48 saatlik probit değerleri ve regresyon grafiği.....	48
Şekil 4.17 <i>Lemna minor</i> bitkisinde krom metali için hesaplanan 48 saatlik probit değerleri ve regresyon grafiği.....	49
Şekil 4.18 <i>Lemna minor</i> bitkisinde kurşun metali için hesaplanan 48 saatlik probit değerleri ve regresyon grafiği.....	50
Şekil 4.19 Karışımların 7.gün sonundaki büyüme oranları.....	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Bakır metali ile ilgili genel bilgiler.....	4
Çizelge 1.2 Kurşun metali ile ilgili genel bilgi.....	5
Çizelge 1.3 Krom metali ile ilgili genel bilgiler.....	7
Çizelge 3.1 Biyoabsorbsiyon deneyi öncesinde yapılan doz belirleme çalışmasında uygulanan konsantrasyonlar.....	23
Çizelge 3.2 Biyoabsorbsiyon deneyinde uygulanan karışımların oranları	24
Çizelge 3.3 Bir hafta boyunca alınan su örneklerinin günlük miktarları.....	26
Çizelge 4.1 Deney sürecinde (Cr, Pb,Cu (a, b, c) karışımında) sudaki bakır miktarı.....	30
Çizelge 4.2 Deney sürecinde (2Cr-Cu (2a, c) karışımında) sudaki bakır miktarı.....	31
Çizelge 4.3 Deney sürecinde (Cr-2Cu (a, 2c) karışımında) sudaki bakır miktarı.....	32
Çizelge 4.4 Deney sürecinde (2Pb-Cu (2b, c) karışımında) sudaki bakır miktarı.....	33
Çizelge 4.5 Deney sürecinde (Pb-2Cu (b, 2c) karışımında) sudaki bakır miktarı.....	34
Çizelge 4.6 Deney başlangıcında ve sonunda dokuda bulunan bakır miktarı.....	35
Çizelge 4.7 Deney sürecinde (Cr, Pb, Cu(a, b, c) karışımında) sudaki krom miktarı.....	35
Çizelge 4.8 Deney sürecinde (2Cr-Cu (2a, c) karışımında) sudaki krom miktarı.....	36
Çizelge 4.9 Deney sürecinde (Cr-2Cu (a, 2c) karışımında) sudaki krom miktarı.....	37
Çizelge 4.10 Deney sürecinde (2Cr-Pb (2a, b) karışımında) sudaki krom miktarı.....	38
Çizelge 4.11 Deney sürecinde (Cr-2Pb (a, 2b) karışımında) sudaki krom miktarı	39
Çizelge 4.12 Deney başlangıcında ve sonunda dokuda bulunan krom miktarı.....	40
Çizelge 4.13 Deney sürecinde (Cr, Pb, Cu (a, b, c) karışımında) sudaki kurşun miktarı.....	40
Çizelge 4.14 Deney sürecinde (2Pb, Cu (2b, c) karışımında) sudaki kurşun miktarı....	41
Çizelge 4.15 Deney sürecinde (Pb-2Cu (b, 2c) karışımında) sudaki kurşun miktarı....	42
Çizelge 4.16 Deney sürecinde (2Cr-Pb (2a, b) karışımında) sudaki kurşun miktarı.....	43
Çizelge 4.17 Deney sürecinde (Cr-2Pb (a, 2b) karışımında) sudaki kurşun miktarı.....	44
Çizelge 4.18 Deney başlangıcında ve sonunda dokuda bulunan kurşun miktarı.....	45
Çizelge 4.19 Bakır nitratin [Cu(NO ₃) ₂ .3H ₂ O] farklı konsantrasyonlarının <i>Lemna minor</i> üzerine etkileri (48h).....	46
Çizelge 4.20 Krom oksitin (Cr ₂ O ₃) farklı konsantrasyonlarının <i>Lemna minor</i> üzerine etkileri (48h).....	46
Çizelge 4.21 Kurşun nitratin [Pb(NO ₃) ₂] farklı konsantrasyonlarının <i>Lemna minor</i> üzerine etkileri (48h).....	47
Çizelge 4.22 Bakırın <i>Lemna minor</i> bitkisine etkisinin EC değerleri.....	48
Çizelge 4.23 Kromun (III) <i>Lemna minor</i> bitkisine etkisinin EC değerleri.....	49
Çizelge 4.24 Kurşunun <i>Lemna minor</i> bitkisine etkisinin EC değerleri.....	50
Çizelge 4.25 Cu, Cr ve Pb'nin 48 saatlik EC50 değerleri.....	51
Çizelge 4.26 Birinci karışımın deney öncesindeki parametreleri.....	51
Çizelge 4.27 İkinci karışımın deney öncesindeki parametreleri.....	51
Çizelge 4.28 Üçüncü karışımın deney öncesindeki parametreleri.....	52
Çizelge 4.29 Dördüncü karışımın deney öncesindeki parametreleri.....	52
Çizelge 4.30 Beşinci karışımın deney öncesindeki parametreleri.....	52
Çizelge 4.31 Altıncı karışımın deney öncesindeki parametreleri.....	52

Çizelge 4.32 Yedinci karışımın deney öncesindeki parametreleri.....	53
Çizelge 4.33 Sekizinci karışımın deney öncesindeki parametreleri.....	53
Çizelge 4.34 Su mercimeklerinin 7. gün sonundaki büyüme oranları.....	54
Çizelge 4.35 Su mercimeklerinin 7. gün sonundaki biyomas inhibisyon oranları.....	55
Çizelge 5.1 Kurşunun her bir karışımdaki 24h ,48h ve 7. gün sonundaki uzaklaştırılma oranları.....	57
Çizelge 5.2 Kromun (III) her bir karışımdaki 24h, 48h ve 7. Gün sonundaki uzaklaştırılma oranları.....	57
Çizelge 5.3 Bakırın her bir karışımdaki 24. ve 48. saat ve 7. Gün sonundaki uzaklaştırılma oranları.....	58
Çizelge 5.4 Bakırın her bir karışımda 7. gün sonundaki absorpsiyon oranları.....	59
Çizelge 5.5 Kromun her bir karışımda 7. gün sonundaki absorpsiyon oranları.....	59
Çizelge 5.6 Kurşunun her bir karışımda 7. gün sonundaki absorpsiyon oranları.....	59
Çizelge 5.7 Cu,Cr ve Pb'nin 48 saatlik EC50 değerleri.....	60

1. GİRİŞ

Ağır metaller; yoğunluğu 5 g/cm³'ten yüksek olan, yer kabuğunda doğal olarak bulunan ve yok edilemeyen bileşiklerdir. Bakır, çinko, kurşun, krom, kadmiyum gibi pek çok metal bu gruba dahildir. Bakır gibi bazı ağır metaller, iz elementlerdir ve canlı yapısında belirli miktarlarda bulunmaları gerekmektedir. Bununla birlikte; yaşamsal olmayan diğer ağır metaller ise; düşük konsantrasyonlarda bile; anemia, beyinde hasar, karaciğer ve böbrek rahatsızlıkları, sinir sistemi bozuklukları gibi ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Cd, Pb ve As insanlar için kanserojendir (Alcorlo vd. 2006).

Günümüzde artan antropojenik etkiler; ağır metallerin, ekosistemlerdeki konsantrasyonlarının artmasına ve dünya çapında en yaygın kirlenici olmalarına sebep olmuştur. Termik santraller, demir-çelik sanayi, çimento ve cam üretimi yapan tesisler, kağıt sanayi, gübre sanayi, yakma tesisleri ve buna benzer pek çok endüstriyel tesis, ağır metallerin çevreye yayılmalarına sebep olmaktadır. Aynı zamanda toprak yapısındaki ağır metaller de, asit yağmurları sonucunda çözünmeyle sulara karışmaktadır.

Bu metaller; suda, toprakta, sedimentte ve canlı organizmalarda birikme özelliğine sahiptir. Esansiyel olsun ya da olmasın, tüm metallerin biyolojik sistemdeki birikimleri, belli bir eşik değerinden sonra toksiktir (Antón vd. 2000).

Ağır metal kirliliği; kimyasal, fiziksel ve biyolojik pek çok yöntemle sudan ayrıştırılabilmektedir (Axtell vd. 2003), fakat; bu metodlar farklı metaller için farklı verimlilikler sunduğu gibi; düşük konsantrasyonlar, yüksek hacimler söz konusu olduğunda bu işlemler çok pahalıya mal olabilmektedir (Miretzky vd. 2004; Hou vd. 2007). Bu nedenle alternatif yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemlerden biri de; biyoremediasyon çalışmalarıdır. Biyoremediasyon yani biyolojik iyileştirme yöntemi, diğer yöntemlere kıyasla çevre dostu, ucuz ve zengin atık metallerin arıtılmasında etkili olan bir yöntemdir (Malik 2004).

Metallerce kirletilmiş çevrelerin, canlı organizmalarca biyoremediasyonu (biyolojik iyileştirilmesi) üzerine çalışmalar, 1980'li yılların sonunda gündeme gelmiştir. Son zamanlardaki çalışmalara bakıldığında, pek çok araştırmacının; ağır metallerin sudan uzaklaştırılmasında, *L. minor* (su mercimeği) ve mikrospora gibi sucul makrofitlerin kullanımına yöneldiği görülmektedir (Hou vd. 2007, Duman vd. 2010). Su mercimeği ya da diğer biyolojik iyileştirme yapabilen canlıların, doğal bir ekosistemin biyoremediasyonu için kullanımı, endüstriyel arıtma tesislerine bir alternatif olabilmesi açısından önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında; sucul bir makrofit olan, su mercimeği kullanılarak, ortamdaki ağır metal temizlenmesi hedeflenmiştir. Su mercimeğinin biyolojik absorpsiyonundan faydalanılarak 3 farklı ağır metalin (Cu, Cr, Pb) sucul ortamdaki temizlenmesi, farklı konsantrasyonlardaki karışımlarının su mercimeğinin biyolojik absorpsiyonunu nasıl etkileyeceğinin araştırılması, bu 3 ağır metalin birbirleri üzerindeki antagonistik ve sinerjistik etkilerinin anlaşılması bu tezin konusunu oluşturmaktadır. Su mercimeğinin seçilmesinde; ağır metalleri akümüle etme yeteneğine sahip olmaları (Wahaab vd. 1995, Axtell vd. 2003, Miretzky vd. 2004), ağır metaller için biyoindikatör olarak kullanılabilirliği (Garczarska ve Ratajczak 2000), yüksek üreme kapasitesinin olması, laboratuvara uygun olması, kültürünün kolay olması, serbest yüzer bir bitki olması ve hasatının kolay olması önemli etkenlerdir (Rahmani ve Sternberg 1999, Elmacı vd. 2009). Ayrıca, sucul bitkiler, sucul çevredeki metallerle ilk bağlantıda olan canlılardır (Singh vd. 2006) ve su mercimeği ülkemizde de yaygın olarak bulunmaktadır (Saygıdeğer 1996). Duckweed olarak da bilinen *L. minor* (Kuhn 1969), optimum büyüme koşulları altında bir hafta içinde kütlesini ikiye katlayabilmektedir. Önceki çalışmalar göstermiştir ki; *L. minor* müthiş bir ağır metal uzaklaştırma yeteneğine sahiptir (Kwan ve Smith 1991, Jain vd. 1989, Jain vd. 1990, Rahmani ve Sternberg 1999).

Yapılan bir çalışmada, *L. minor*'un 3 hafta boyunca 5 mg/l'lik konsantrasyona maruz kaldığında sudan kurşunun %75-90'ını uzaklaştırabildiği tespit edilmiştir (Hou vd. 2007). Başka bir çalışmada ise; 10 günlük periyotta 0.25 ve 1.0 mg/l'lik bakır ve krom konsantrasyonlarında *L. minor*, bakırın %35-40'ını, kromun ise %75-100'ünü çözültiden uzaklaştırmıştır (Wahaab vd. 1995).

Seçilen ağır metallere bakıldığında; Cu, Cr ve Pb ülkemizde yapılan pek çok ağır metal kirliliğinin tespitine yönelik akademik çalışmalarda bir arada bulunmuş, ülkemizdeki ağır metal kirleticilerinin en önemlilerindedir (Cevik vd. 2010, Gurcu vd. 2010, Cicek 2010). Ağır metallerce kirlenmiş ekosistemlerde, genel olarak, kirleticisi ağır metaller karışım halindedirler. Ayrıca; aynı ağır metallerin farklı konsantrasyonlardaki karışımlarının, su mercimeğinin ağır metal tutma kapasitesi üzerindeki etkisi de tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle, bu çalışmada; seçilen 3 ağır metalin, farklı konsantrasyonlardaki karışımları denenmiştir.

Karışımın içindeki bir ağır metal, karışımdaki diğer ağır metallerin, su mercimeği tarafından absorpsiyonunu etkileyebilmektedir (Dirilgen ve İnel 1994). Bu metaller; birbirlerinin etkilerini artırıcı (sinerjistik), azaltıcı (antagonistik) veya ihmal edilebilir düzeyde hafif artırıcı (basit etkileşim) etki gösterebilmektedir (Paustenbach 2000).

EC₅₀; deney organizmalarının %50'sinde anormallikler, morfolojik bozukluklar (yapraklarda sararma, beyazlama ve ayrılma) gibi etki meydana getiren konsantrasyondur. Bu tez çalışmasında, Cu, Cr ve Pb'nin farklı konsantrasyonlarının *L. minor* üzerinde, 48 saatlik EC₅₀ değerleri de tespit edilmiştir.

1.1 Bakır ile İlgili Genel Bilgiler

Çizelge 1.1 Bakır metali ile ilgili genel bilgiler

Sembol	Cu
Atom numarası	29
Atom ağırlığı	63,546(3) g/mol
Element serisi	Geçiş elementleri
Maddenin hali	katı
Yoğunluk	8.96g/cm ³
Atom yarıçapı	135 pm
Kaynama noktası	2562°C, 4643 °F
Buharlaşma ısısı	300,4 kJ/mol
Kristal yapısı	Kübik
Yükseltgenme seviyeleri	(2+), (1+)
Görünüş	Metalik kahverengi

Rengi metalik kahverengi olan bakır (Cu) metali, iz elementtir ve canlı vücudunda belirli miktarda bulunması gerekmektedir. Gerekli bir mikronutrient olan bakır, elektron akışına katılan ve redoks tepkimelerini katalizlemede önemli olan pek çok enzimin bileşenidir (Hou vd. 2007). Yüksek konsantrasyonları toksik etki yaratmaktadır.

Gümüştten sonra en iyi iletken metal olması, pirinç ve bronz gibi endüstriyel anlamda büyük önem taşıyan alaşımları yapabilmesi, bakırın önemini artırmaktadır. Yüksek elektrik geçirgenliği, işlenebilme ve mekaniksel özelliklere sahip olan bakır, elektrik ve elektronik , inşaat, ulaşım ve kimya gibi sanayilerde kullanılmaktadır. Aynı zamanda; doğal ve atık sularda yaygın bulunan kirleticilerdendir.

L. minor üzerinde yapılan çalışmalarda yüksek konsantrasyonlardaki bakırın protein içeriğini inhibe ettiği (Hou vd. 2007), 0.5 mg/L'den daha yüksek konsantrasyonlarda kloroz, nekroz ve yapraklarda ayrılmalara (Khellaf vd. 2010), 1.0 mg/L'de ise; yapraklarda ölüme sebep olduğu (Wahaab vd. 1995) tespit edilmiştir.

1.2 Kurşun ile İlgili Genel Bilgiler

Çizelge 1.2 Kurşun metali ile ilgili genel bilgiler

Sembol	Pb
Atom numarası	82
Atom ağırlığı	207,2(1) g/ mol
Element serisi	Metaller
Maddenin hali	katı
Yoğunluk	11,34 g/cm ³
Sıvı haldeki yoğunluk	10,66 g/ cm ³
Atom yarıçapı	180 pm
Kaynama noktası	2022°K, 1749°C, 3180 °F
Buharlaştırma ısısı	179,5 kJ/mol
Kristal yapısı	Yüzey merkezli kübik
Yükseltgenme seviyeleri	(4+), (2+) amfoter oksit
Görünüş	Mavimsi beyaz

Günümüzde insan faaliyetleri sonucunda çevreye önemli oranlarda yayılan kurşun (Pb), ekolojik sisteme ciddi zararlar vermektedir. Kurşunun benzine ilave edilmeye başlanmasıyla, araçlardan çıkan gazlarla birlikte biyosfere yayılımı daha da artmıştır. Kurşun, boya sanayi, akü imali, kablo izolasyonu, kimyasal maddeler ve pigmentler, petrol rafineleri, pil fabrikaları gibi pek çok kullanım alanına sahiptir.

Kurşunun kullanımı çok eski tarihlere uzanmaktadır. M.Ö. 3000 yılında Sümerler, ilk kurşun heykeli yapmışlardır. Romalılar ise; kurşunu su dağıtım borularında kullanmışlar; aynı zamanda, lezzetlenmesi için şarapları kurşun kaplarda bekletmişlerdir ve bunun sonucunda kronik kurşun zehirlenmeleri yaşamışlardır (Vural 2005). Su borularında kullanılan kurşun kaynaklar, kurşunun suya karışmasına sebebiyet vermekte ve pek çok sağlık problemin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır.

Bunun dışında; özellikle şehir merkezlerine ve endüstriyel tesislere yakın bölgelerdeki yiyecekler, kozmetik ürünlerinde kullanılan pek çok pigment, sigara ve böcek ilaçları kurşun bulundurmaktadır. Günümüzdeki en önemli kurşun kaynağı; benzine katılan tetraetil (TEK) ve tetrametil (TMK) kurşundur. Benzine katılan kurşun miktarı 130 mg/L(ABD) ile 400 mg/L (İsviçre) arasında değişmekte olup, ülkemizdeki miktarları süper benzine 400 mg/L, normal benzine ise, 150 mg/L'dir. Benzine katılan bu bileşikler yanma sonucunda egzoz gazlarıyla, kurşun halojenür ve kurşun oksit gibi çeşitli kurşun bileşikleri olarak atmosfere yayılmaktadırlar.

Kurşunun absorpsiyonu, sindirim ve inhalasyon yoluyla olmaktadır. Günde ortalama besinlerle alınan Pb miktarı 300-500 µg arasında değişmektedir ve insan vücudu normal koşullarda kurşunun günde 1-2 mg kadarını atabilme yeteneğine sahiptir. Kurşunun absorpsiyonu deri yoluyla da olabilmektedir. Absorbe olan kurşunun atılım hızı yavaş olduğundan hayat boyunca vücutta birikmektedir. Kan dolaşımı yoluyla, böbrek, akciğer, dalak gibi pek çok organa dağılmaktadır. 50-60' lı yaşlarda, vücuttaki kurşunun % 90' ı kemiklerde birikmektedir (Vural 2005). Kurşunun absorpsiyonu çocuklarda daha hızlı olmaktadır. Yapılan araştırmalar, çocuklarda kandaki Pb oranının artmasının IQ seviyelerinde düşüşe sebep olduğunu göstermiştir (Kahvecioğlu vd. 2006).

Kurşunun toksik etkisi geniş ölçüde belgelenmiş olup; kurşuna maruz kalmak, anemiya, karaciğer ve böbrekte rahatsızlıklara, anormal sinir sistemi fonksiyonlarına, beyinde hasara ve eninde sonunda ölüme yol açabilmektedir (Jain vd. 1989, Axtell 2003). Kurşunun en önemli etkisi; eritrositlerle ekstra sellüler sıvı arasındaki su-elektrolit alışverişini bozarak, eritrositlerin su ve potasyum kaybetmesine sebep olmasıdır. Eritrositlerin zar bütünlüğü bozularak, parçalanması kolaylaşır ve hemoliz sonucu anemi oluşur (Vural 2005).

Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırmasına göre (1995) kurşun 2. sınıf kanserojen gruptadır.

1.3 Krom ile İlgili Genel Bilgiler

Çizelge 1.3 Krom metali ile ilgili genel bilgiler

Sembol	Cr
Atom numarası	24
Kaynama noktası	2665 °C
Erime noktası	1857 °C
Maddenin hali	kati
Yoğunluk	7,19 g/cm ³
Yükseltgenme seviyeleri	(3+), (6+)

Çok sert bir yapısı olan krom (Cr), boya, kauçuk, kağıt, çimento sanayinde, metallere sertlik sağlamada, kromla kaplamada (kromaj), zırhlı araç yapımında tekstil endüstrisinde ve dericilikte kullanılmaktadır.

Krom (Cr) doğada kromit (FeCr₂O₄) şeklinde bulunur. Cr; her yerde bulunan bir metal olup, EPA (US Environmental Protection Agency)'ya göre kromun ülke içi su kaynaklarındaki limit değeri 0.05mg/L'dir (Maiti vd. 2009).

Kromun (+3) ve (+6) değerlikli iyonları büyük önem taşımakta olup, Cr⁺³ doğada daha yaygın bulunmaktadır. Fosil yakıtların, ağaç ve kağıt ürünlerin yanması sonucunda ve Cr içeren minerallerin endüstriyel oksidasyonu sonucunda +6 değerlikli Cr oluşmaktadır. Okside olmuş Cr havada ve saf suda daha kararlı iken ekosistemdeki organik yapılarda, toprakta ve suda +3 değerliğe geri redüklenir. Yapılan çalışmalar; Cr⁺⁶'nın Cr⁺³'e göre yaklaşık 100 kez daha toksik ve 1000 kez daha mutajenik olduğunu göstermektedir (Polti vd. 2010).

Cr⁺³ insanlar ve hayvanlar için esansiyel eser bir elementtir. Günde besinlerle alınan ortalama Cr miktarı 60 µg olarak tespit edilmiştir. Vücut krom yükü ise, 6 mg'dir. Cr, vücutta, deri, akciğer, kas ve yağ dokusunda birikmektedir (Vural 2005).

Cr⁺³'ün % 0.5-3'ü vücut tarafından adsorbe edilirken, Cr⁺⁶'nın %3-6 (Cr⁺³'ün yaklaşık 3-5 katı kadar fazla)'sı adsorbe edilmektedir. Adsorbe edilen Cr çoğunlukla üre olarak dışarı atılmaktadır (Kahvecioğlu vd. 2006).

Şeker hastalığı, Cr eksikliğinde gözlenmektedir. Cr eksikliği aynı zamanda kurşunun toksikliğini artırırken; yüksek miktardaki Cr⁺⁶, kanser oluşumuna sebebiyet vermektedir. Bunun dışında Cr burunda kanama, üst solunum yolu rahatsızlıkları, astım krizleri, deri rahatsızlıkları, ülser, böbrek ve karaciğerde hasar, sinir dokularında tahrip, sindirim sistemi ve akciğerlerde tahriş gibi pek çok rahatsızlığa sebep olmaktadır.

Krom üretiminde ve kromun kullanıldığı endüstri kuruluşlarında çalışanlarda, solunum yolu kanseri ile kroma maruz kalma arasında bir ilişki tespit edilmiştir. Aynı zamanda, 1936 yılında ilk kez Almanlar, krom tuzuna maruz kalmış işçilerde akciğer kanseri gözlemlemişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda; endüstride kroma kronik maruz kalma ile akciğer kanserinin görülme sıklığının normale göre 14 kat, zenci işçilerde ise 80 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Vural 2005).

1.3 Lemnaceae

Su mercimeğigiller (Lemnaceae); Alismatales takımına ait, kozmopolit bir familyadır. Lemnaceae familyasının *Landoltia*, *Lemna*, *Spirodela*, *Wolffia*, *Wolffiella* ve *Wolffiopsis* olmak üzere 6 cins ve 43 türü bulunmaktadır. Türkiye' de ise bu familyaya ait *Lemna* ve *Spirodela* cinsleri yaygın olarak görülmektedir. Bu familyaya ait türler; yüksek miktarda protein içermekte olup, suda yaşayan canlılar için önemli bir besin kaynağı oluşturmaktadır. Ayrıca; yaklaşık soya fasülyesi kadar protein içeren bu bitkiler, çoğu Güneydoğu Asya ülkesinde yiyecek olarak tüketilmektedir.

Çoğu *Lemna* türü; hızla yayılabilirdikleri tatlı su akvaryumlarında, havuzlarda, göletlerde bulunmaktadır. Bitkiler bu tatlı su sistemlerine; yerli türlerin tüyleri, kürkleri ya da kabukları üzerinde taşınarak doğal yollarla, pek çok nehir, göl, göleti ziyaret eden kaplumbağa, kuş ve sucul memelilerle birlikte gelebilmektedir. Sürekli akıntı halinde olan veya taşan su sistemlerinde, bu bitkiler, su kanallarına doğru taşınmakta, yayılmada büyük ve hızlı bir artış gösterememektedirler.

Bu küçük bitkiler, çoğu sucul türün üzerini örterek, gölge bir alan oluşturmakta ve onları yoğun güneş ışığından korumaktadır. Küçük göletlerdeki çoğu tür, bu bitkileri barınak olarak kullanmaktadır.

Aynı zamanda; bu bitkiler nitrat dönüşümünü sağlamakta, hızlı büyümesi ve mineral nutrientleri absorblama yeteneğinden dolayı biyoremediasyon çalışmaları için de büyük önem taşımaktadır (http://en.wikipedia.org/wiki/Lemna_minor , 2011).

1.4.1 *Lemna minor* (Linneaus 1753)



Şekil 1.1 Su mercimeğinin (*L. minor*) görüntüsü

Suya batık ya da su üstünde yüzer durumda bulunan tatlı sularda yaşayan basit yapılı, küçük sucul bitkilerdir. Çok yıllık monokotil bir bitki olup, Arales takımının Lemnaceae familyasındandır. *L. minor*, Dünya'nın her yerindeki tatlı sularda bulunmaktadır. Monoik bitkilerdir. Her yaprağın alt yüzeyinin merkezinden çıkan çok ince köklere sahiptir. Kökleri basit yapıdadır. Ilıman bölgelerde daha yaygın bulunmakla birlikte; CO₂ oranının yüksek olduğu ötrofik sularda sık görüldüğünden dolayı biyolojik indikatör olarak değerlendirilmektedir (http://tr.wikipedia.org/wiki/Su_mercime%C4%9Figiller, 2011).

L. minor, küçük boyutlu olması, basit yapıda olması, eşeysiz üreme özelliği ve kısa üreme zamanı gibi özelliklerinden dolayı toksisite testlerinde tercih edilmektedirler.

1.4.2 *Lemna minor*'un sistematigi

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta Cronquist, Takht. & Zimmerm. ex Reveal

Class : Liliopsida Batsch

Subclass : Arecidae Takht.

Order : Arales Dumort.

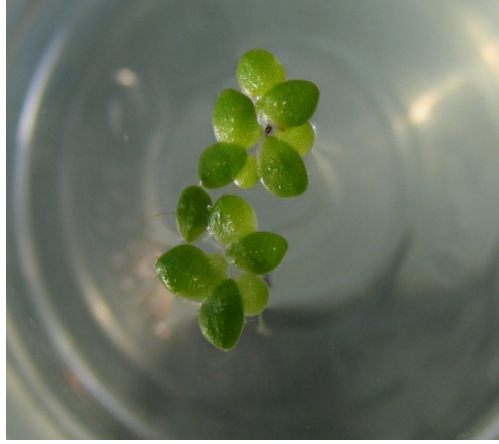
Family : Lemnaceae Martynov

Species : *Lemna minor* Linneaus

1.4.3 *Lemna minor* yayılış alanları

Lemna türleri geniş bir yayılış alanına sahiptir. Ülkemizde de çoğu bölgede; göllerde, havuzlarda, bataklıklarda, kanallarda, pirinç tarlalarında bulunmaktadır. Özellikle ötrofikasyona uğramış CO₂ oranı yüksek olan sularda çok iyi gelişim göstermektedir.

1.4.4 *Lemna minor* morfolojisi, anatomisi ve beslenmesi



Şekil 1.2 Su mercimeğinin (*L. minor*) morfolojik yapısı

L. minor yaprakları, yeşil veya morumsu renkte olup, 1.5-5 mm oval ile eliptik arası bir şekle sahiptir. Çiçekleri torba şeklindeki bir kılıf içindedir. Bir dişi ve 2 erkek çiçekten oluşmaktadır. Kök uzunlukları 14 cm'ye kadar ulaşabilmektedir. Yaprak üzerinde kökün geliştiği yer iç bükey durumdadır. Meyve torbacık şeklinde olup, bir tohum taşımaktadır. Kloroplast içerirler ve fotosentez yaparlar.

Anatomik yapısı incelendiğinde; yaprakların hücre arası boşluklarla ayrılmış kollenkima hücrelerinden oluştuğu görülmektedir. Bu hücreler, bitkinin su üstünde kalmasını sağlamaktadır. Kollenkima hücreleri, elips şeklinde çok sayıda kloroplast içermektedir. Üst yüzeyde ise; stomalar bulunmaktadır (Saygıdeğer 1996).

Su içindeki besin maddeleri lemna yapraklarının alt yüzeyinden absorblanmaktadır.

1.4.5 *Lemna minor* üremesi, büyüme ve gelişmesi

L. minor'un üremesi vejetatif yolla olmaktadır. Vejetatif üremesi de tomurcuklanmayla gerçekleşmektedir. Yaprakların köke bağlandığı yerin yakınında iki cep bulunmaktadır. Bu ceplerde çok sayıda dişi tomurcuk üretilmektedir. Bu tomurcuklar annelerine bağlı yeni bireyler oluşturmaktadır.

L. minor az ışıklı ortamlarda iyi gelişme göstermektedir. Yüksek ışık şiddeti ise; fotosentetik inaktivasyona sebep olmaktadır.

Lemna türleri ayrıca ortam şartları uygun olmadığında (düşük sıcaklıklar, kuraklık gibi) dormansi yani uyku durumuna geçerek su altına çekilirler ve şartlar uygun oluncaya kadar tohum veya tomurcuk halinde kalmaktadırlar.

Çevre şartlarına karşı geniş toleransa (pH 3.5-8.5, sıcaklık 1°C-32°C gibi) sahiptir. Aynı zamanda çabuk üremektedirler. Ekimleri çok kolay olup, kısa sürede büyük biyokütleler elde edilebilmektedir (Saygıdeğer 1996).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünya’da *L. minor*’un metallerin biyolojik temizlenmesinde kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Jain vd. (1990) yapmış oldukları çalışmada, *Azolla pinnata* ve *L. minor* kullanılarak kirli sudan Zn ve Pb’nun giderimini incelemişlerdir. *Azolla* ve *Lemna*, 14 günlük test periyodu süresince 1.0, 2.0, 4.0 ve 8.0 mg/L’lik konsantrasyonlara maruz bırakılmıştır. Su mercimeğiyle muamele sonrasında, artık çözeltiler içindeki Pb ve Zn’nun kalan konsantrasyonları 1.0 ve 2.0 mg/L seviyelerinde ölçülmüştür. Aynı zamanda bu çalışmada, bu iyonların biyomas büyüme oranları üzerine etkisi de çalışılmıştır. Wahaab vd. (1995) yapmış oldukları çalışmada, Cu ve Cr’un su mercimeği tarafından alınımı araştırmışlardır. Bitkiler 10 gün boyunca, 0.25 ve 1.0 mg/L Cu ve Cr çözeltilerine maruz bırakılmıştır. Piston vd. (1999) yaptıkları çalışmada, Se’nin *L. minor* üzerindeki büyüme etkilerini araştırmıştır. Rahmani ve Sternberg (1999), canlı, ölü, önceden Pb ile muamele edilmiş ama canlı *L. minor*’lerin Pb’u biyolojik temizlemeleri üzerinde çalışmışlardır. Prasad vd. (2001) yapmış oldukları çalışmada, *Lemna trisulca* üzerinde Cu ve Cd’un etkileri araştırmışlardır. Cu’nun Cd’a oranla 1000 kat daha düşük konsantrasyonlarda toksik semptomlar gösterdiği saptanmıştır. Wang vd. (2002) yapmış oldukları çalışmada, *Polygonum amphibium*, *Lemna minor*, *Eichhornia crassipes*, *Oenathe javanica* ve *Lepironia articulata* olmak üzere 4 tür üzerinde N, P ve 3 ağır metalin (Cd, Hg ve Pb) etkilerini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda, (*Polygonum amphibium* L.’nin N ve P için, *L. minor*, *Eichhornia crassipes*’in Cd için ve *Oenathe javanica*’nin ise Pb için iyi bir akümülatör olduğu tespit edilmiştir. Fjallborg ve Dave (2003) yapmış oldukları çalışmada, lağım suyundaki Cu’nun *Daphnia magna*, *L. minor* ve *Raphanus sativus*’un tohumları üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Axtell vd. (2003), *Microspora* ve *L. minor* kullanarak Pb ve Ni’in uzaklaştırılmasına yönelik bir çalışma yapmışlardır. Deneyde kurşun nitrat ve nikel nitrat kullanılmış olup, deneyler 8 günlük periyotta 3 tekrar halinde yürütülmüştür. Kontroller; metal ve biyomasın olmadığı sadece su, biyomassız-metalli ve biyomaslı-metalsiz gruptan oluşturulmuştur. *Microspora*’nın geniş Pb konsantrasyonlarını tolere edebildiği belirlenmiştir. Başlangıç konsantrasyonu 38 mg/L olan Pb, 1.2 mg/L’ye azalmıştır ve total uzaklaştırma oranı % 95’in üzerinde olduğu bulunmuştur. *L. minor*’un genel uzaklaştırma oranları ise; Pb için % 76, Ni için % 82 olarak

belirlenmiştir. Blinova (2004), bir alg türü olan *Selenastrum capricornutum*, su mercimeği *L. minor*, bir krustase olan *Thamnocephalus platyurus* ve *Daphnia magna* üzerinde; Cr (III), Pb (II), Cu (II), Cd (II), pyrene'nin etkisini araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda, *L. minor*'un, *Selenastrum*'a oranla; *D. magna*'nın ise bitki türlerine göre daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Miretzky vd. (2004), ağır metallerin eş zamanlı temizlenmesinde sucül makrofitlerin potansiyelini araştırmışlardır. Çalışmada, suda yüzer durumda bulunan 3 otokton tür (*Pista stratiotes*, *Spirodela intermedia* ve *L. minor*) kullanılmıştır. Bu türler 15 gün süresince çok sayıda farklı konsantrasyonlarda ağır metale (Fe, Cu, Zn, Mn, Cr ve Pb) maruz bırakılmıştır. Su ve makrofit metal konsantrasyonu arasında yüksek bir ilişki gözlenmiştir. Oporta vd. (2006), Cr (VI)'un kirli sulardan *L. minor* kullanılarak kaldırılması üzerine bir örnekleme ve deneysel çalışma yapmışlardır. Drost vd. (2007), *L. minor* üzerinde ağır metal toksisitesi çalışmışlardır. Ağır metale maruz kalma sonrasında iyileşme ve büyüme inhibisyonunun zamana bağlı değişimi çalışılmıştır. Çalışmada, öncelikli olarak Zn, Cu, Ni ve Cd olmak üzere 4 metal kullanılmıştır. Çalışmanın amacı, gözlemlenen toksisite üzerinde maruz kalma süresinin etkisi ve iyileşme için potansiyelin tespit edilmesidir. 7 gün maruz kalma sonucunda, Zn ve Ni düşük toksisite ($EC_{50}=56.3$ ve $46.11M$) gösterirken, Cd ve Cu *Lemna*'da en yüksek toksisiteyi ($EC_{50}=1.9$ and 9.7 IM) göstermiştir. Bu sonuçlar, belirlenmiş bir zaman boyunca sürekli maruz kalma sonrasında kaydedilen toksik etkilerin yerine, toksisitenin dinamiklerini daha fazla göz önünde bulundurma gereksinimine işaret etmektedir. Hataono ve Shoji (2007), su mercimeği üzerinde biyotil ligant modellemesiyle Cu ve Cd toksisitesi çalışmışlardır. Hou vd. (2007), ağır metallerce kirletilmiş su kütlesi üzerinde Cu ve Cd'un etkisinin belirlenmesi ve *L. minor* kullanılarak suyun iyileştirilmesine yönelik bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada, bakır sülfat ve kadmiyum diklorid kullanılmış olup; *Lemna* yaprakları, Steinberg mediumuna göre belirlenmiş konsantrasyonlara (0.0, 0.05, 0.5, 5, 10, 20mg/l) maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda; Cu ve Cd'un çözünebilir proteinler, fotosentetik pigmentler ve antioksidant enzimler ve MDA üzerine etkisi belirlenmiştir. 4 günlük muamele sonrasında, 0.05 mg/L Cu^{+2} 'ye maruz kalan *Lemna*'nın çözünebilir protein içeriğinde önemsiz bir düşüş olurken, 0.05 ve 0.5 Cd varlığında hızlı ve güçlü bir inhibisyon görülmüştür. *Lemna* yaprakları, 0.5mg/L Cd'ye maruz kaldığında, antioksidan sistem düzensizleşmektedir. Hurd ve Sternberg (2008)

yapmış oldukları çalışmada, *L. minor* kullanılarak sulu kurşunun uzaklaştırılmasını gözlemlemişlerdir. *L. minor*, 7 gün boyunca 0.0, 5.0, 10.0 mg/L Pb'a maruz bırakılmıştır. Jain vd. (1990) yaptıkları çalışmayla, *L. minor*'un biyoabsorbsiyon için mükemmel bir tercih olduğunu tespit etmişlerdir. *Lemna* başlangıç konsantrasyonun % 95'ini ortamdan kaldırabilme ve sadece 1 nesli ile konsantrasyon oranını 0.1 mg/L'ye kadar indirebilme özelliğine sahip bulunmuştur. *L. minor*'un 1 gram yaş ağırlığı, % 85-95 oranında Pb'u uzaklaştırma özelliğindedir. Alvarado vd. (2008), sucul bitkiler *Eichhornia crassipes* ve *L. minor* ile biyoremediasyonla sulardan As'in kaldırılması üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. As'li ve As'siz suda bulunan *Lemna* arasında önemli bir davranış farklılığı gözlenmemiştir. Khellaf ve Zerdaoui (2009) yaptıkları çalışmada, ağır metal kirliliğindeki *L. minor*'un büyüme tepkilerini çalışmıştır. Bulunan EC₅₀ değerleri; Cu: 0.47 mg/L Ni: 1.29 mg/L Cd: 0.64 mg/L Zn: 5.64 mg/L'dir. 24 saat sonrasında 0.5 mg/L Cu'nun yapraklar üzerinde klorozis (yapraklarda solma) ve yapraklarda parçalanma etkisi gösterdiği gözlemlenmiştir. Khellaf vd. (2010) yaptıkları çalışmada, Cd, Cu, Ni ve Zn'nun *Lemna*'nın gelişimi üzerine etkilerini saptamak için bir çalışma yapmışlardır. Günlük semptomlar (nekrozis, klorozis, yaprak parçalanmaları) incelenmiştir. Appenroth vd. (2010) *Spirodela polyrhiza* ve *L. minor*'un kloroplastları üzerinde Ni'in etkisi ve bunların biyomonitör, fitoremediasyon ve biyoremediasyon üzerinde olası kullanımları konulu bir çalışma gerçekleştirmişlerdir.

Türkiye'de metallerin biyolojik temizlenmesiyle ilgili birçok çalışma mevcuttur. Sağlam ve Cihangir (1995), ağır metallerin biyolojik süreçlerle biyoabsorbsiyonu çalışmaları üzerine bir derleme yapmışlardır. Cd'un *Pleurotus sajor-caju* tarafından temizlenmesi, Cihangir ve Sağlam tarafından (1999) çalışılmıştır. Kara (2002), *Nasturtium* kullanarak Zn⁺⁺'nin kontamine olmuş atık sularda fitoremediasyonunu çalışmıştır. Turan ve Angin (2004), mısır ve ayçiçek bitkisinde çeşitli organiklerin farklı konsantrasyonlarını kullanarak ağır metal (B, Cd, Mo, Pb) tutma kapasitesine etkisini çalışmışlardır. Turgut vd. (2004) *Helianthus annuus* kullanarak EDTA ve sitrik asitin topraktan Cd, Cr, Ni fitoremediasyonuna etkisini çalışmışlardır. Turgut vd. (2005), EDTA'nın *Helianthus annuus*'un alım seçiciliğine etkisi ve farklı bölge topraklarında büyürken ağır metal translokasyonu konulu bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Sogut vd. (2005), *Pennisetum* bitkisini kullanarak, doldurulmuş alan topraklarında

fitoremediasyon konulu bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Sagiroglu vd. (2006), Keban madeni bölgesi için hiperakümülatör bitkiler ve çevreye etkilerini çalışmışlardır. Cimrin vd. (2007), kalkerli topraklarda, bitkiler tarafından yapılan ağır metal temizlenmesine sülfürün etkisi isimli çalışmayı gerçekleştirmişlerdir. Erenoglu vd. (2007), mısırdaki bağlanmış kromun, EDTA tarafından alınımı konu eden bir çalışma yapmışlardır. Kara ve Zeytinluoglu (2007), kadmiyum ve bakırın *Groenlandia densa* tarafından biyolojik birikimi üzerine bir çalışma yürütmüşlerdir. Sonmez vd. (2008), üç yabancı otta, Cd, Pb ve Zn ağır metallerinin birikimi ve toleransının değerlendirilmesi üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Demirel vd. (2009), İstanbul Küçükçekmece Lagünü'nden elde edilen *Synechocystis* sp. E35'nin üzerindeki Fe toksisitesinin ve Fe'in temizlenmesi isimli bir çalışma yapmıştır. Argun ve Dursun (2009) yılında yaptıkları çalışmada, ağır metal adsorpsiyonu için doğal adsorbentlerin modifikasyonuna yeni bir yaklaşımı konu etmişlerdir.

Türkiye'de *L. minor* ile ilgili de pek çok çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmalar, *L. minor*'un taksonomisi, dağılımı, biyolojik birikimi ve biyolojik iyileştirme konularını içermektedir. Dirilgen ve İnel (1994), Co-Cu ve Co-Zn'nun su mercimeğinin büyümesi üzerine etkisi ve metal akümülayonu üzerine bir çalışma yapmışlardır. Dirilgen ve İnce (1995) yürüttükleri çalışmada, su mercimeği üzerinde SDS'nin büyüme ve birikimi de göz önünde tutularak inhibisyon etkilerini araştırmışlardır. Tileklioglu vd. (1996), sigara dumanının *Triticum vulgare* ve *L. minor*'un büyümesi ve gelişimi üzerinde etkilerini konu alan bir çalışma yürütmüşlerdir. Saygıdeğer (1986), *Lemna gibba* ve *L. minor*'un morfolojik, anatomik, ekolojik ve fizyolojik özellikleri üzerine karşılaştırmalı bir çalışma yapmıştır. Bu taksonomik çalışmada iki türün ayırt edici özellikleri şekillerle, ölçümlerle ve klorofil ve protein miktarlarının ölçümleriyle karşılaştırılmıştır. Dirilgen (1998), pH'nın ve EDTA'nın Cr toksisitesi ve *L. minor*'da birikimi üzerine etkilerini çalışmıştır. Hasar ve Öbek (2001), toksik metallerin sulu çözeltilerden su mercimeği (*L. minor*) kullanılarak kaldırılmasında hasatın ve adsorpsiyon izotermelerinin rolü üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Dirilgen (2001) yaptığı çalışmada, tatlısu organizmalarında ağır metallerin birikimi ve toksik etkilerin değerlendirilmesini araştırmıştır. Öbek ve Hasar (2002), biyolojik fosfatın sulardan kaldırılmasında su mercimeğinin (*L. minor*) rolü üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Özbay (2002),

su derinliği ve *L. minor*'un alg büyümesine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi üzerine bir çalışma yapmıştır. Kara vd. (2003), nikelin sucul makrofit *L. minor* tarafından biyolojik birikimi üzerine bir çalışma gerçekleştirmiştir. Saygıdeğer ve Doğan (2004) yaptıkları çalışmada, EDTA'nın varlığında, *L. minor* ve *Ceratophyllum demersum*'da Pb ve Cd akümülasyonu ve toksisitesini araştırmışlardır. Kara (2004), *L. minor* kullanılarak pis atıksulardan bakırın biyolojik birikimi üzerine bir çalışma gerçekleştirmiştir. Saygıdeğer vd. (2005) yapmış oldukları çalışmada, *L. minor*'un Cd (II), Cu (II) ve Ni (II) adsorbsiyonu ve fizikokimyasal çevrenin etkisini araştırmışlardır. Yılmaz vd. (2005), Sakarya Üniversitesi kampüsü atıksularının karakterizasyonu ve su mercimeği (*L. minor*) ile arıtılabilirliği konulu bir çalışma yürütmüşlerdir. Kara ve Kara (2005), su mercimeği *Lemna trisulca* kullanılarak Cd'un sudan kaldırılması üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Gürtekin ve şekerdağ (2008), son çökeltme havuzlarında su mercimeğinin (*L. minor* L.) rolü üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir ve bu çalışmada, bir klasik biyolojik atıksu arıtma tesisinin son çökeltme havuzunda oluşan su mercimeğinin, çıkış suyu kalitesine ve çökeltme karakteristiğine olan etkisi araştırılmıştır. Uruç vd. (2008) farklı pH değerlerinin *Lemna gibba* ve *L. minor*'de Ni alınımı ve klorofil miktarına etkisi konulu bir çalışma yapmışlardır ve farklı pH değerlerinin *L. minor* ve *Lemna gibba*'da Ni birikimi ve klorofil a ve b miktarı üzerindeki etkisini laboratuvar koşulları altında incelemişlerdir. Bekcan vd. (2009), farklı derecelerdeki likit gübrelerin, su mercimeği (*L. minor*) büyümesi üzerinde etkilerinin ölçümü konulu bir çalışma yapmışlardır. Duman vd. (2009), Ni, Cu ve Cd'un *Spirodela polyrhiza* ve *Lemna gibba*'daki biyolojik birikimini çalışmışlardır. Elmacı vd. (2009), *L. minor* kullanılarak Cr, Cu, Pb, Zn'nun temizlenmesine yönelik bir çalışma yapmışlardır. *L. minor*'un maksimum adsorbsiyon kapasitesi, düşük (20, 30, 40 mg/L) konsantrasyonlarda gözlenmiştir. En iyi uzaklaştırma oranları, Cr için 20 mg/L' de % 62.5, Cu için 20 mg/L' de % 69.12 , Pb için 60 mg/L 'de % 94.19 ve Zn için 30 mg/L'de % 42.36 olarak elde edilmiştir. Uysal ve Taner (2009), sucul bitki *L. minor*' un özünür Pb'nun farklı laboratuvar koşullarında kaldırılma yeteneğinin incelenmesi için bir çalışma yapmışlardır. *L. minor*, farklı pH değerlerine ve sıcaklığa maruz bırakılmıştır. 168 saat boyunca kuru ağrılık bazında elde edilen biyomasın miktarı, Pb ortamındaki ve dokularındaki miktarı, *Lemna* tarafından tutulan net miktarı her koşulda çalışma periyodu boyunca ölçülmüştür. Pb'nun tutulma kapasitesinin yüzde olarak

oranları ve biyokonsantrasyon faktörleri bu şartlar boyunca ayrıca ölçülmüş, hesaplanmıştır. Uysal ve Taner (2010), Cd'un *L. minor* kullanılarak farklı koşullardaki sucul ortamlardan kaldırılması üzerine bir çalışma yürütmüşlerdir. Duman vd. (2010) yılında yaptıkları çalışmada, inorganik arsenik türleri olan As (III) ve As (V)'e maruz bırakılan su mercimeğinin (*L. minor*) biyolojik tepkilerini araştırmışlardır.

Uluslararası literatürde biyolojik iyileştirmeye ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır. Lovley ve Coates (1997) yaptıkları çalışmada, metal kirliliğinde biyolojik iyileştirmeyi araştırmışlardır. Mejare ve Bülow (2001) yaptıkları çalışmada, ağır metallerin fitoremediasyonunda ve biyoremediasyonunda metal bağlayıcı protein ve peptidleri araştırmışlardır. Mulligan ve Galvez- Cloutier (2003) metal kirliliğinde biyoremediasyon çalışmışlardır. Malik (2004) yaptığı çalışmada, büyüyen hücrelerde metal biyoremediasyonunu araştırmıştır. Özellikle mikroorganizmalar üzerinde duran bu çalışma derleme niteliğindedir. Dias ve Gomes (2006), hırdik kirliliğın kontrolü için fitoremediasyona bakış konulu bir araştırma yapmıştır. Fitoremediasyon ve ekosistem restorasyonu ile ilgili Schröder vd. (2007) yaptıkları çalışma, Avrupa'daki kirli suların fitoremediasyon teknikleri kullanılarak iyileştirilmesi üzerinedir. Shah ve Nongkynrih (2007), metal hiperakümülyasyonu ve biyoremediasyonu ile ilgili bir derleme çalışması yapmışlardır. Memon ve Schröder (2009) metal birikim mekanizmalarının fitoremediasyonla ilişkisini araştıran bir çalışma yürütmüşlerdir. Rehman vd. (2009) yaptıkları çalışmada, *Euplotes mutabilis*'in ağır metal alması ve bunun sanayide muhtemel kullanımı üzerine bir çalışma yürütmüşlerdir.

Biyolojik iyileştirmede de birçok canlı kullanılabilir. Miretzky vd. (2004) yaptıkları çalışmada sucul makrofitlerin, Gifford vd. (2005) inci istiridyasının, Bhainsa ve D'Souza (2008) bir mantar türünün, Al Hasin vd. (2010) bakterilerin metal temizlenmesinde potansiyelini konu etmişlerdir.

Ağır metal karışımları ile ilgili bazı çalışmalar da mevcuttur. Ince vd. (1999), “ikili karışımların ağır metallerin toksik etkileşimlerinin değerlendirilmesine istatistiki bir bakış” konulu bir çalışma yurutmüşlerdir. Paustenbach (2000) yaptığı derlemede, karışım sonucu metaller canlı organizmanın da etkisiyle birbirlerini arttırıcı (sinerjistik), azaltıcı (antagonistik) veya ihmal edilebilir düzeyde hafif (basit etkileşim) etki gösterebildiği belirtilmiştir. Dirilgen ve Doğan (2002), Cu ve Zn'nun varlığında ve bunların karışımlarının toksisitesinde Cr'un farklılaşması üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir.

Yim vd. (2006) yaptıkları çalışmada, *Daphnia magna* kullanılarak yurütölen metal karışımları çalışmalarının akut toksisitesinde sertliğin etkilerini konu etmişlerdir. Horvat vd. (2007) yaptıkları çalışmada *L. minor* üzerinde ağır metal karışımlarının toksisite değerlendirilmesi yapılmıştır. Çalışmada, metallerin bitkiler üzerindeki ve sudaki karışımlarının toksik etkileşimlerini açıklamak güç olduğundan karışım ile ilgili çalışmaların literatürde oldukça sınırlı olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmanın amacı ağır metal karışımlarının biyoindikatör tür olan *L. minor* üzerindeki toksik etkilerinin ölçümünü anlamaktır. *L. minor*, besin zincirinin ilk basamağı olması, metal kirliliği çalışmalarının göstergesi ve biyoindikatör organizması olması ve ağır metalleri biriktirebilme özelliğinden dolayı seçilmiştir. Cooper vd. (2009), Cu, Pb ve Zn karışımlarının *Ceriodaphnia dubia* ve *Daphnia carinata* üzerinde toksisitesini çalışmıştır.

Doğal ortamlarda yurütölen biyoremediasyon ve birikim çalışmaları da vardır. Debusk vd. (1996), sulak alan mikrokozmlarında Pb ve Cd'un tutulma ve ayrılmaları üzerine bir çalışma yurutmüşlerdir. Ansari ve Khan (2008) kontrollü bir çevrede *L. minor* kullanarak, ötrofik karakterdeki bir su kaynağını iyileştirmek üzerine bir çalışma yurutmüşlerdir. Jackson vd. (2009), Plankenburg Nehri'nde gerçekleşen metal kirlenmesinde biyoremediasyon konulu bir çalışma yurutmüşlerdir. Doğal ortamda gerçekleştirilen bu çalışma sonucu Fe, Cu, Mn ve Ni büyük oranda nehrin belli bölgelerinde azaltılırken, Al ve Zn için başarılı olunamamıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Algoloji Laboratuvarı ve Ankara Üniversitesi serasında gerçekleştirilmiştir.

3.1 Kültür Şartları

L. minor (su mercimeği) kültür şartları, OECD prosedürüne uygun olarak hazırlanmıştır (Anonymous 2002). Kültüre alınacak olan test organizması *L. minor*, daha önceden gölden temin edilmiş olup, Ankara Üniversitesi serasında bulunan havuzlara ekilerek bu havuzlarda yetiştirilmiştir. Havuzlardan alınan su mercimekleri, 50 L'lik cam akvaryumlara 8 haftalık bir periyotta alıştırılmıştır. Bu süreçte, su mercimeklerinin kök gelişimi ve yaprak sayılarının da değerlendirilmesi yapılarak, sağlanacak koşullarda ne kadar zamanda çoğalabildiği tespit edilmiştir.

Kültür için OECD(2002) standartlarına göre seyreltme suyu hazırlanmıştır. Su mercimekleri seyreltme suyu içeren akvaryumlara ekilmiştir. Örnekler deneyden 7 gün önce, aseptik aletlerle yeni steril kültür kaplarına alınarak, test koşullarına alıştırılmıştır.

Serada doğal aydınlatma ve doğal ısı değişimi altında yarı kontrollü olarak deney gerçekleştirilmiştir. Seradaki sıcaklık değeri 5-20 derece arasında değişkenlik göstermiştir.

3.2 Kullanılacak Cihazlar

Test ortamıyla temas halinde olan tüm ekipmanlar, camdan ya da diğer tepkimeye girmeyen kimyasal materyallerden kullanılmıştır. Test kapları, kontroldeki farklı kolonilerin yapraklarının, testin sonunda da üst üste binmeksizin gelişebilmesi için yeterince geniş olacak şekilde, minimum derinliğin her bir test için 20 mm, minimum hacmin ise 100 mL olmasına dikkat edilerek seçilmiştir (Anonymous 2002). Aynı zamanda çözelti hacmi ile kap hacmi oranının 2:5 olması tavsiye edilmektedir

(Anonymous 1996). Bu nedenle deneyde; her birinin içinde 200 mL test çözeltisi olacak şekilde, 500 mL'lik plastik su kapları kullanılmıştır.

Test kaplarının üstü ise, evaporasyonu (buharlaştırma) ve kazara kontaminasyonları önlemek için kapatılmıştır (Anonymous 2002). Güneş ışığını geçirebilmeleri için cam kapaklar kullanılmıştır.

Saf su ortamı Millipore Milli-Q ultra saf (Milli-Di, France) su sistemi kullanılarak oluşturulmuştur. pH ve EC ölçümü için Consort C535 marka pH metre; sudaki çözülmüş oksijen ve sıcaklık değerleri için YSI 55 D tip oksijenmetre kullanılmıştır. Ayrıca, deneyde % 65'lik nitrik asit [HNO_3 , Merck (extra pure)] kullanılmıştır.

3.3 Deney Yöntemi

3.3.1 *Lemna minor* (Linnaeus, 1753)'un deneye hazırlanması

Biyodeneye başlarken, belirli üretim koşullarında elde edilmiş su mercimeklerinin 2 ya da 3 yapraklı olmasına dikkat edilerek her deney için 21 adet *Lemna* yaprağı seçilmiştir. Bir yapraklıların çoğu, çevresel stresin, besin limitinin bir göstergesi olduğundan ve test için kullanımı uygun olmadığından tercih edilmemiştir (Anonymous 2002). Deney süresince bitkilerin dış etkenli herhangi bir organizma ile kontamine olması engellenmiştir.

Biyodeneyde toksik madde olarak bakır nitrat [$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$], kurşun nitrat [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$] ve krom oksit (Cr_2O_3) metallerinin karışımları (v/v) kullanılmıştır. Çözeltilerin hazırlanmasında, kimyaca inert ve yeterli büyüklükteki cam materyaller kullanılmıştır. Tüm materyaller % 65'lik nitrik asit ile temizlenmiş ve sonrasında kullanılmadan önce en az 3 kez saf su ile durulanmıştır.

Analitik saflıktaki reaktiflerin bilinen miktarları, iletkenliği en fazla 10 TS/cm olan yeraltı suyu, damıtık su veya eşdeğer saflıktaki iyonları giderilmiş suda çözünmüştür. Hazırlanan seyreltme suyunun pH'sının 6.5 ± 0.2 olmasına dikkat edilmiştir (Anonymous 2002).

Biyoabsorbsiyon deneyinden önce bir ön çalışma yapılarak deneyde uygulanacak en uygun doz belirlenmiştir. Deneye başlamadan, kültürdeki bitkilerin bünyesindeki Cu, Cr ve Pb' yi saptamak için kültürden 3 grup halinde ve deneyin sonunda da tüm karışımlardan ve kontrol grubundan doku örnekleri alınmıştır. Aynı zamanda; deney süresi boyunca (7 gün) her gün su örnekleri alınmıştır. Deney öncesinde ve deneyin bitiminde, tüm test gruplarının parametreleri ölçülmüş ve fotoğrafları çekilmiş olup, su mercimeklerinin yapraklarındaki değişimler gözlenmiştir.

3.3.2 Doz belirleme çalışması

Deneyde kullanılacak dozların belirlenmesi için bir ön çalışma yapılmıştır. Ön çalışmadaki dozlar, kıta içi su kalite parametreleri ve kullanılan ağır metallerin EC₅₀ değerleri baz alınarak belirlenmiştir. Cu, Cr ve Pb'nun eşit ve farklı konsantrasyonları olacak şekilde 8 farklı konsantrasyon hazırlanmıştır. Karışımlar 1 hafta süreyle bekletilmiş ve gelişmeler gözlenmiştir. Burada amaç; 1 hafta sürecek asıl deney için, bu süreçte su mercimeklerini öldürmeyecek ve uygulanabilecek en yüksek metal konsantrasyonlarının belirlenmesidir.

Doz belirleme çalışmaları 100 mL'lik beherlerde yürütülmüştür. Her bir doz 3 tekrarlı olacak şekilde yapılan çalışmada, toplamda $8 \times 3 = 24$ beher ve 3 tane de kontrol grubu gözlemlenmiştir. Kullanılacak malzemeler deney öncesinde, öncelikle deterjanlı suda bekletilerek yıkanmış, sonrasında nitrik asitten geçirilmiştir. Saf suyla 3 kez durulanmak suretiyle sterilize edilmiştir.

Çizelge 3.1 Biyoabsorbsiyon deneyi öncesinde yapılan doz belirleme çalışmasında uygulanan konsantrasyonlar

	Cr (III)	Cu	Pb
1. karışım	0.2mg/L	0.5mg/L	0.2mg/L
2. karışım	0.5mg/L	2mg/L	0.5mg/L
3. karışım	10.4mg/L	3mg/L	0.2mg/L
4. karışım	13mg/L	0.4mg/L	0.2mg/L
5. karışım	17mg/L	0.5mg/L	0.3mg/L
6. karışım	26mg/L	0.75mg/L	0.4mg/L
7. karışım	0.2mg/L	0.2mg/L	0.2mg/L
8. karışım	0.5mg/L	0.5mg/L	0.5mg/L

Doz belirleme çalışmasının sonuçlarına göre, kullanılması en uygun dozun 3. karışım olduğuna karar verilmiş ve biyoabsorbsiyon deneyine başlanmıştır.

3.4 Biyoabsorbsiyon Deneyi

Biyoabsorbsiyon deneyine başlamadan 1 gün önce, deneyde kullanılacak olan falcon tüpler ve gerekli olacak diğer malzemeler deterjanla yıkanmıştır. Sonrasında seyreltik nitrik asitli suda 1 gün bekletilmiştir. Saf suyla durulanmış ve kurutma kağıtlarının üzerine alınmıştır. Sterilize edilip, kullanıma hazır hale getirilen falcon tüpler numaralandırılmıştır.

2 hafta öncesinden kültürden deney kaplarına alınan ve ortama alıştıran su mercimeklerinin içinden 3'er yapraklı gruplar olmalarına dikkat edilerek toplamda 21 yaprak seçilmiştir. Fazla olan su mercimekleri kapların içinden alınmıştır. Deney kaplarının içi kök ve diğer maddelerden temizlenmiştir. Test kapları, 200 mL test çözeltisi içerecek şekilde ayarlanmış olup, dozlar verilmeden önce her bir karışımın fotoğrafı çekilmiş ve parametreleri ölçülmüştür (sıcaklık, pH, elektriksel iletkenlik, çözünmüş oksijen). Deney; 7 farklı konsantrasyondaki Cu, Cr ve Pb karışımı ve 1 tane de kontrol grubuyla gerçekleştirilmiştir. Deney üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Deney süresince; 24 saatten itibaren *L. minor* yapraklarının durumları gözlenmiştir.

3.4.1 Biyodenedeyde stok çözeltilerin hazırlanması

Bakır nitrat [Cu(NO₃)₂.3H₂O], kurşun nitrat [Pb(NO₃)₂] ve krom oksit (Cr₂O₃) metalleri litrede 1 gram metal olacak şekilde tartılıp cam bir kapta bir miktar iyonları giderilmiş veya damıtık suda çözülerek, deney çözeltileri ise seyreltme suyuna belirlenen miktarda stok çözeltinin ilavesiyle hazırlanmıştır.

Her bir metalden belli oranlarda karıştırılarak ikili ve üçlü karışım konsantrasyonları (7 farklı konsantrasyon) elde edilmiş ve *L. minor* yaprakları bu karışımlarda 7 gün boyunca izlenmiştir.

Biyoabsorpsiyon deneyi için doz deneme çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre 3. karışım seçilmiş olup; Cr (III)'dan 10.4 mg/L, Cu'dan 3 mg/L, Pb'dan 0.2 mg/L ve oranları (Çizelge 3.1) kullanılmıştır.

Çizelge 3.2 Biyoabsorpsiyon deneyinde uygulanan karışımların oranları

	Cr	Pb	Cu
1. karışım	a	b	c
2. karışım	2a	b	---
3. karışım	a	2b	---
4. karışım	---	b	2c
5. karışım	---	2b	c
6. karışım	a	---	2c
7. karışım	2a	---	c

Her gün deney kaplarından alınan su örneklerinin herbirinin pH'ı; nitrik asit damlatılarak 2'ye düşürülmüştür. Sonrasında, içerisindeki metal konsantrasyonunun belirlenmesi için ICP okutmasına gönderilmek üzere bekletilmiştir.

Örnekler Kayseri Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma Uygulama Laboratuvarlarında ICP-MS cihazında okutulmuştur. Ayrıca yapraklardaki birikimler de, deney öncesi ve deneyin sonunda alınmış olan bitki dokusu örnekleriyle gözlemlenmiştir.

Biyodenedeyde toksik maddelerin her bir konsantrasyonu için her bir kaptaki 21 *L. minor* yaprağı kullanılmış ve aynı zamanda deneyin yapıldığı şekil ve şartlarla birlikte yürütülen kontrol grubu da bulundurulmuştur. Her kontrole, deney ortamıyla aynı sayıda *L. minor* eklenmiştir.

3.4.2 Doku örneklerinin alımı

Deneye başlamadan, kültürdeki bitkilerin bünyesindeki Cu, Cr ve Pb'yi saptamak için kültürden, her bir grupta 21 yaprak olacak şekilde üç grup halinde (tüm bitkiler aynı ortamda 2 ay bekletileceği için 3 rastgele seçilmiş bitki grubu örneği, kültürdeki bitkilerin bünyelerindeki Cu, Cr ve Pb miktarını anlamak için yeterlidir) bitki dokularından örnek alınmıştır. Su mercimeklerinin 3 yapraklı olmalarına dikkat edilmiştir. Alınan örnekler kurutma kağıtları üzerine koyularak, 24 saat etüvde bekletilmek suretiyle kurutulmuştur. Kurutulan örnekler kökleriyle birlikte falcon tüplere koyularak, ICP okutmasına gönderilmek üzere bekletilmiştir.

Deneyin sonunda ise, 7 farklı karışımdaki bitki dokusu örnekleri ve bir de kontrol grubu örneği alınmıştır. Deney 3 kere tekrarlandığı için toplamda deney sonuna ait 24 bitki dokusu örneği olmuştur. 3 tane de deneye başlamadan alınan doku örnekleriyle toplamda 27 bitki dokusu örneği ağır metal analizi için ICP okutmasına gönderilmiştir.

3.4.3 Su örneklerinin alımı

İlk gün ve son gün 8 karışımdan toplam 16 su örneği, 5 ara gün boyunca da 7 karışımdan 35 su örneği olmak üzere toplamda 51 su örneği alınmıştır. Kontrollerden ara günlerde su örneği alınmamıştır. Her konsantrasyon için deney 3 tekrarlı olduğundan ağır metal analizi için toplamda 153 su örneği ICP okutmasına gönderilmiştir.

Çizelge 3.3 Bir hafta boyunca alınan su örneklerinin günlük miktarları

1.GÜN	2.GÜN	3.GÜN	4.GÜN	5.GÜN	6.GÜN	7. GÜN	Toplam
(7+1kontrol)x3 24 su örneği	21 su örneği	21 su örneği	21 su örneği	21 su örneği	21 su örneği	(7+1kontrol)x3 24 su örneği	153 su örneği

Su örnekleri, sterilize edilmiş cam pipet yardımıyla yüzeye yakın bölgeden 10 mL çekilerek, sterilize edilmiş cam beherlere alınmıştır. Her bir karışım için bu işlem tekrarlanmıştır. Daha sonra beherlere alınan örnekler şırınga yardımıyla Whatman kağıdından süzülerek falcon tüplere boşaltılmıştır. Her bir falcon tüpü içindeki örneklerin pH'sı nitrik asit damlatılarak 2'ye düşürülmüş ve kapakları kapatılmıştır. Bu işlemler 7 gün boyunca tekrarlanmış olup toplamda 153 su örneği süzülerek falcon tüplere alınmış, asitlenerek ICP okutmasına gönderilmiştir. Böylece deneyin sonunda 2 farklı veri elde edilmiştir:

1- Ayrı ayrı, 7 farklı Cu, Cr, Pb karışımının farklı konsantrasyonuna maruz bırakılmış su mercimeklerinin dokularında deneyin başındaki ve deneyin sonundaki Cu, Cr ve Pb farkı.

2- Ayrı ayrı 7 farklı Cu, Cr, Pb karışımının farklı konsantrasyonundan her 24 saatte bir alınan su örneklerindeki Cu, Cr ve Pb'nun 24 saatlik değişimleri.

3.5 Numune Hazırlama

Her 24 saatte bir alınan 10 mL'lik su örnekleri, 0,47 mm'lik por açıklığına sahip Whatman filtre kağıdından süzülerek laboratuvara gönderilmek üzere, 15 mL'lik falcon tüplere koyulmuştur. Her su örneğinin pH' ı nitrik asit kullanılarak 2'ye düşürülmüştür.

Bitki dokuları; deneyin yürütüldüğü beherlerden dikkatlice alınmış ve tüm bitki dokuları (kopan kökler dahil olmak üzere) ayrı ayrı kurutma kağıtları üzerine koyulmuştur. Kurutma kağıtlarının içindeki bitki dokuları etüvde 60-70 derecelik sıcaklıkta kurutulduktan sonra, falcon tüplerine alınmış ve laboratuvara gönderilmiştir. Falcon tüpler kullanılmadan önce, deterjanla iyice yıkanıp durulandıktan sonra seyreltik nitrik asitli suda 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra tekrar yıkanıp distile suyla iyice durulanarak kullanıma hazır hale getirilmiştir.

3.6 Seyreltme Suyunun Hazırlanması

SIS (Swedish Standard) *Lemna* Büyüme Ortamı (Seyreltme Suyu) OECD (2002) standartlarına göre hazırlanmıştır:

Seyreltme Suyu Stok I

NaNO₃: 8.50 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

KH₂PO₄: 1.34 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

Seyreltme Suyu Stok II

MgSO₄.7H₂O: 15 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

Seyreltme Suyu Stok III

CaCl₂.2H₂O: 7.2 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

Seyreltme Suyu Stok IV

Na₂CO₃: 4.0 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

Seyreltme Suyu Stok V

H₃BO₃: 1.0 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

$MnCl_2 \cdot 4H_2O$: 0.20 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$: 0.010 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$: 0.050 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$: 0.0050 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$: 0.010 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

Seyreltme Suyu Stok VI

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$: 0.17 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

$Na_2-EDTA \cdot 2H_2O$: 0.28 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir.

Seyreltme Suyu Stok VII

MOPS (tampon): 490 g'ı damıtık veya iyonları giderilmiş suda çözünür ve bir litreye seyreltilir (pH ayarlaması için opsiyonel olarak miktarı değişebilir).

- 10 ml seyreltme suyu stok çözeltisi I

- 5 ml seyreltme suyu stok çözeltisi II

- 5 ml seyreltme suyu stok çözeltisi III

- 5 ml seyreltme suyu stok çözeltisi IV

- 1 ml seyreltme suyu stok çözeltisi V

- 5 ml seyreltme suyu stok çözeltisi VI

- 1 ml seyreltme suyu stok çözeltisi VII alınıp karıştırılır. 1lt SIS ortamı hazırlamak için, 900 ml saf (iyonları alınmış) su eklenir.

3.7 EC₅₀ Çalışmaları

EC₅₀ çalışmaları için; öncelikle kültürden benzer ölçülerde, her biri 3 yaprak içeren 3 bitki (toplamda 9 yaprak) seçilerek, sterilize edilmiş 100 mL'lik cam beherlere 1 hafta süreyle alıştırmıştır. Test ortamına alıştırmış su mercimekleri; EPA (1996)'nın tavsiye ettiği prosedür baz alınarak öncelikle 0.1, 1.0, 10, 100 ve 1,000 mg/L'lik konsantrasyonlara maruz bırakılmıştır. Test gruplarıyla aynı şartlarda bir de kontrol grubu kullanılmıştır. Bu aralık belirleme testi sonucunda; Cu ve Cr, 1.0 ve 100 mg/L arasında, Pb ise; 0.1 ile 10mg/L arasında saptanmıştır. Daha sonra bu aralıklarda her bir metal için 5 farklı konsantrasyon belirlenerek deneye devam edilmiş ve su mercimeği üzerinde bu metallerin 48 h'lik EC₅₀ değerleri tespit edilmiştir.

3.8 Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesi

L. minor büyüme oranı ve biyokütle inhibisyon hesabı OECD (2002) tarafından verilen formüller ile hesaplanacaktır:

$$\mu_{i-j} = \ln(N_j) - \ln(N_i) / t_j - t_i$$

Biyokütle İnhibisyon Hesabı:

$$\% Ib = (bc - br / bc) \times 100$$

Deney sonuçları probit analiz yöntemi ile değerlendirilecektir (SPSS 17.0). Ağır metal değişimleri teker teker ve farklı konsantrasyonlar için karşılaştırmalı olarak grafikler şeklinde verilecek ve yapılan yorumlar görsel olarak desteklenecektir. Ayrıca; ICP sonuçlarına göre karışım içerisinde bulunan metallerin birbirleri üzerine etkisi yorumlanacaktır.

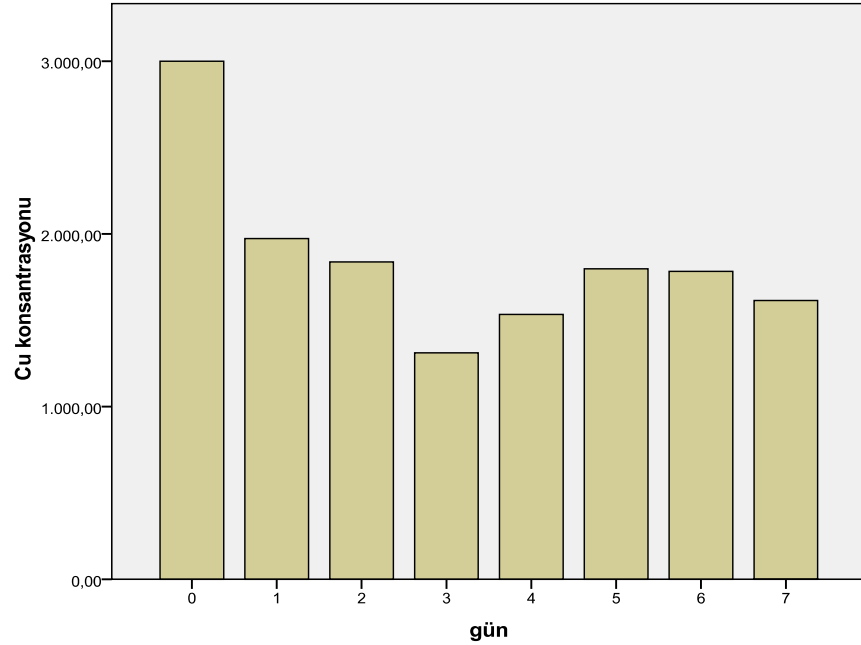
4. BULGULAR

7 gün süren biyoabsorbsiyon deneyinde, deney öncesinde ve her gün alınan su örnekleri ile deneyin başında ve sonunda alınan doku örneklerindeki ağır metallerin (Cu, Cr, Pb) konsantrasyonları ICP cihazıyla ölçülmüştür. Su sonuçları $\mu\text{g/L}$ (ppb), doku sonuçları $\mu\text{g/g}$ olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar tablo ve grafikler halinde verilmiştir. Karışım oranları baz alınarak metallerin suda bulunma konsantrasyonlarına göre, her bir metal için 5'er grafik oluşturulmuştur.

4.1 Bakır (Cu) Sonuçları

Çizelge 4.1 Deney sürecinde (Cr, Pb, Cu (a, b, c) karışımında) sudaki bakır miktarı

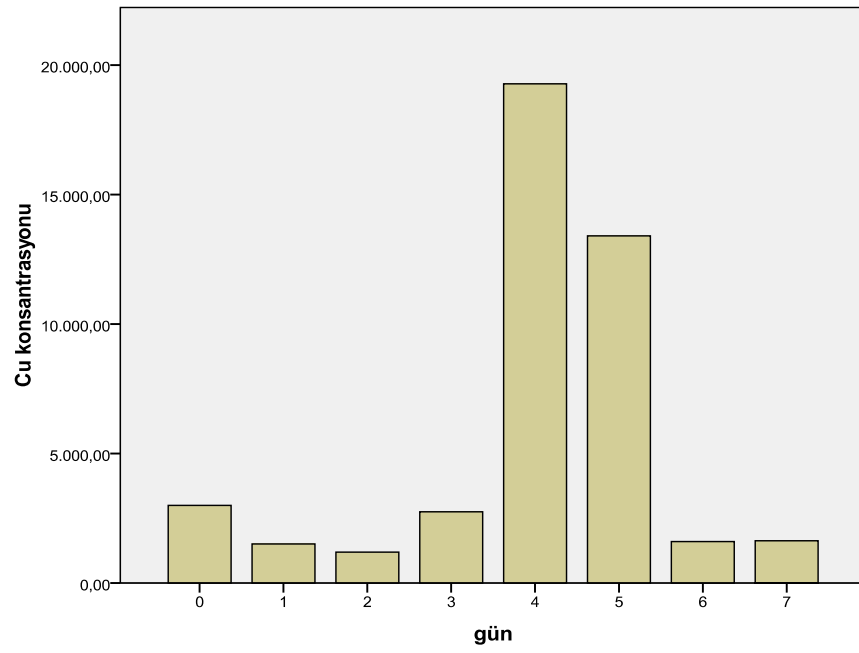
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Cu(ppb)	3000	1972,67	1837,67	1311,00	1533,67	1797,67	1783,00	1614,50



Şekil 4.1 Bakırın sudaki konsantrasyonu (Cr, Pb, Cu (a, b, c) karışımında)

Çizelge 4.2 Deney sürecinde (2Cr-Cu (2a, c) karışımında) sudaki bakır miktarı

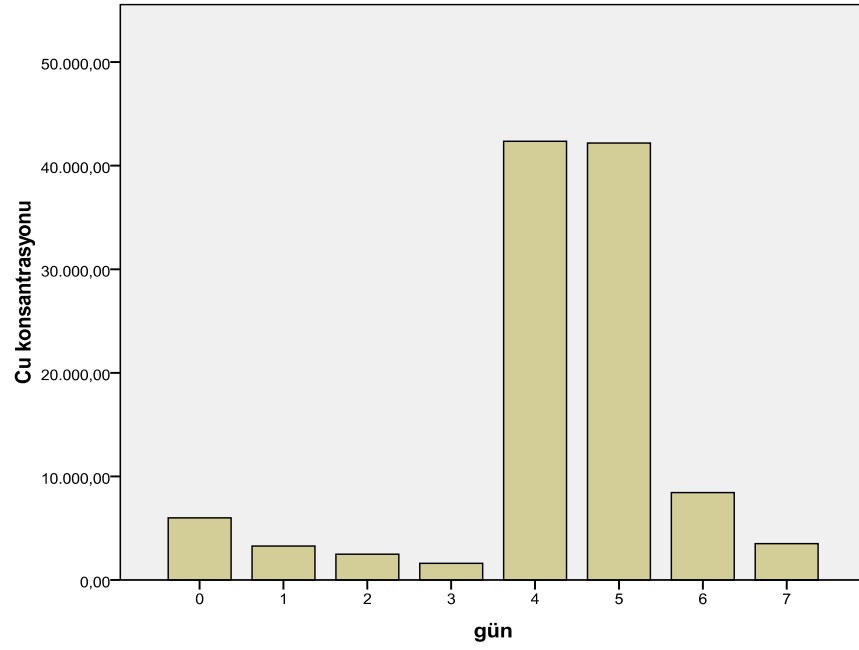
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Cu (ppb)	3000	1510,00	1191,00	2748,33	19276,67	13404,33	1599,33	1634,67



Şekil 4.2 Bakırın sudaki konsantrasyonu(2Cr-Cu (2a, c) karışımında)

Çizelge 4.3 Deney sürecinde (Cr-2Cu (a, 2c) karışımında) sudaki bakır miktarı

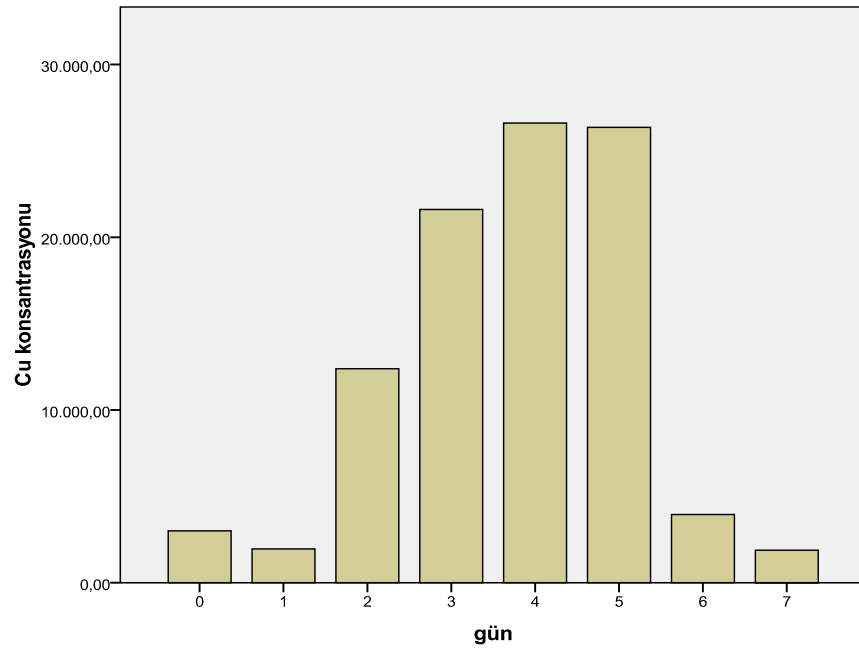
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Cu(ppb)	6000	3277,00	2490,33	1620,00	42363,33	42186,67	8439,33	3513,00



Şekil 4.3 Bakırın sudaki konsantrasyonu(Cr-2Cu (a, 2c) karışımında)

Çizelge 4.4 Deney sürecinde (2Pb-Cu (2b, c) karışımında) sudaki bakır miktarı

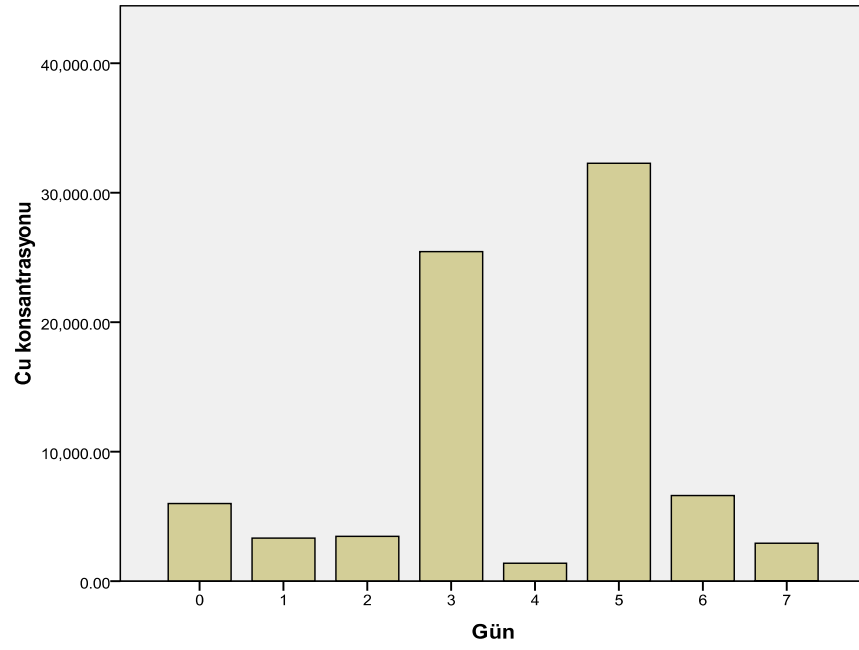
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Cu(ppb)	3000	1953,33	12388,33	21610	26615	26366,67	3952,667	1884,667



Şekil 4.4 Bakırın sudaki konsantrasyonu(2Pb-Cu (2b, c) karışımında)

Çizelge 4.5 Deney sürecinde (Pb-2Cu (b, 2c) karışımında) sudaki bakır miktarı

Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Cu(ppb)	6000	3324,667	3464,333	25453,33	1385,91	32273,33	6623,5	2940



Şekil 4.5 Bakırın sudaki konsantrasyonu (Pb-2Cu (b, 2c) karışımında)

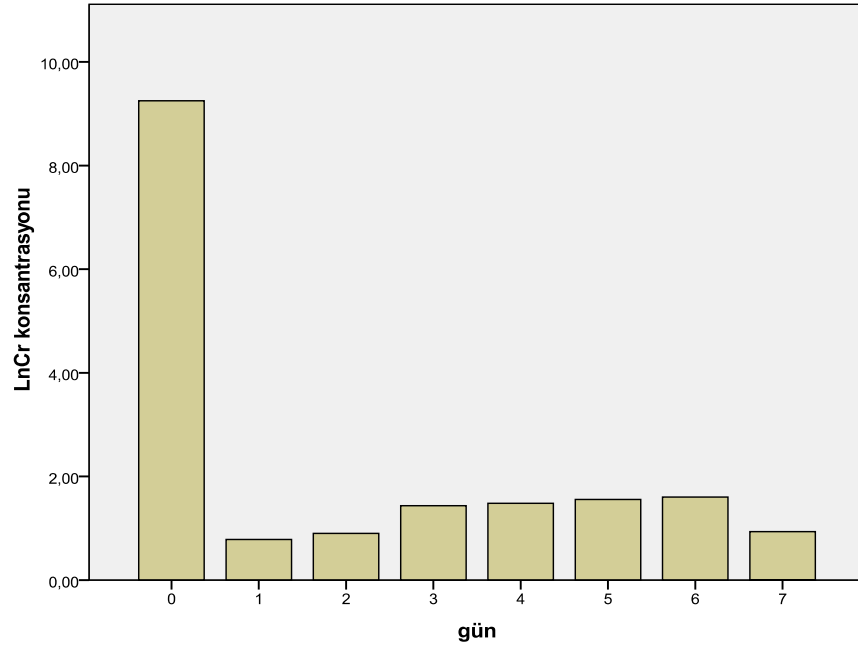
Çizelge 4.6 Deney başlangıcında ve sonunda dokuda bulunan bakır miktarı

KARIŞIMLAR	Başlangıç konsantrasyonu($\mu\text{g/g}$)	7.gün konsantrasyonu($\mu\text{g/g}$)
a,b,c	45,48	10543,00
b,2c	45,48	19171,37
2b,c	45,48	18047,30
a,2c	45,48	20915,25
2a,c	45,48	12836,89
Kontrol	45,48	16,52

4.2 Krom(III) Sonuçları

Çizelge 4.7 Deney sürecinde (Cr, Pb, Cu(a, b, c) karışımında) sudaki krom miktarı

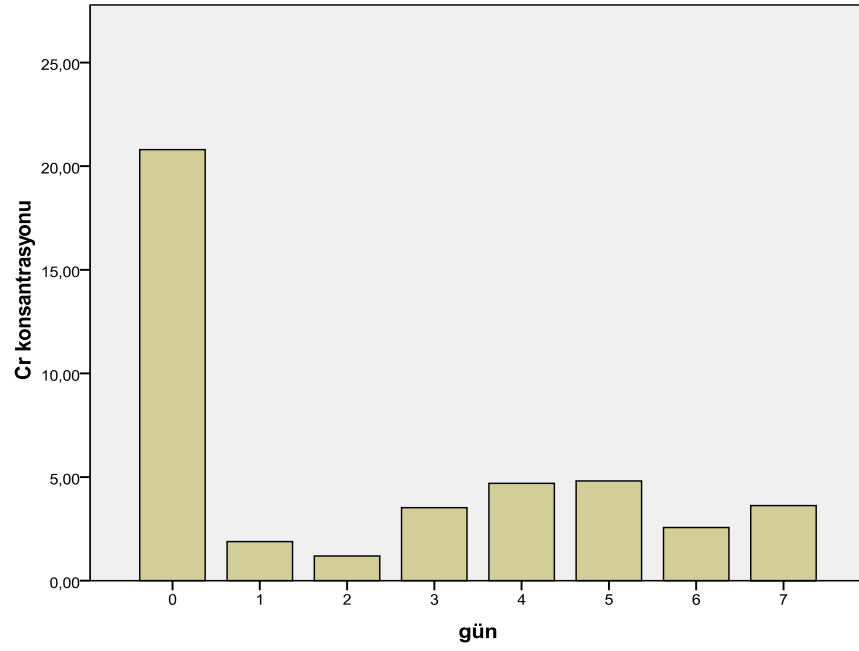
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Cr(III) (ppb)	10400	2.192	2.463	4.204	4.407	4.747	4.965	2.550



Şekil 4.6 Kromun (III) sudaki konsantrasyonu(Cr, Pb, Cu(a, b, c) karışımında)

Çizelge 4.8 Deney sürecinde (2Cr-Cu (2a, c) karışımında) sudaki krom miktarı

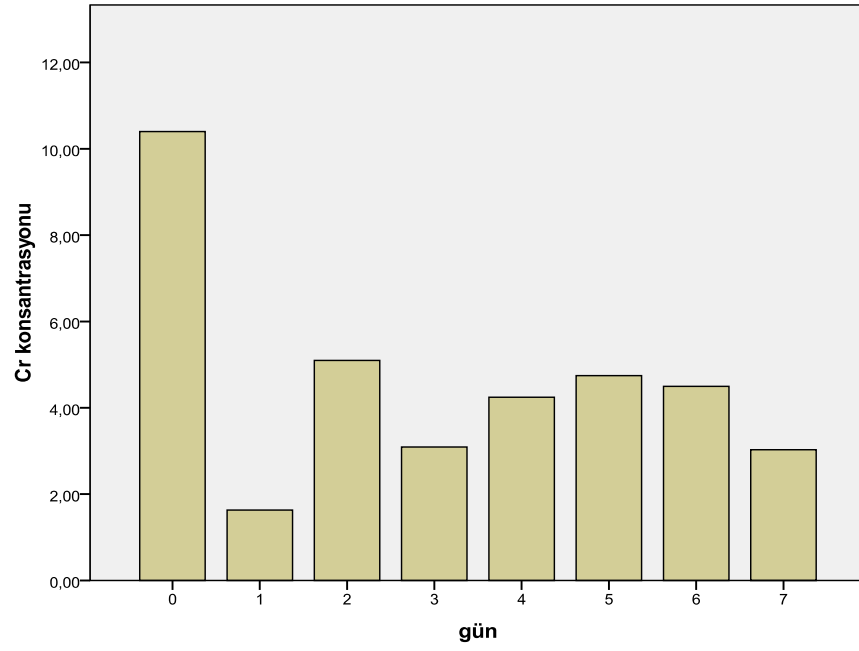
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Cr(III) (ppb)	20800	1.888	1.193	3.525	4.701	4.813	2.565	3.627



Şekil 4.7 Kromun (III) sudaki konsantrasyonu(2Cr-Cu (2a, c) karışımında)

Çizelge 4.9 Deney sürecinde (Cr-2Cu (a, 2c) karışımında) sudaki krom miktarı

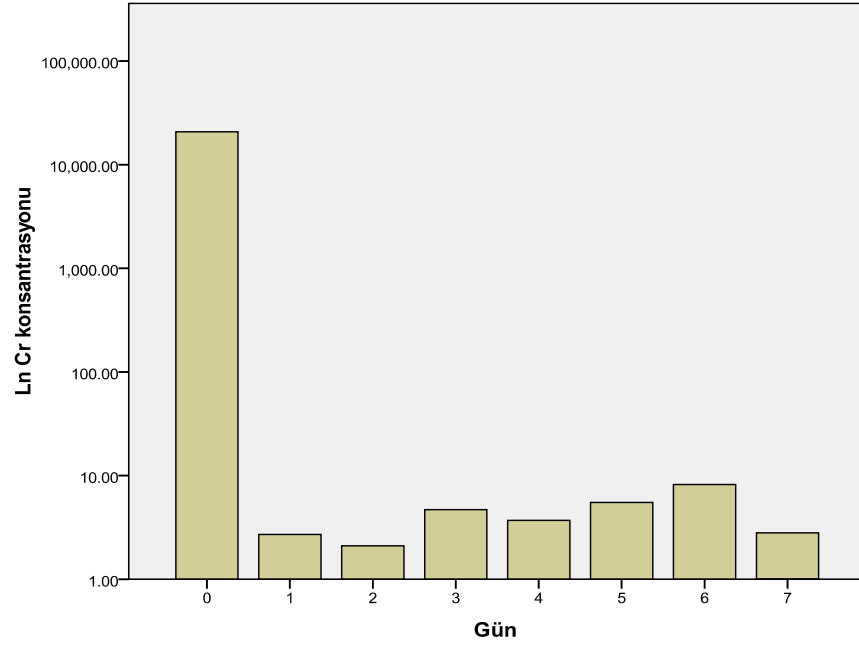
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Cr(III) (ppb)	10400	1.629	5.098	3.090	4.244	4.744	4.498	3.028



Şekil 4.8 Kromun (III) sudaki konsantrasyonu(Cr-2Cu (a, 2c) karışımında)

Çizelge 4.10 Deney sürecinde (2Cr-Pb (2a, b) karışımında) sudaki krom miktarı

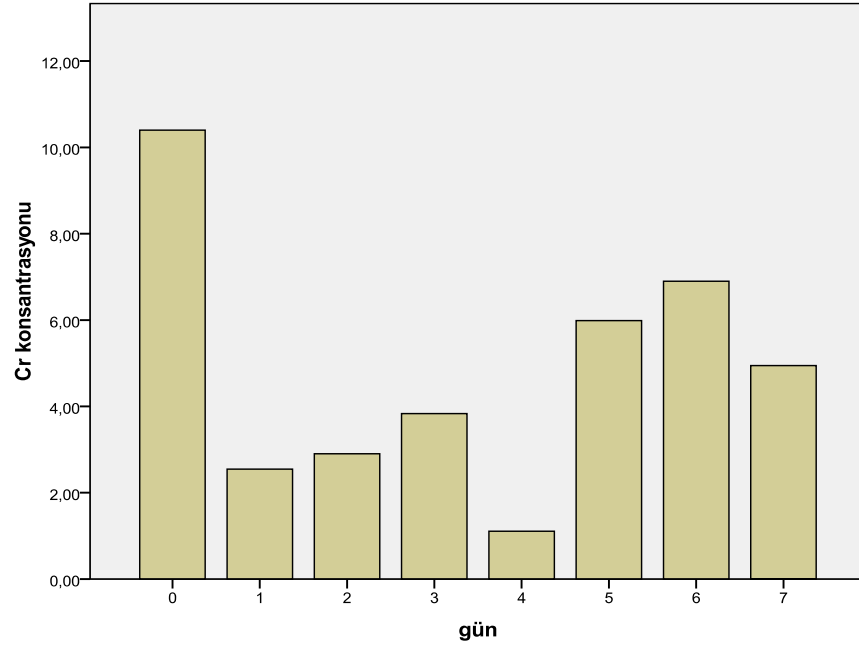
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Cr(III) (ppb)	20800	2.719	2.144	4.773	3.77	5.503	8.239	2.837



Şekil 4.9 Kromun (III) sudaki konsantrasyonu(2Cr-Pb (2a, b) karışımında)

Çizelge 4.11 Deney sürecinde (Cr-2Pb (a, 2b) karışımında) sudaki krom miktarı

Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Cr(III) (ppb)	10400	2.546	2.903	3.832	1.107	5.986	6.901	4.945



Şekil 4.10 Kromun (III) sudaki konsantrasyonu(Cr-2Pb (a, 2b) karışımında)

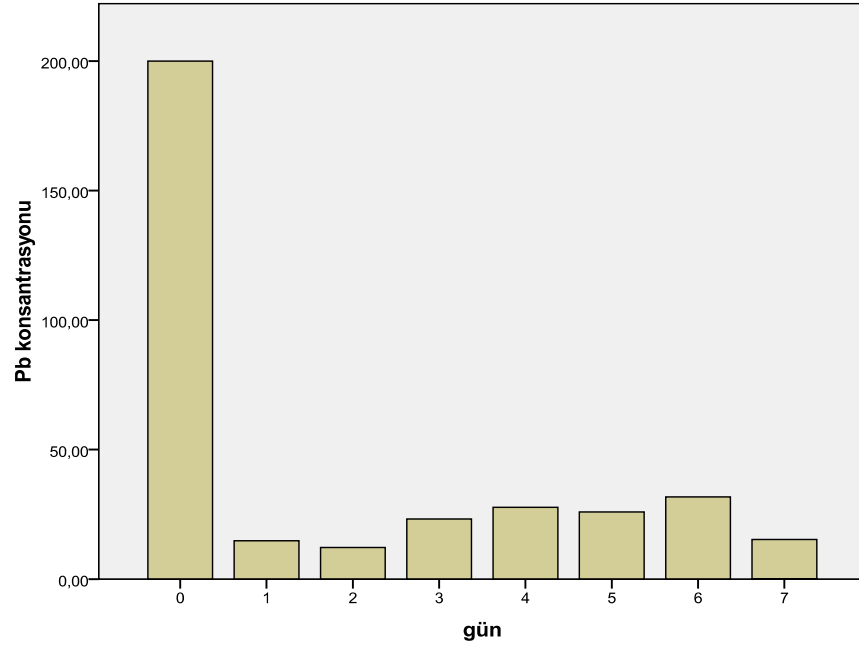
Çizelge 4.12 Deney başlangıcında ve sonunda dokuda bulunan krom miktarı

KARIŞIMLAR	Başlangıç konsantrasyonu (µg/g)	7.gün konsantrasyonu (µg/g)
a,b,c	7,01	1808,71
2a,b	7,01	3814,41
a,2b	7,01	1008,81
a,2c	7,01	212,67
2a,c	7,01	986,24
Kontrol	7,01	1,89

4.3 Kurşun(Pb) Sonuçları

Çizelge 4.13 Deney sürecinde (Cr, Pb, Cu (a, b, c) karışımında) sudaki kurşun miktarı

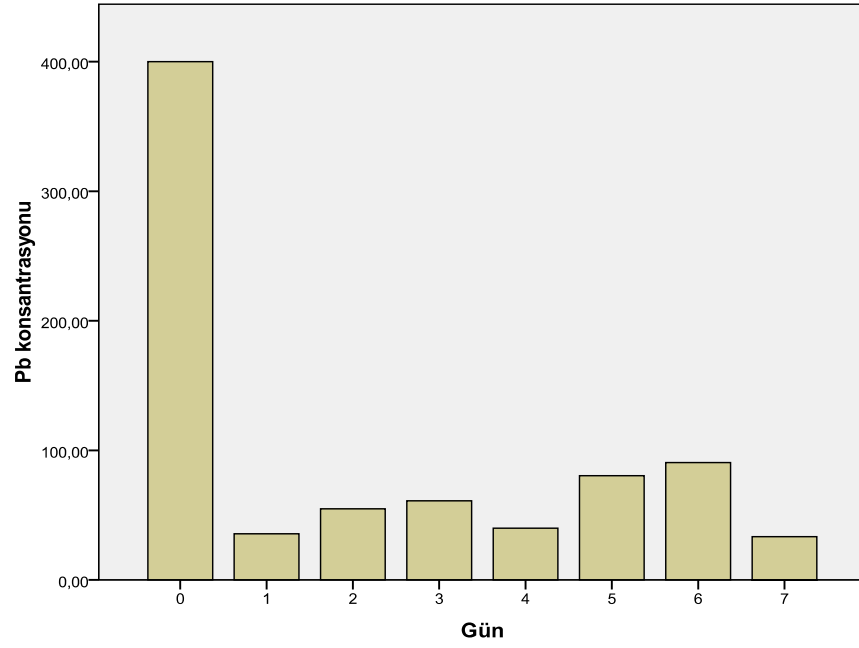
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Pb(ppb)	200	14,82	12,23	23,18	27,75	25,95	31,73	15,29



Şekil 4.11 Kurşunun sudaki konsantrasyonu (Cr, Pb,Cu (a, b, c) karışımında)

Çizelge 4.14 Deney sürecinde (2Pb, Cu (2b, c) karışımında) sudaki kurşun miktarı

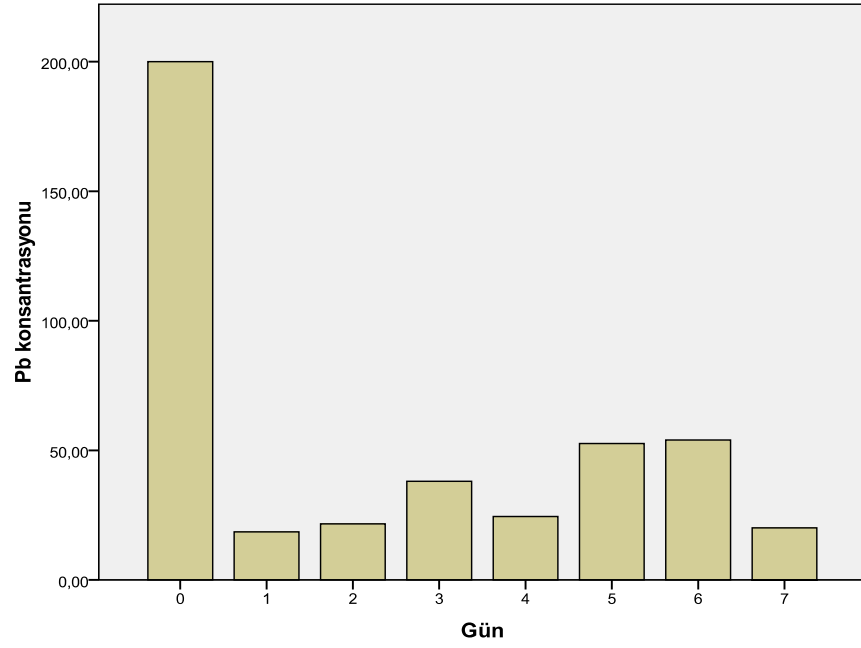
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Pb(ppb)	400	35,64	54,89	61,06	39,93	80,41	90,52	33,42



Şekil 4.12 Kurşunun sudaki konsantrasyonu (2Pb-Cu (2b, c) karışımında)

Çizelge 4.15 Deney sürecinde (Pb-2Cu (b, 2c) karışımında) sudaki kurşun miktarı

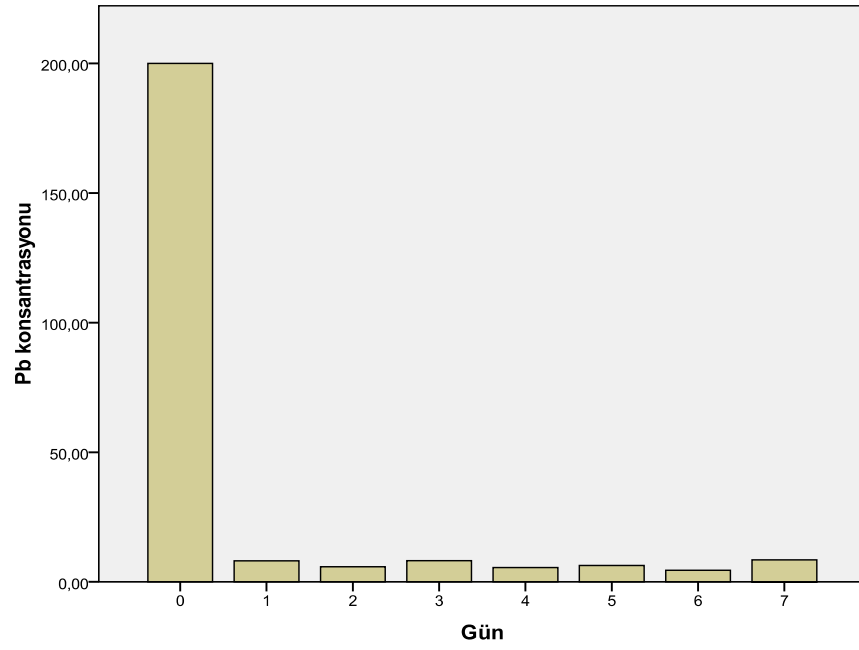
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Pb(ppb)	200	18,56	21,60	38,06	24,49	52,63	54,02	20,08



Şekil 4.13 Kurşunun sudaki konsantrasyonu (Pb-2Cu (b, 2c) karışımında)

Çizelge 4.16 Deney sürecinde (2Cr-Pb (2a, b) karışımında) sudaki kurşun miktarı

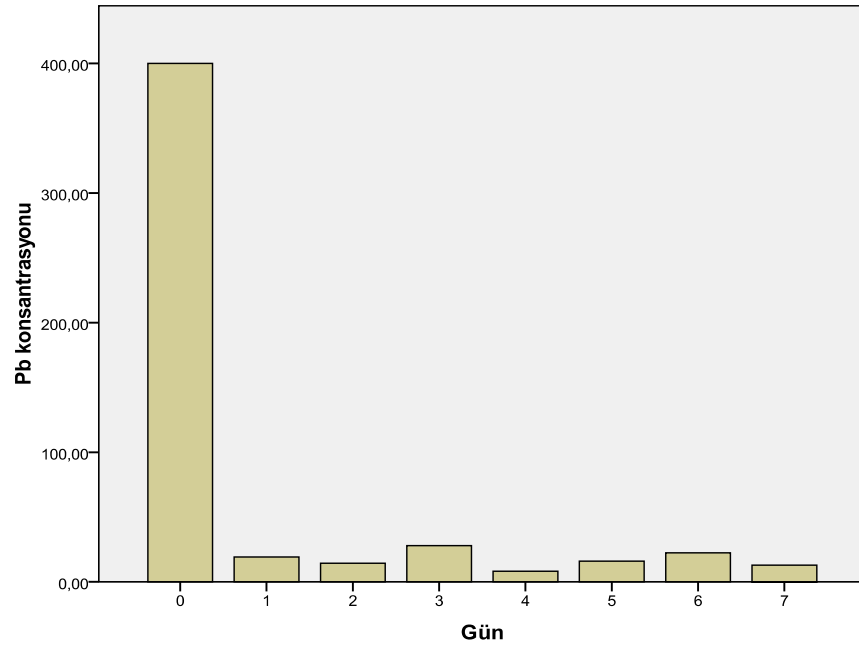
Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Pb(ppb)	200	8,10	5,81	8,20	5,54	6,34	4,50	8,51



Şekil 4.14 Kurşunun sudaki konsantrasyonu (2Cr-Pb (2a, b) karışımında)

Çizelge 4.17 Deney sürecinde (Cr-2Pb (a, 2b) karışımında) sudaki kurşun miktarı

Metal	Başlangıç konsantrasyonu	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Pb(ppb)	400	19,20	14,43	27,92	8,22	15,96	22,41	12,85



Şekil 4.15 Kurşunun sudaki konsantrasyonu (Cr-2Pb (a, 2b) karışımında)

Çizelge 4.18 Deney başlangıcında ve sonunda dokuda bulunan kurşun miktarı

KARIŞIMLAR	Başlangıç konsantrasyonu (µg/g)	7.gün konsantrasyonu (µg/g)
a,b,c	58,22	328,04
2a,b	58,22	533,82
a,2b	58,22	2089,56
b,2c	58,22	387,01
2b,c	58,22	1616,78
Kontrol	58,22	4,26

4.4 EC₅₀ Çalışmasının Sonuçları

Kurşun, krom(III) ve bakırın farklı konsantrasyonlarının 1 hafta süreyle ortama alıştırılan *L. minor* bitkisi üzerinde, 48 saatlik EC₅₀ değeri, probit analiz metodu ile statik biyodeneysel sistemi uygulanarak hesaplanmıştır.

Biyodeneysel deneyin yapıldığı şekil ve şartlarla birlikte yürütülen kontrol grubu kullanılmıştır. Her kontrole, deney ortamıyla aynı sayıda *L. minor* bitkisi konulmuş, kontrol grubundaki su mercimekleriyle; kurşun, krom(III) ve bakırın değişik konsantrasyonlarına maruz kalanlar arasındaki değişimler deney süresince karşılaştırılmıştır.

Deney süresince kontrol grubunda herhangi bir morfolojik bozukluk ya da ölüm gözlenmemiştir. Deney gruplarında ise, dozların konsantrasyonu arttıkça, etkileşim artmış olup, bitkide sararmalar artış göstermiştir.

Standartlarda belirtilen aşamalardan birincisi ön deney kısmıdır. EPA (1996)'nın tavsiye ettiği prosedür baz alınarak; su mercimekleri, öncelikle 0.1, 1.0, 10, 100 ve 1,000 mg/L'lik konsantrasyonlara maruz bırakılmıştır. EC₅₀ çalışmaları için; her bir deney grubuna 9 yaprak koyulmuş ve deney 3 kez tekrarlı olmak üzere gerçekleştirilmiştir. Tüm deney canlısını öldüren doz ile minimum etki gösteren konsantrasyonlar belirlenmiştir.

Bu konsantrasyonlar arasından 5'er tane daha ara konsantrasyonlar belirlenerek, belirleyici deney kısmına başlanmıştır. Belirleyici deney de 3 tekrarlı yapılmış ve tüm test gruplarının durumları gözlenmiştir.

Çizelge 4.19 Bakır nitratin $[Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O]$ farklı konsantrasyonlarının *Lemna minor* üzerine etkileri (48h)

Konsantrasyon mg/L	Yaprak sayısı	Ölen yaprak sayısı (sarı ve beyaz)	Ayrılan yaprak sayısı	Toplam etkilenen yaprak sayısı
3	27	8	2	10
6	27	12	5	17
9	27	15	7	22
12	27	16	6	22
15	27	17	8	25

Çizelge 4.20 Krom oksitin (Cr_2O_3) farklı konsantrasyonlarının *Lemna minor* üzerine etkileri (48h)

Konsantrasyon mg/L	Yaprak sayısı	Ölen yaprak sayısı (sarı ve beyaz)	Ayrılan yaprak sayısı	Toplam etkilenen yaprak sayısı
5	27	12	0	12
10	27	14	0	14
20	27	15	0	15
30	27	16	0	16
40	27	17	0	17

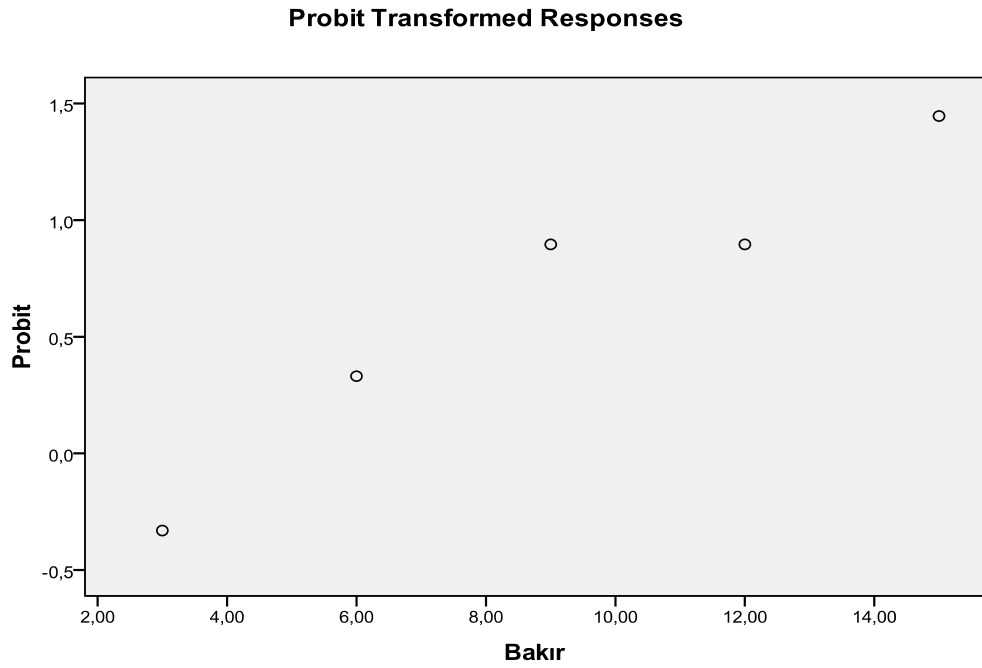
Çizelge 4.21 Kurşun nitratın [Pb(NO₃)₂] farklı konsantrasyonlarının *Lemna minor* üzerine etkileri (48h)

Konsantrasyon mg/L	Yaprak sayısı	Ölen yaprak sayısı (sarı ve beyaz)	Ayrılan yaprak sayısı	Toplam etkilenen yaprak sayısı
0.5	27	13	0	13
1	27	14	0	14
1.5	27	13	0	13
2	27	15	3	18
2.5	27	15	2	17

Probit analizi ile hesaplanmış 48 saatlik regresyon grafiği (doz- ölüm eğrisi) bakır (Şekil 4.4.1), krom(III) (Şekil 4.4.2) ve kurşun (Şekil 4.4.3) için hesaplanmıştır. EC değerleri her bir ağır metal için tespit edilmiştir (Çizelge 4.19-4.21).

Çizelge 4.22 Bakırın *Lemna minor* bitkisine etkisinin EC değerleri

% 95 Bakır için güven aralığı (mg/L)			
Nokta	EC değerleri	Alt Sınır	Üst Sınır
,010	-12,163	-27,438	-5,962
,050	-7,323	-19,010	-2,524
,100	-4,742	-14,532	-,676
,250	-,431	-7,103	2,466
,500	4,359	,894	6,214
,850	11,720	9,831	15,324
,900	13,461	11,242	18,181
,950	16,041	13,206	22,543
,990	20,881	16,734	30,882

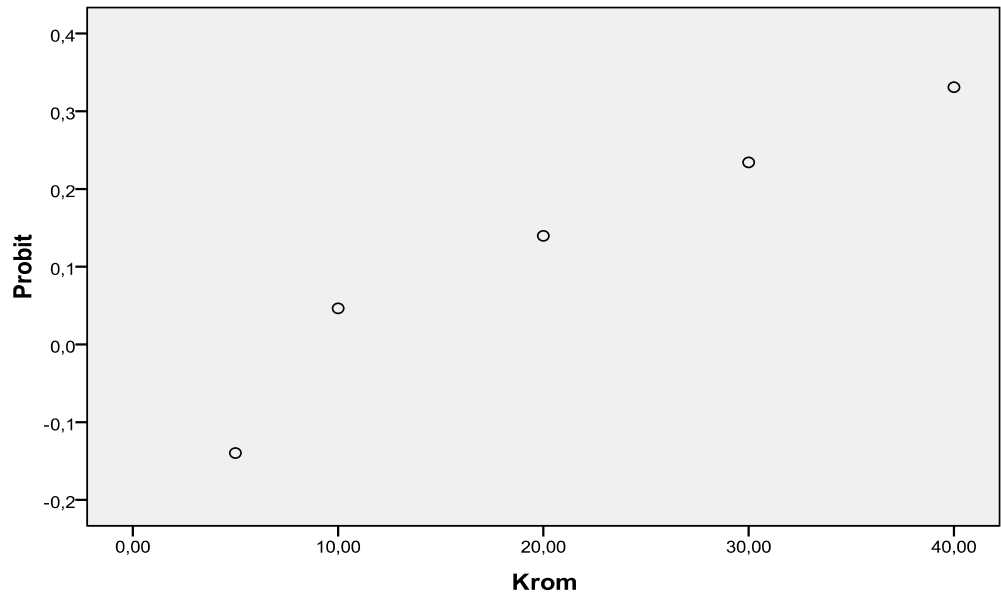


Şekil 4.16 *Lemna minor* bitkisinde bakır metali için hesaplanan 48 saatlik probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.23 Kromun(III) *Lemna minor* bitkisine etkisinin EC değerleri

% 95 Krom için güven aralığı (mg/L)			
Nokta	EC değerleri	Alt Sınır	Üst Sınır
,010	-179,969	.	.
,050	-124,041	.	.
,100	-94,226	.	.
,250	-44,407	.	.
,500	10,946	.	.
,850	96,002	.	.
,900	116,117	.	.
,950	145,932	.	.
,990	201,860	.	.

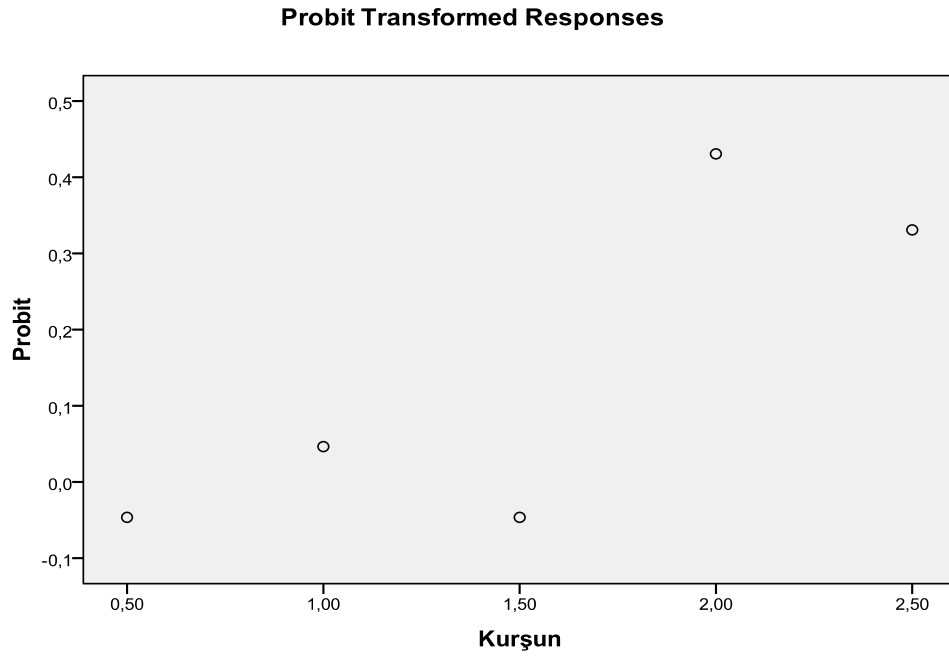
Probit Transformed Responses



Şekil 4.17 *Lemna minor* bitkisinde krom metali için hesaplanan 48 saatlik probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.24 Kurşunun *Lemna minor* bitkisine etkisinin EC değerleri

% 95 Kurşun için güven aralığı (mg/L)			
Nokta	EC değerleri	Alt Sınır	Üst Sınır
,010	-9,387	.	.
,050	-6,381	.	.
,100	-4,778	.	.
,250	-2,100	.	.
,500	,875	.	.
,850	5,448	.	.
,900	6,529	.	.
,950	8,132	.	.
,990	11,138	.	.



Şekil 4.18 *Lemna minor* bitkisinde kurşun metali için hesaplanan 48 saatlik probit değerleri ve regresyon grafiği

48 saatlik deney sonucunda probit analizine göre EC₅₀ değerleri bakır için 4.359 mg/L (0.894-6.214), krom için 10.946 mg/L ve kurşun için 0.875 mg/L olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.25 Cu,Cr ve Pb'nin 48 saatlik EC₅₀ değerleri

Ağır metaller	Cu	Cr	Pb
EC ₅₀ probit sonuçları (mg/L)	4.359mg/L	10.946 mg/L	0.875 mg/L
(minimum-maximum)	(0.894-6.214)	-	-

4.5 Parametre Ölçümleri

Biyoabsorbsiyon deneyine başlamadan önce ve deney sonunda tüm test gruplarının bazı parametreleri (sıcaklık, pH, elektriksel iletkenlik(EC), çözünmüş oksijen) ölçülmüştür.

4.5.1 Deney öncesi parametreler

Çizelge 4.26 Birinci karışımın deney öncesindeki parametreleri

1.Karışım	A	B	C
°C	18.0	18.0	17.6
PH	7.26	7.96	8.05
EC(µs/cm)	479	459	449
O ₂ /mg/L	5.96	5.80	5.51

Çizelge 4.27 İkinci karışımın deney öncesindeki parametreleri

2.Karışım	A	B	C
°C	16.8	16.4	16.2
PH	8.0	8.1	8.15
EC(µs/cm)	432	442	411
O ₂ /mg/L	5.65	5.85	6.08

Çizelge 4.28 Üçüncü karışımın deney öncesindeki parametreleri

3.Karışım	A	B	C
°C	15.7	15.8	15.8
PH	8.23	8.27	8.23
EC(μs/cm)	442	434	405
O ₂ / mg/L	6.11	6.55	5.92

Çizelge 4.29 Dördüncü karışımın deney öncesindeki parametreleri

4.Karışım	A	B	C
°C	15.0	14.6	14.6
PH	8.16	8.16	8.13
EC(μs/cm)	431	428	418
O ₂ / mg/L	6.52	6.30	6.10

Çizelge 4.30 Beşinci karışımın deney öncesindeki parametreleri

5.Karışım	A	B	C
°C	15.8	15.5	15.6
PH	8.48	8.38	8.31
EC(μs/cm)	460	425	424
O ₂ / mg/L	6.45	5.65	5.78

Çizelge 4.31 Altıncı karışımın deney öncesindeki parametreleri

6.Karışım	A	B	C
°C	15.1	14.8	14.6
PH	8.24	8.20	8.4
EC(μs/cm)	443	432	434
O ₂ / mg/L	5.35	5.95	6.05

Çizelge 4.32 Yedinci karışımın deney öncesindeki parametreleri

7.Karışım	A	B	C
°C	14.3	14.0	13.8
PH	8.36	8.28	8.27
EC(µs/cm)	425	425	439
O ₂ /mg/L	6.28	6.25	5.95

Çizelge 4.33 Sekizinci karışımın deney öncesindeki parametreleri

8.Karışım (kontrol)	A	B	C
°C	13.3	13.6	13.4
PH	8.29	8.31	8.29
EC(µs/cm)	429	426	398
O ₂ /mg/L	6.10	6.20	6.15

4.5.2 Deney sonundaki parametreler:

Çalışma sonunda parametrelerde önemli bir değişme gözlenmemekle birlikte; EC değerleri 500-520(µs/cm) civarında ölçülmüştür. Ölçüm yapıldığı andaki su sıcaklıklarının, deneyin başında yapılmış ölçümlere göre daha yüksek ve 20 °C civarında olduğu tespit edilmiştir. O₂ değerlerinde düşüş gözlenmiş olup, 5 mg/L civarında ölçülmüştür. pH değerlerinde de az bir düşüş gözlenmiş olup, 7.8-8.0 arasında tespit edilmiştir.

4.6 Büyüme Oranı ve Biyokütle İnhibisyon Hesabı

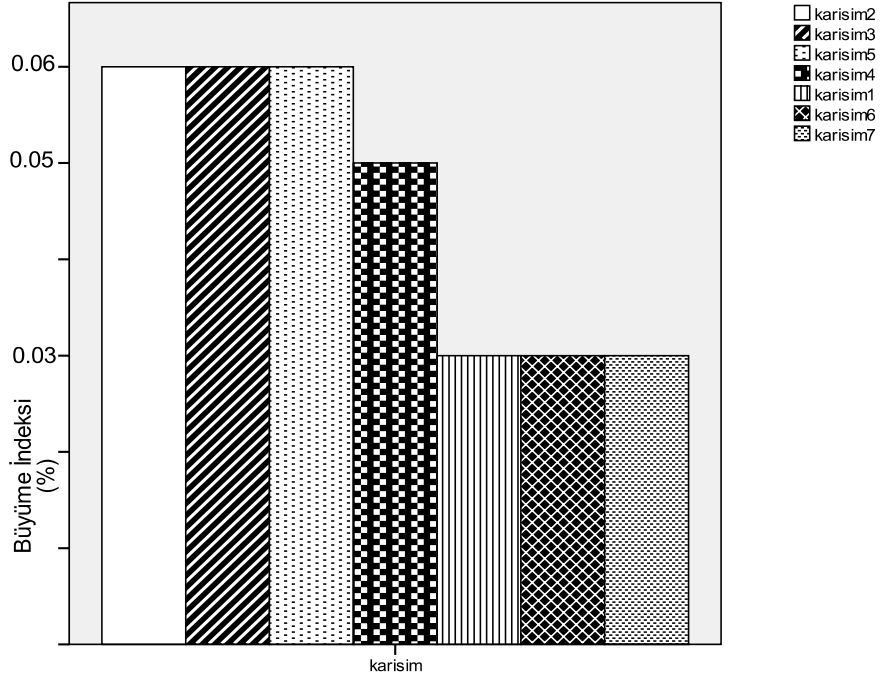
Lemna minor büyüme oranı OECD (2002) tarafından verilen formül ile hesaplanmıştır:

$$\mu_{i-j} = \ln(N_j) - \ln(N_i) / t_j - t_i$$

Yapılan hesaplamalara göre;

Çizelge 4.34 Su mercimeklerinin 7. gün sonundaki büyüme oranları

	Büyüme oranları
1.karışım	0.03
2.karışım	0.06
3.karışım	0.06
4.karışım	0.05
5.karışım	0.06
6.karışım	0.03
7.karışım	0.03



Şekil 4.19 Karışımların 7. gün sonundaki büyüme oranları

Biyokütle inhibisyon yüzdeleri aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır:

$$\% Ib = (bc - br / bc) \times 100$$

Çizelge 4.35 Su mercimeklerinin 7. gün sonundaki biyokütle inhibisyon oranları

	Biyokütle inhibisyon oranları
1.karışım	%75
2.karışım	%38,15
3.karışım	%61,84
4.karışım	%82,89
5.karışım	%68,42
6.karışım	%82,89
7.karışım	%48,68

5. TARTIŞMA

Su mercimeği ile yapılan laboratuvar çalışmalarının çoğu, tek bir ağır metalin biyolojik temizlenmesine yönelik yapılmış çalışmalardır. Çoklu ağır metal deneylerinin çoğunda ise, karışımlarda eşit oranlarda ağır metal kullanımının olduğu görülmektedir. Metallerin bitkiler üzerinde ve sudaki karışımlarının toksik etkileşimlerini açıklamak güç olduğundan, karışım ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır (Horvat vd. 2007). Oysaki; ağır metallerce kirletilmiş ekosistemlerde, genel olarak, kirletici ağır metaller karışım halindedirler. Bu karışımlardaki konsantrasyonlarının eşit değil de farklı olması beklenmektedir. Bu nedenle; metallerin tek tek ve eşit konsantrasyonlarındansa, doğada bulunmaları daha muhtemel olan konsantrasyonlarında yapılan karışım çalışmalarının daha anlamlı olacağı bu tez çalışmasıyla desteklenmiştir.

5.1 ICP Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Pb' nin ICP sonuçlarına bakıldığında; maksimum absorpsiyonun 48. saatte gözlenmesine karşın, en hızlı absorpsiyonun ilk 24 saat içinde gerçekleştiği görülmektedir. Bu sonuç; önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir. Axtell vd. (2003), *L. minor* üzerinde Pb akümülyasyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada en hızlı akümülyasyonun (%50-90 arası) ilk 24 saatte gerçekleştiğini bulmuşlar ve Pb için toplam uzaklaştırma oranını %76 olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca, Rahmani ve Sternberg (1999) Pb' nin ortamdaki uzaklaştırılmasında *L. minor*'u kullandıkları çalışmada, toplam Pb uzaklaştırma oranını %95 olarak bulmuşlar ve bunun %85'inin ilk 24 saat içinde gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasında da benzer şekilde, ilk 24 saat içinde; Cr-Pb-Cu, 2Cr-Pb ve Cr-2Pb karışımlarında sudaki Pb miktarında hızlı bir azalma gerçekleşmiş ve en yüksek uzaklaştırma oranına 48. saatin sonunda ulaşılmıştır. Fakat; 2Pb-Cu ve Pb-2Cu karışımlarında sudaki Pb miktarında ilk 24 saat içinde diğer karışımlarda olduğu gibi hızlı bir azalma gözlenirken, 48. saat içinde bir artış olduğu tespit edilmiştir. Tüm karışımlarda, sudaki Pb miktarında 3. günde hafif bir artış gözlenmiştir. Bu durumun; bitkinin, dokusunda bulunan Pb'nun bir kısmını suya vermesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. 48. saatten sonraki günlerde, sudaki Pb miktarında önemsiz artışlar ve azalmalar oluşmuş, Pb'nun uzaklaştırılma ya da absorpsiyon hızında düşüş gözlenmiştir.

Bu çalışmada, Pb'nun toplam uzaklaştırma oranı 7. günün sonunda tüm karışımlarda %89-97 arasındadır. Bu sonuçlar Rahmani ve Sternberg (1999)'in sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Çizelge 5.1 Kurşunun her bir karışımdaki 24h , 48h ve 7. gün sonundaki uzaklaştırılma oranları

Zaman	Cr-Pb-Cu karışımı	2Pb-Cu karışımı	Pb-2Cu karışımı	2Cr-Pb karışımı	Cr-2Pb karışımı
24h	%92.59	%91.09	%90.72	%95.95	%95.2
48h	%93.88	%86.27	%89.2	%97.09	%96.39
7.gün	%92.35	%91.64	%89.96	%95.74	%96.78

Krom sonuçlarına bakıldığında (çizelge 5.1.2); Cr(III)'un tüm karışımlarda %100'e yakın oranlarda sudan temizlendiği görülmektedir. Cr(III)'un suda tam olarak çözünmemesi sebebiyle bir kısmının çökmesinin, bu yüksek sonuçlara sebebiyet verebileceği düşünülmektedir. Cr (III) ile ilgili biyoabsorbsiyon çalışması pek olmamakla birlikte, Wahaab vd. (1995)'nin bakır ve krom(III)'un alımında *L. minor* kullandıkları çalışmada; bu çalışmada bulunan sonuçlara benzer şekilde Cr(III)'un verimli bir şekilde %75-100 oranında uzaklaştırıldığını tespit etmişlerdir. Yapılan bu tez çalışmasında da, 7. günün sonunda kromun (III) toplam uzaklaştırılma oranı tüm karışımlarda, %99'un üstünde bulunmuştur.

Çizelge 5.2 Kromun(III) her bir karışımdaki 24h, 48h ve 7. gün sonundaki uzaklaştırılma oranları

Zaman	Cr-Pb-Cu karışımı	2Cr-Cu karışımı	Cr-2Cu karışımı	2Cr-Pb karışımı	Cr-2Pb karışımı
24h	%99.97	%99.99	%99.98	%99.98	%99.97
48h	%99.97	%99.99	%99.95	%99.98	%99.97
7.gün	%99.97	%99.98	%99.97	%99.98	%99.95

Cu-Pb-Cr karışımı hariç diğer tüm karışımlarda, Cu'nun sudaki konsantrasyonu önemli ölçüde artmış, daha sonra tekrar azalma eğilimi gösterip 7. günün sonunda başlangıç konsantrasyonunun altına inmiştir. Farklı konsantrasyonlar için, grafiklerdeki artış-azalış zamanları ve miktarları farklılık göstermektedir. Bu sonuç, biyoremediasyon çalışmaları için çok büyük önem taşımaktadır. Ortamdaki ağır metali temizlemek isterken, canlıda bulunan ağır metallerce ortamın kirletilmesi söz konusu olabilmektedir. Bundan dolayı; çalışılacak canlının, çalışılacak ağır metalin, ortamdaki ağır metal konsantrasyonlarının, canlının ortama maruz bırakılma süresinin çok iyi bilinmesi gerekmektedir. Elde ettiğimiz bu sonucun paralellik gösterdiği çalışmalar bulunmaktadır. Plankenburg Nehri (Güney Afrika) üzerinde yapılan bir çalışmada, üç biyoreaktörün metal konsantrasyonunu azaltmadaki verimleri değerlendirilmiştir. Test organizması olarak *Pseudomonas* sp., *Sphingomonas* sp. ve *Bacillus* sp.'nin kullanıldığı bu çalışmada; Fe, Cu, Mn ve Ni büyük oranda nehrin belli bölgelerinde azaltılırken, Al ve Zn konsantrasyonlarında başlangıç değerlerine göre artış olduğu gözlenmiştir (Jackson vd. 2009). Dirilgen ve Doğan'ın (2002) yaptıkları çalışmada; Cr(III)'un bakır akümülyasyonu üzerine azaltıcı (antagonistik) bir etkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise; 2Cr-Cu karışımında bunu destekler nitelikte Cr'un artışıyla Cu akümülyasyonunda azalma olduğu tespit edilmiştir. Fakat; Cr'un ilk karışımla aynı oranda bulunduğu Cr-2Cu karışımında da azalma olduğu bulunmuştur.

Çizelge 5.3 Bakırın her bir karışımdaki 24. ve 48. saat sonundaki uzaklaştırılma oranları

Zaman	Cr-Pb-Cu karışımı	2Cr-Cu karışımı	Cr-2Cu karışımı	2Cu-Pb karışımı	Cu-2Pb karışımı
24h	%34.26	%49.66	%45.38	%44.58	%34.88
48h	%38.76	%60.3	%58.5	%42.26	%312.94
7.gün	%46.18	%45.51	%41.45	%51	%37.17

Yapılan bu tez çalışmasında; 7. gün sonunda bakırın uzaklaştırılma oranı tüm karışımlarda %37-51 arasında bulunmuştur.

7 günün sonundaki değerlere bakıldığında; Cr(III)'un (%99) Cu'a (%37-51) göre daha verimli bir şekilde ortamdaki uzaklaştırıldığı tespit edilmiştir. Wahaab vd. (1995) yaptıkları 10 günlük çalışmada benzer şekilde; Cr'un (%75-100) Cu'a (%35-40) göre daha iyi uzaklaştırıldığını bulmuşlardır.

Çizelge 5.4 Bakırın her bir karışımda 7. gün sonundaki absorpsiyon oranları

Metal	Cr-Pb-Cu karışımı	2Cr-Cu karışımı	Cr-2Cu karışımı	2Cu-Pb karışımı	Cu-2Pb karışımı
Bakır(Cu)	%23081	%28125	%45887	%42053	%39581

Çizelge 5.5 Kromun her bir karışımda 7. gün sonundaki absorpsiyon oranları

Metal	Cr-Pb-Cu karışımı	2Cr-Cu karışımı	Cr-2Cu karışımı	2Cr-Pb karışımı	Cr-2Pb karışımı
Krom(Cr)	%25701	%13969	%2933	%54313	%14291

Çizelge 5.6 Kurşunun her bir karışımda 7. gün sonundaki absorpsiyon oranları

Metal	Cr-Pb-Cu karışımı	2Pb-Cu karışımı	Pb-2Cu karışımı	2Cr-Pb karışımı	Cr-2Pb karışımı
Kurşun(Pb)	%463	%2677	%564	%816	%3489

Doku sonuçlarına bakıldığında; su mercimeği dokusunda bakır artışı her karışımda yüksektir (%23081-%45887). Krom artışı değişiklik göstermekle beraber (%2933-%54313), 2Cr-Pb karışımındaki %54313 oranıyla krom tüm çalışmada en fazla absorblanan metaldir. Çalışılan konsantrasyonlarda, su mercimeğinin, bakırın temizlenmesine uygun olduğu, krom temizlenmesinde ise; belirli karışımlarda oldukça başarılı olduğu görülmüştür. Kurşunun bitki üstündeki toksisitesinden dolayı düşük konsantrasyonlarda başarılı olunmasına karşın yüksek konsantrasyonlarında kullanılamayacağı görülmüştür.

Metallerin uzaklaştırma ya da absorpsiyon verimliliklerinde farklılıklar gözlenmektedir. Bu durumun, metallerin farklı konsantrasyonları, metallerin atom ağırlığı gibi farklı özellikleri, sucul bitkinin özelliklerinden (yapısı, fonksiyonel grup, yüzey alanı vb.) kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Elmacı vd. 2009).

Çalışma sonunda parametrelerde önemli bir değişme gözlenmemekle birlikte; elektriksel iletkenlik (EC) değerleri 500- 520 civarında ölçülmüştür. Bu artışın sebebi, her ne kadar test kaplarının üzeri örtülmüş olsa da, az miktardaki buharlaşmadan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ölçüm yapıldığı andaki su sıcaklıklarının, deneyin başında yapılmış ölçümlere göre daha yüksek ve 20 °C civarında olduğu tespit edilmiştir. Sıcaklığa bağlı olarak O₂ değerlerinde düşüş gözlenmiş olup, 5 mg/L civarında ölçülmüştür.

Ağır metal absorpsiyon çalışmalarında pH önemli bir parametredir (Gupta vd. 2001, Ergene vd. 2006, Elmacı vd. 2009). pH'nın azalmasıyla, adsorpsiyon kapasitesinin de azaldığı, pH'nın artmasıyla kapasitenin de arttığı düşünülmektedir (Saygıdeğer vd. 2005).

5.2 EC₅₀ Sonuçlarının Değerlendirilmesi

48 saatlik deney sonucunda probit analizine göre EC₅₀ değerleri bakır için 4.359 mg/L (0.894-6.214), krom (III) için 10.946 mg/L ve kurşun için 0.875 mg/L olarak bulunmuştur.

Çizelge 5.7 Cu,Cr ve Pb'nun 48 saatlik EC₅₀ değerleri

Ağır metaller	Cu	Cr	Pb
EC ₅₀ probit sonuçları (mg/L)	4.359mg/L	10.946 mg/L	0.875 mg/L
(min-max)	0.894-6.214	-	-

Bu tez çalışmasında bulunan EC₅₀ değerleri çizelge 5.7'de verilmiştir. Değerlere bakıldığında; Pb'nun *L. minor* üzerine, Cu'a ve Cr (III)'a göre daha toksik olduğu gözlenmiştir. Pb; ekolojik sisteme zarar veren ve canlılar üzerinde oldukça ciddi sağlık sorunlarına yol açan çok tehlikeli bir metaldir. Pb'nun toksik etkisi geniş ölçüde belgelenmiş olup; Pb'a maruz kalmak, anemiya, karaciğer ve böbrekte rahatsızlıklara, anormal sinir sistemi fonksiyonlarına, beyinde hasara ve eninde sonunda ölüme yol açabilmektedir (Jain vd. 1989, Axtell vd. 2003). Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırmasına göre (1995) kurşun 2. sınıf kansorejen gruptadır. Bakır ve krom (III), esansiyel elementler olup, yüksek konsantrasyonlarda toksik etki yaratmaktadırlar. Bu nedenle; esansiyel olmayan (non-esansiyel) Pb'nun, bakır ve kroma göre daha toksik olması beklenen bir durumdur.

Aynı maddenin farklı canlılar ya da aynı türler üzerindeki toksik bulgular çeşitli faktörlere bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Literatür incelendiğinde, *L. minor* üzerinde Cu, Cr ve Pb için yapılmış çok az sayıda EC₅₀ çalışması vardır. Bu çalışmalarda bulunan değerlerin zaman, ortam gibi sebeplerden ötürü farklılık gösterdiği görülmektedir. Wang vd. (1986) tarafından, bakırın (Cu) *L. minor* üzerine 48 saatlik EC₅₀ değeri 1,1 mg/L ; kurşunun (Pb) 48 saatlik EC₅₀ değeri 8 mg/L bulunmuştur. İnce vd. (1999) yaptıkları çalışmalarda; *L. minor* üzerine bakırın 7 günlük EC₅₀ değerini 23,6µM olarak tespit etmişlerdir. Teisseire vd. (1998) bakırın 7 günlük EC₅₀ değerini *L. minor* için 2,52 µM bulmuşlardır. Blinova'nın (2004), *Selenastrum capricornutum*, *Lemna minor*, *Thamnocephalus platyurus* ve *Daphnia magna* kullanarak yaptığı toksisite çalışmasında; *L. minor* üzerine 7 günlük EC₅₀ değerini bakır için 0,15 mg/L, krom (III) için 5,2 mg/L ve kurşun için ise 0.085 mg/L olarak bulmuştur. Drost vd. (2007), *L. minor* üzerinde yürüttükleri toksisite çalışmasında, bakırın 7 günlük EC₅₀ değerini 9,7 µM olarak tespit etmişlerdir. Khellaf vd. (2009) *L. minor* üzerinde 4 günlük EC₅₀ değerini 0,45 mg/L olarak bulmuşlardır. *L. minor* üzerine EC₅₀ ile ilgili çok sayıda çalışma olmamakla birlikte, genelde 7 günlük EC₅₀ değerleri tespit edilmiştir.

Wang vd.'nin 1986 yılında yapmış oldukları çalışmada *L. minor* üzerinde 48 saatlik EC₅₀ değerlerini bakır için 1,1 mg/L, kurşun için 8 mg/L bulmuşlardır. Bu tez çalışmasında 48 saatlik EC₅₀ değerleri bakır için 4,359 mg/L, kurşun için 0,875 mg/L ve krom için 10,946 mg/L olarak tespit edilmiştir. Bakır değeri benzerlik göstermekle birlikte kurşun değeri oldukça farklıdır. Değerlerdeki farklılığın deney koşullarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Metal konsantrasyonları farklı olmakla birlikte , ortam şartları da farklıdır. Bu tez çalışması doğal şartlarda yarı kontrollü olarak serada gerçekleştirilmiş bir çalışmadır. Aydınlatma ve deney ortamı sıcaklığı için güneş ışığından faydalanılmıştır. Ortam koşullarının farklı olmasının bitkilerin metabolizmalarını etkilemiş ve böyle bir farklılığa yol açmış olabileceği düşünülmektedir. Suyun pH'sında ve sertliğindeki farklılık gibi toksisiteyi etkileyebilecek parametreler de göz önünde bulundurulmalıdır.

Bakır, krom (III) ve kurşunun 48 saatlik EC₅₀ değerlerinin toksisite sıralaması, Pb> Cu> Cr (III) şeklindedir. Sonuçlar ; *L. minor* için kurşunun bakır ve krom (III)'a göre daha toksik olduğunu göstermektedir.

Deney sonucundaki büyüme oranları ve biyokütle inhibisyon oranlarına bakıldığında; büyüme oranlarıyla paralellik gösteren biyokütle inhibisyon yüzdelerine rastlanırken, durum sadece Cr ile Pb karışımlarında farklılık göstermiştir. Bunun sebebi; Cr'un esansiyel bir element olması, Pb ile sinerjistik etki göstermiş olabilmesi ve biyoremediasyon oranında farklılık olması durumu ile açıklanabilir.

6. SONUÇ

Günümüzde artan antropojenik etkiler ağır metallerin, ekosistemlerdeki konsantrasyonlarının artmasına sebep olmaktadır. Bazı metallerin, canlı yapısında belirli miktarlarda bulunması gerekliken, bazı yaşamsal olmayan metaller ise; düşük konsantrasyonlarda bile tüm canlılar için oldukça ciddi problemlere sebebiyet vermektedir. Ağır metal kirliliği bu sebeple büyük önem teşkil etmektedir ve bu sorunun çözümü için alternatif yöntemler geliştirilmelidir.

Yapılan bu çalışmayla; metalleri absorblama yeteneğine sahip bir makrofit olan *L. minor* kullanılarak, Cu, Pb ve Cr (III) metalleri buldukları su ortamından absorblanmıştır. *L. minor*, ağır metal uzaklaştırılmasında oldukça yüksek verimlilik göstermiştir. Pb ve Cr, Cu'a göre daha yüksek seviyede uzaklaştırılmıştır. Sudaki son metal konsantrasyonu ve su mercimeklerinin yapraklarındaki son metal konsantrasyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında; metal uzaklaştırılmasının makrofitin metalleri absorbe etmesiyle gerçekleştiği görülmektedir. Deney gruplarının hepsinde ilk 24 saatte hızlı bir absorpsiyon söz konusuken, sonrasında absorpsiyon oranı oldukça azalmıştır.

Metaller, sucul canlılara da önemli zararlar vermektedir. Bu tez çalışmasıyla Pb, Cu ve Cr'un *L. minor* üzerindeki etkileri de çalışılmış ve Pb'nun; diğer iki metale (Cu ve Cr (III)) göre daha toksik olduğu tespit edilmiştir. Ağır metallerin kullanımlarının kontrol edilmesinin büyük önem taşıdığı sonucuna varılmıştır.

L. minor üzerinde yürütülen bu çalışmada, çalışılan ağır metallerin birbirleri üzerinde etkileri olduğu ve verilen dozlara göre bu etkilerin değişim gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Bu tez çalışmasının sonuçlarına göre, ağır metallerin temizlenmesinde makrofitlerin kullanımının; oldukça ekonomik, verimli ve doğal bir yöntem olması nedeniyle diğer yöntemlere ideal bir alternatif oluşturabileceği ve bu yöntemin geliştirilmesiyle doğal ortamda da başarı sağlanabileceği düşünülmektedir. Ancak; yapılan çalışmada görülmüştür ki; doğal ortamların temizlenmesinde ortam koşulları, kullanılacak canlı, uygulanacak yöntem, absorpsiyon süresi ve temizlenmek istenilen ağır metallerin birbirleri üzerindeki etkilerinin çok iyi biliniyor olması gerekmektedir. Aksi takdirde, temizlenmek istenilen ortamın daha fazla kirletilmesi dahi söz konusu olabilmektedir.

KAYNAKLAR

- Alcorlo, P., Otero, M., Crehuet, M., Baltanás, A. and Montes, C. 2006. The use of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*, Girard) as indicator of the bioavailability of heavy metals in environmental monitoring in the River Guadiamar (SW, Spain). *Science of the Total Environment*, Vol:366, pp. 380–390.
- Al Hasin, A., Gurman, S.J., Murphy, L.M., Perry, A., Smith, T.J. and Gardiner, P.H.E. 2010. Remediation of Chromium(VI) by a Methane-Oxidizing Bacterium. *Environmental Science & Technology*, Vol:44(1), pp. 400-405.
- Alvarado, S., Guédez, M., Lué-Meru, M.P., Nelson, G., Alvaro, A., Jesús, A.C. and Gyula, Z. 2008. Arsenic Removal from Waters by Bioremediation with the Aquatic Plants Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Lesser Duckweed (*Lemna minor*). *Bioresource Technology*, Vol:99, pp. 8436–8440.
- Anonim. 1998. T.S.E. Su Kirliliği Kontrolü, Metod ve Kuralları, Zehirlilik Denemeleri, Ankara.
- Anonim. 2004. Çevre ve Orman Bakanlığı Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği. 31 Aralık 2004. 25687.
- Anonim. 2011. Web sitesi: http://tr.wikipedia.org/wiki/Su_mercime%C4%9Figiller.html. Erişim Tarihi: 29.04.2011
- Anonymous. 1996. Ecological Effects Test Guidelines. Aquatic Plant Toxicity Test Using *Lemna* spp., Tiers I and II, EPA712–C–96–156.
- Anonymous. 2002. Guidelines for the testing of chemicals. *Lemna* sp. Growth Inhibition Test, Draft guideline 221.
- Anonymous. 2011. Web sitesi: http://en.wikipedia.org/wiki/Lemna_minor. Erişim Tarihi: 29.04.2011.
- Ansari, A.A. and Khan, F.A. 2008. Remediation of Eutrophic Water Using *Lemna minor*'un a Controlled Environment. *African Journal of Aquatic Science*, 33(3), 275–278.
- Antón, A., Serrano, T., Angulo, E., Ferrero, G. and Rallo, A. 2000. The Use of Two Species of Crayfish as Environmental Quality Sentinels: The Relationship Between Heavy Metal Content, Cell and Tissue Biomarkers and Physico-chemical Characteristics of the Environment. *The Science of the Total Environment*, Vol:247, pp. 239-251.
- Appenroth, K.J., Krech, K., Keresztes, Á., Fischer, W. and Koloczek, H. 2010. Effects of Nickel on the Chloroplasts of the Duckweeds *Spirodela polyrhiza* and *Lemna minor* and Their Possible Use in Biomonitoring and Phytoremediation. *Chemosphere*, Vol:78, pp. 216–223.

- Argun, M.E. and Dursun, S. 2009. A New Approach to Modification of Natural Adsorbent for Heavy Metal Adsorption. *Bioresource Technology* Vol:99, pp.2516–2527.
- Axtell, N.R., Sternberg, S.P.K. and Claussen, K. 2003. Lead and Nickel Removal Using *Microspora* and *Lemna minor*. *Bioresource Technology*, Vol: 89(1), pp.41-48.
- Bekcan, S., Atar, H.H. and Beyaz, A. 2009. Measurement of the Effects of Liquid Fertilizers at the Different Levels on Duckweed (*Lemna Minor* L.) Growth Using Image Analysis Technique. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, pp. 1205 – 1209.
- Bhainsa, K.C. and D'Souza, S.F. 2008. Removal of Copper Ions by the Filamentous Fungus, *Rhizopus oryzae* from Aqueous Solution. *Bioresource Technology*, Vol:99(9), pp. 3829-3835.
- Blinova, I. 2004. Use of Freshwater Algae and Duckweeds for Phytotoxicity Testing. *Environmental Toxicology*. Special Issue: 11th International Symposium on Toxicity Assessment, Vol:19(4), pp. 425 – 428.
- Cevik, U., Koz, B. and Makarovska, Y. 2010. Heavy Metal Analysis around Iskenderun Bay in Turkey, X-Ray Spectrom, Vol:39, pp.202–207.
- Cicek, A. 2010. Determination of Metal Accumulation in Firethorn (*Pyracantha Coccinea* M. Roemer) Leaves in Eskisehir (Turkey). *Journal of the Chemical Society Of Pakistan*, Vol:32(1), pp. 40-45.
- Cihangir, N. and Sağlam, N. 1999. Removal of Cadmium by *Pleurotus Sajor-caju* Basidiomycetes. *Acta Biotechnol*, Vol:19(2), pp.171-177.
- Cimrin, K.M., Turan, M. and Kapur, B. 2007. Effect of Elemental Sulphur on Heavy Metals Solubility and Remediation by Plants in Calcareous Soils. *Fresenius Environmental Bulletin*, Vol:16:9A, pp.1113-1120.
- Cooper, N.L., Bidwell, J.R., Kumar, A. 2009. Toxicity of Copper, Lead, and Zinc Mixtures to *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia carinata*. *Cotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1523–1528.
- Debusk, T.A., Laughlin, R.B. and Schwartz, L.N. 1996. Retention and Compartmentalization of Lead and Cadmium in Wetland Microcosms. *War. Res.*, Vol: 30(11),pp.2707-2716.
- Demirel, S., Ustun, B., Aslim, B. and Suludere, Z. 2009. Toxicity and Uptake of Iron Ions by *Synechocystis* sp. E35 Isolated from Kucukcekmece Lagoon, Istanbul. *Journal of Hazardous Materials*, Vol:171, pp.710–716.
- Dias, V. and Gomes, A.R. 2006. The Phytoremediation Approach for the Control of Hydric Pollution. *Metal Ions in Biology And Medicine*, Vol: 9, pp. 437-443.
- Dirilgen, N.,İnel, Y. 1994. Cobalt-copper and Cobalt-zinc Effects on Duckweed Growth and Metal Accumulation. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, Vol:29(1), pp. 63 – 81.

- Dirilgen, N. and Ince, N. 1995. Inhibition Effect of the Anionic Surfactant SDS on Duckweed, *Lemna minor* with Considerations of Growth and Accumulation. *Chemosphere*, Vol: 31(9), pp.4185-4196.
- Dirilgen, N. 1998. Effects of pH and Chelator EDTA on Cr Toxicity and Accumulation in *Lemna minor*. *Chemosphere*, Vol:37(4), pp.771-783.
- Dirilgen, N. 2001. Accumulation of Heavy Metals in Freshwater Organisms: Assessment of Toxic Interactions. *Turkish Journal of Chemistry*, Vol:25, pp.173-179.
- Dirilgen, N. and Doğan, F. 2002. Speciation of Chromium in the Presence of Copper and Zinc and Their Combined Toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol:53, pp. 397–403.
- Drost, W., Matzke, M. and Backhaus, T. 2007. Heavy Metal Toxicity to *Lemna minor*: Studies on the Time Dependence of Growth Inhibition and the Recovery After Exposure. *Chemosphere*, Vol:67(1), pp. 36-43.
- Duman, F., Leblebici, Z. and Aksoy, A. 2009. Bioaccumulation of Nickel, Copper, and Cadmium by *Spirodela polyrhiza* and *Lemna gibba*. *Journal of Freshwater Ecology*, Vol:24(1), pp.177-179.
- Duman, F., Ozturk, F. and Aydın, Z. 2010. Biological Responses of Duckweed (*Lemna minor* L.) Exposed to the Inorganic Arsenic Species As(III) and As(V): Effects of Concentration and Duration of Exposure. *Ecotoxicology*, Vol:19(5), pp.983-993.
- Elmacı, A., Özengin, N. and Yonar, T. 2009. Removal of Chromium (III), Copper (II), Lead (II) and Zinc (II) Using *Lemna minor* L. *Fresenius Environmental Bulletin*, Vol:18(5), pp.538-542.
- Erenoglu, B., Patra1, H.K., Khodr, H., Römheld, V. and Wirén, N. 2007. Uptake and Apoplastic Retention of EDTA- and Phytosiderophore-chelated Chromium(III) in Maize. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, Vol:170, pp.788–795.
- Ergene, A., Tan, S., Katircioğlu, H. and Öktem, Z. 2006. Biosorption of copper (II) on immobilized *Synechocystis aquatilis*. *Fresenius Environmental Bulletin*, Vol:15, pp.283-288.
- European Commission DG ENV. E3 Project ENV.E.3/ETU/2000/0058, “Heavy Metals in Waste” February 2002, Danimarka.
- Fjällborg, B. and Dave, G. 2003. Toxicity of Copper in Sewage Sludge. *Environment International*, Vol:28(8), pp.761-769.
- Garnczarska, M. and Ratajczak, L. 2000. Metabolic Responses of *Lemna minor* to Lead Ions I. Growth, Chlorophyll Level and Activity of Fermentative Enzymes. *Acta Physiol Plant*. Vol:22(4), pp.423–427.
- Gifford, S., Dunstan, H., O’Connor, W. and Macfarlane, G.R. 2005. Quantification of in Situ Nutrient and Heavy Metal Remediation by a Small Pearl Oyster (*Pinctada imbricata*) Farm at Port Stephens, Australia. *Marine Pollution Bulletin*, Vol:50(4), pp.417-422.

- Gupta, V.K., Shrivastava, A.K. and Jain, N. 2001. Biosorption of chromium (VI) from aqueous solutions by green algae *Spyrogira* species. *Water Research* Vol:35, pp.4079-4085.
- Gurcu, B., Yildiz, S., Koca, Y.B.G., Koca, S. 2010. Investigation of Histopathological and Cytogenetic Effects of Heavy Metals Pollution on *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) in the Golmarmara Lake, Turkey. *Journal of Animal And Veterinary Advances*. Vol:9(4),pp. 798-808.
- Gürtekin, E. ve Şekerdağ, N. 2008. Son Çökeltme Havuzlarında Su Mercimeğinin (*Lemna Minor* L.) Rolü. *SAÜ. Fen Bilimleri Dergisi*, Vol:12(1),pp. 28-31.
- Hasar, H. and Obek, E. 2001. Removal of Toxic Metals from Aqueous Solution by Duckweed (*Lemna minor* L.):Role of Harvesting and Adsorption Isotherms. *Arabian Journal for Science and Engineering*, Vol: 26(2C), pp.47-54.
- Hatano, A. and Shoji, R. 2007. Toxicity of Copper and Cadmium in Combinations to Duckweed Analyzed by the Biotic Ligand Model. *Environmental Toxicology*, Vol:23(3), pp.372 – 378.
- Horvat, T., Vidakovic-Cifrek, Z., Orescanin, V., Tkalec, M. and Pevalek-Kozlina, B. 2007. Toxicity Assessment of Heavy Metal Mixtures by *Lemna minor*. *Science of The Total Environment*, Vol: 384,(1-3),1, pp.229-238.
- Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q. and Chang, C.C. 2007. Effects of Copper and Cadmium on Heavy Metal Pollut Waterbody Restoration by Duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol:45, pp.62-69.
- Hurd, N.A. and Sternberg, S.P.K. 2008. Bioremoval Of Aqueous Lead Using *Lemna minor*. *International Journal of Phytoremediation*, Vol:10(4), pp.278 – 288.
- Ince, N.H., Dirilgen, N., Apikyan, I.G., Tezcanli, G., Üstün, B.U. 1999. Assessment of Toxic Interactions of Heavy Metals in Binary Mixtures: A Statistical Approach. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, Vol:36, pp.365–372.
- Jain, S.K., Vasudevan, P. and Jha, N.K. 1989. Removal of Some Heavy Metals From Polluted Water by Aquatic Plants-Studies on Duckweed and Water Velvet. *Biological Wastes*, Vol:28(2), pp.115-126.
- Jain, S.K., Vasudevan, P. and Jha, N.K. 1990. *Azolla pinnata* r.br. and *Lemna minor* L. for Removal of Lead and Zinc from Polluted Water. *Water Research*, Vol:24(2), pp.177-183.
- Jackson, V.A., Paulse, A.N., Bester, A.A., Neethling, J.H., Khan, S. and Khan, W. 2009. Bioremediation of Metal Contamination in the Plankenburg River, Western Cape, South Africa. *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol:63, 559–568.
- Kahvecioglu, Ö., Kartal, G., Güven, A. ve Timur, S. 2006. TMMOB Metalürji Mühendisleri Odası, *Metalürji Dergisi*, Sayı 136.

- Kara, Y.O. 2002. Phytoremediation: Using *Nasturtium officinale* to Clean Up Zn⁺⁺-Contaminated Wastewater. Fresenius Environmental Bulletin, 11:12A, 1084-1086.
- Kara, Y., Basaran D., Kara, İ., Zeytunluoglu, A. and Genç, H. 2003. Bioaccumulation of Nickel by Aquatic Macrophyta *Lemna minor* (Duckweed). International Journal Of Agriculture & Biology, 1560–8530, 05–3–281–283.
- Kara, Y. 2004. Bioaccumulation of Copper from Contaminated Wastewater by Using *Lemna minor*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 72, 467-471.
- Kara, Y. and Kara, I. 2005. Removal of Cadmium from Water Using Duckweed (*Lemna trisulca* L.). International Journal of Agriculture and Biology, 1560-8530, 07-4-660-662.
- Kara, Y. and Zeytunluoglu, A. 2007. Bioaccumulation of Toxic Metals (Cd and Cu) by *Groenlandia densa* (L.) Fourr. Bull. Environ. Contam. Toxicol., Vol:79, pp.609-612.
- Khellaf, N. and Zerdaoui, M. 2009. Growth Response of the Duckweed *Lemna minor* to Heavy Metal Pollution. Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng., Vol:6(3), pp.161-166.
- Khellaf, N., Zerdaoui, M., Faure, O., Leclerc, J.C. Tolerance to Heavy Metals in the Duckweed, *Lemna minor*. http://www.norman-network.net/public_docs/slides_lyon/session_2/8_khellaf_s2_poster_web.pdf. Erişim tarihi: 2010.
- Kuhn, D.J. 1969. Duckweed. American Biology Teacher, Vol:31(5), 328-&.
- Kwan, K.H.M. and Smith, S. 1991. Some Aspects of The Kinetics of Cadmium and Thallium Uptake by Fronds of *Lemna Minor* L. New Phytologist, Vol:117(1), pp.91-102.
- Lovley, D.R. and Coates, J.D. 1997. Bioremediation of Metal Contamination. Current Opinion in Biotechnology, pp.5265-269.
- Maiti, S.K. , Bera, D. , Chattopadhyay, P. and Ray, L. 2009. Determination of Kinetic Parameters in the Biosorption of Cr (VI) on Immobilized *Bacillus cereus* M¹⁶ in a Continuous Packed Bed Column Reactor. Appl Biochem Biotechnol Vol:159, 488–504.
- Malik, A. 2004. Metal Bioremediation Through Growing Cells. Environment International, Vol:30, pp.261– 278.
- Mejare, M. and Bülow, L. 2001. Metal-binding Proteins and Peptides in Bioremediation and Phytoremediation of Heavy Metals. Trends in Biotechnology, Vol:19(2).
- Memon, A. and Schröder, P. 2009. Implications of Metal Accumulation Mechanisms to Phytoremediation. Environ Sci Pollut Res., 16, 162–175.
- Miretzky, P., Saralegui, A. and Cirelli, A.F. 2004. Aquatic Macrophytes Potential for the Simultaneous Removal of Heavy Metals (Buenos Aires, Argentina). Chemosphere, Vol:57, pp. 997–1005.

- Mulligan, C.N. and Galvez- Cloutier, R. 2003. Bioremediation of Metal Contamination. Environmental Monitoring and Assessment, Vol:84, pp.45–60.
- Oporta, C., Arce, O., Broeck, E.V.D., Bruggen, B.V.D. and Vandecasteele, C. 2006. Experimental Study and Modelling of Cr (VI) Removal from Wastewater Using *Lemna minor*. Waterresearch, Vol:40, 1458 – 1464.
- Ozbay, H. 2002. An Experimental Approach to Examining the Effect of Water Depth and *Lemna minor* L. on Algal Growth. Tr. Journal of Botany, Vol:26, pp.5-11.
- Öbek, E. and Hasar, H. 2002. Role Of Duckweed (*Lemna minor* L.) Harvesting In Biological Phosphate Removal From Secondary Treatment Effluents. Fresenius Enviromental Bulletin, Vol:11(1), pp.27-29.
- Paustenbach, D.J. 2000. The Practice of Exposure Assessment: A State-of-the-art Review. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part b, 3(3), pp.179-291.
- Piston, G., Allinson, G., Stagnitti, F. and Colville, S. 1999. Effect of Selenium on the Growth of *Lemna minor*. Toxicological & Environmental Chemistry, Vol:71(3 & 4), 271 – 277.
- Polti, M.A., Amoroso, M.J. and Abate, C.M. 2010. Chromate reductase activity in *Streptomyces* sp. MC1, J. Gen. Appl. Microbiol. Vol:56 ,pp.11-18 .
- Prasad, M.N.V., Malec, P., Waloszek, A., Bojko, M. and Strzałka, K. 2001. Physiological Responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to Cadmium and Copper Bioaccumulation. Plan Science, Vol:161(5), 881-889.
- Rahmani, G.N.H. and Sternberg, S.P.K. 1999. Bioremoval of Lead from Water Using *Lemna minor*. Bioresource Technology, Vol:70(3), pp.225-230.
- Rehman, A., Shakoori, F.R. and Shakoori, A.R. 2009. Heavy Metal Uptake by *Euplotes mutabilis* and Its Possible Use in Bioremediation of Industrial Wastewater. Bull Environ Contam Toxicol, Vol:83, pp.130–135.
- Sayıroğlu, A., Sasmaz, A. and Sen, O. 2006. Hyperaccumulator Plants of the Keban Mining District and Their Possible Impact on the Environment. Polish Journal of Environmental Studies, Vol:15(2), pp.317-325.
- Sağlam, N. ve Cihangir, N. 1995. Hacettepe Üni. Eğitim Fakültesi Dergisi, 11, 157-161.
- Sayıdeğer, S. 1996. *Lemna gibba* L. ve *Lemna minor* L. (Lemnaceae)' nin Morfolojik, Anatomik, Ekolojik ve Fizyolojik Özellikleri. Ekoloji Çevre Dergisi, 18, 8-11.
- Sayıdeğer, S. and Dogan, M. 2004. Lead and Cadmium Accumulation and Toxicity in the Presence of EDTA in *Lemna minor* L. and *Ceratophyllum demersum* L. Bull. Environ. Contam. Toxicol., Vol: 73, pp.182–189.

- Saygıdeğer, S., Gulnaz, O., Istifli, E.S. and Yücel, N. 2005. Adsorption of Cd (II), Cu (II) and Ni (II) ions by *Lemna minor* L.: Effect of physicochemical environment. *Journal of Hazardous Materials*, B126, pp.96-104.
- Schröder, P., Navarro-Aviñó, J., Azaizeh, H., Goldhirsh, A.G., DiGregorio, S., Komives, T., Langergraber, G., Lenz, A., Maestri, E., Memon, A.R., Ranalli, A., Sebastiani, L., Smrcek, S., Vanek, T., Vuilleumier, S. and Wissing, F. 2007. Using Phytoremediation Technologies to Upgrade Waste Water Treatment in Europe. *Env. Sci. Pollut. Res.*, Vol: 7, pp.490- 497.
- Shah, K. and Nongkynrith, J.M. 2007. Metal Hyperaccumulation and Bioremediation. *Biologia Plantarum*, Vol:51(4), pp.618-634.
- Singh, S., Eapan, S. and D'Souza, S.F. 2006. Cadmium Accumulation and Its Influence on Lipid Peroxidation and Antioxidative System in An Aquatic Plant, *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere*. Vol: 62, pp.233–46.
- Sogut, Z., Zaimoglu, B.Z., Erdoğan, R. and Sucu, M.Y. 2005. Phytoremediation of Landfill Leachate Using *Pennisetum clandestinum*. *Journal of Environmental Biology*, Vol:26(1), pp.13-20.
- Sonmez, O., Bukun, B., Kaya, C. and Aydemir, S. 2008. The Assessment of Tolerance to Heavy Metals (Cd, Pb and Zn) and Their Accumulation in Three Weed Species. *Pakistan Journal of Botany*, Vol:40(2), pp.747-754.
- SPSS Statistics Data Editor 17.0 License Authorization Wizard (<http://cs.its.uiowa.edu/software/documents/SPSS17.0MacintoshSiteLicenseInstallationInstructions.pdf>)
- Teisseire, H., Couderchet, M. and Vernet, G. 1998. Toxic Responses and Catalase Activity of *Lemna minor* L. Exposed to Folpet, Copper, and Their Combination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol: 40(3), pp.194-200.
- Tileklioglu, B., Battal, P. and İşler, S. 1996. The Effect of Cigarette Smoke on the Growth and Development of Wheat (*Triticum vulgare* Vill.) and Duckweed (*Lemna minor* L.). *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, Vol:31(10), 577 – 2581.
- Turan, M. and Angin, I. 2004. Organic Chelate Assisted Phytoextraction of B, Cd, Mo and Pb from Contaminated Soils Using Two Agricultural Crop Species. *Acta Agriculture Scandinavica Section B-Soil and Plant Science*, Vol:54(4), pp.221-231.
- Turgut, C., Pepe, M.P. and Cutright, T.J. 2004. The Effect of EDTA and Citric Acid on Phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from Soil Using *Helianthus annuus*. *Environmental Pollution*, Vol:131, pp.147-154.
- Turgut, C., Pepe, M.P. and Cutright, T.J. 2005. The Effect of EDTA on *Helianthus annuus* Uptake, Selectivity, and Translocation of Heavy Metals When Grown in Ohio, New Mexico and Colombia Soils. *Chemosphere*, Vol:58 , pp.1087–1095.

- Uruç, K., Yılmaz, D. and Akbulut, H. 2008. Farklı pH Değerlerinin *Lemna gibba* L. ve *Lemna minor* L.'de Nikel Alınımı ve Klorofil Miktarına Etkisi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, Vol:1(2), pp.13-15.
- Uysal, Y. and Taner, F. 2009. Effect of Ph, Temperature, and Lead Concentration on The Bioremoval of Lead From Water Using *Lemna Minor*. *International Journal of Phytoremediation*, Vol:11,pp. 591–608.,
- Uysal Y. and Taner, F. 2010. Bioremoval of Cadmium by *Lemna Minor* in Different Aquatic Conditions. *CLEAN - Soil, Air, Water*, Vol:38(4), pp.370 – 377.
- Vural, N. 2005. Toksikoloji, A.Ü.Ecz.F. Yayınları No: 73, Ankara, A.Ü. Basımevi, s. 1-20.
- Yılmaz, Z., Gür, K. ve Tarlan, E. 2005. S.Ü. Kampüs Atıksularının Karakterizasyonu ve Su Mercimeği (*Lemna Minor* L.) ile Arıtlabilirliği. *S.Ü. Müh.-Mim. Fak. Derg.*, c.20, s.4.
- Yim, J.H., Kim, K.W. and Kim, S.D. 2006. Effect of Hardness on Acute Toxicity of Metal Mixtures Using *Daphnia magna*: Prediction of Acid Mine Drainage Toxicity. *Journal of Hazardous Materials*, B138, pp.16–21.
- Wahaab, R.A., Lubberding, H.J. and Alaerts, G.J. 1995. Copper and Chromium(III) Uptake by Duckweed, *Water Science and Technology*, Vol:32(11), pp.105-110.
- Wang, W. 1986. Toxicity Tests of Aquatic Pollutants by Using Common Duckweed. *Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical*, Vol:11(1), pp.1-14.
- Wang, Q., Cui, Y. and Dong, Y. 2002. Phytoremediation of Polluted Waters Potentials and Prospects of Wetland Plants. *Acta Biotechnologica*, Vol:22(1-2), pp.199 – 208.

EKLER

EK 1 Toksikolojik Genel Tanımlar

EK 2 Kıta İçi Su Parametreleri

EK 3 Deney öncesinde *Lemna minor*'un görünümü

EK 4 (Cr, Pb, Cu) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü

EK 5 (2Cr, Pb) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü

EK 6 (Cr, 2Pb) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü

EK 7 (2Cu, Pb) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü

EK 8 (Cu, 2Pb) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü

EK 9 (Cr, 2Cu) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü

EK 10 (2Cr, Cu) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü

EK 11 Kontrol grubunda bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü

EK 1 Toksikolojik Genel Tanımlar

Toksikoloji: Kimyasal maddelerin biyolojik dokulara kantitatif tesirlerinin mekanizmalarıyla birlikte araştırılmasını inceleyen ve elde edilen bilgilerden insan popülasyonuna ve çevreye zararları ve etkileri hakkında tahmin eden bir bilim dalıdır (Anonim 1998).

Zehirlilik Deneyleri: Zehirli maddeye belirli bir maruz kalma süresinden sonra ölüm, hareketsizlik, üremenin engellenmesi gibi zehir etkilerini belirleyen konsantrasyonu tespit etmek için yapılan deneylerdir (Anonim 1998).

Akut Zehirlilik Deneyleri: Deney organizmalarında kısa sürede olumsuz değişikliğe sebep olan deney konsantrasyonlarını belirleme işlemidir (Anonim 1998).

Ortalama Etkili Konsantrasyon (EC₅₀) : Deney organizmalarının %50'sinde denge kaybı, felç, anormallikler veya vücut bozuklukları gibi etki meydana getiren konsantrasyondur (Anonim 1998).

Ortalama Ölüm Zamanı (LT₅₀): Zehir etkisini gösteren bir maddenin öldürücü dozunun organizmaya girdikten sonra, organizmaların yarısının ölümü için geçen süredir (Anonim 1998).

Ortalama Öldürücü Doz (LD₅₀): Tatbik edildiği organizmaların yarısını öldüren dozdur (Anonim 1998).

En Yüksek Tolerans Dozu: Ölüm meydana getirmeyen en yüksek dozdur (Anonim 1998).

Öldürücü Doz: Ölüm meydana getiren dozların en küçüğüdür (Anonim 1998).

En Düşük Öldürücü Doz: Bir defa tatbikinde öldüren doza denir (Anonim 1998).

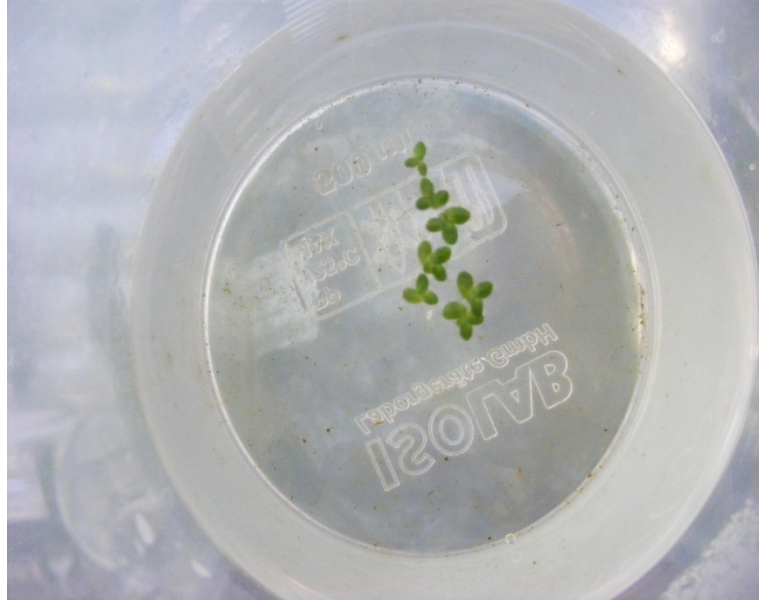
Zehirlilik Dozu (Toksik Doz): Ölüm meydana getirmemekle beraber, zehirlenme belirtilerine sebep olan dozdur (Anonim 1998).

Akut zehirlilik: Tek dozda 24 saatlik süre içinde görülen zehirliliktir (Vural 2005).

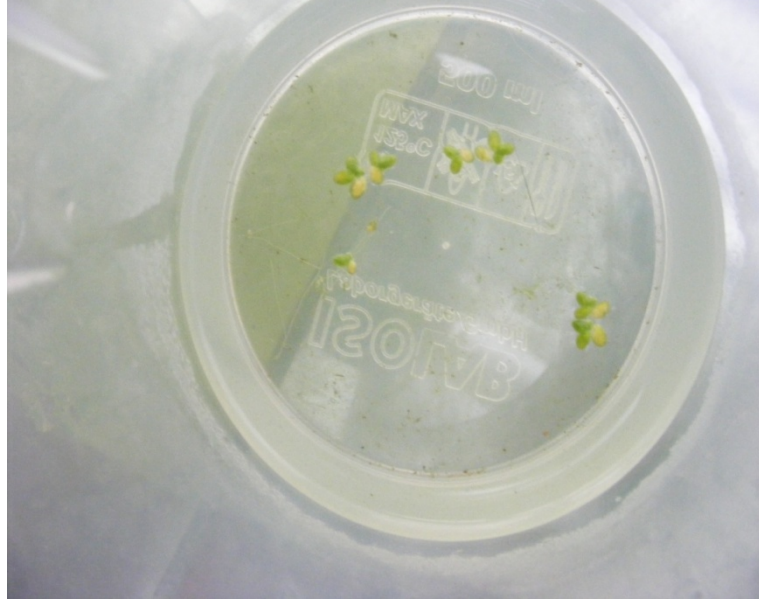
EK 2 Kıta İçi Su Kalite Parametreleri (Anonim 2004)

	I.su kalite sınıfı	II.su kalite sınıfı	III.su kalite sınıfı	IV.su kalite sınıfı
Kurşun (μg Pb/L)	10	20	50	> 50
Krom (toplam) ($\mu\text{g Cr/L}$)	20	50	200	> 200
Bakır (μg Cu/L)	20	50	200	> 200

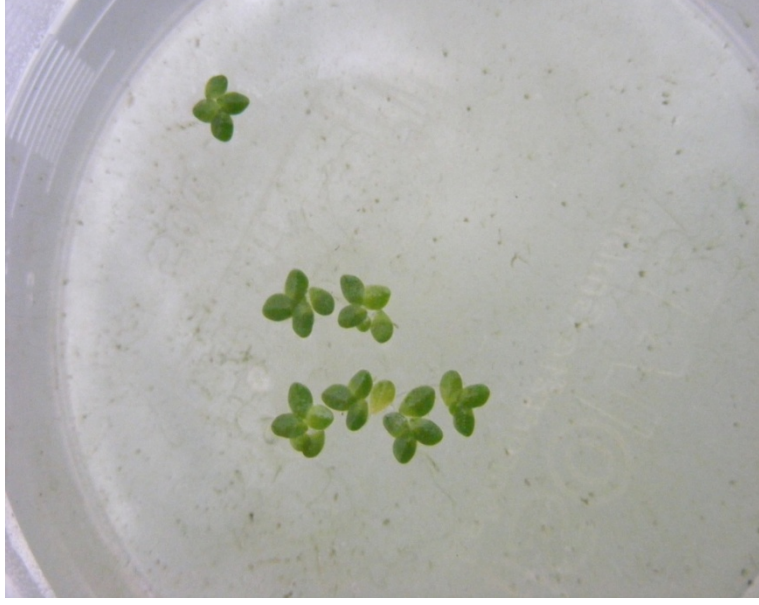
EK 3 Deney öncesinde *Lemna minor*'un görünümü



EK 4 Cr,Pb,Cu karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü



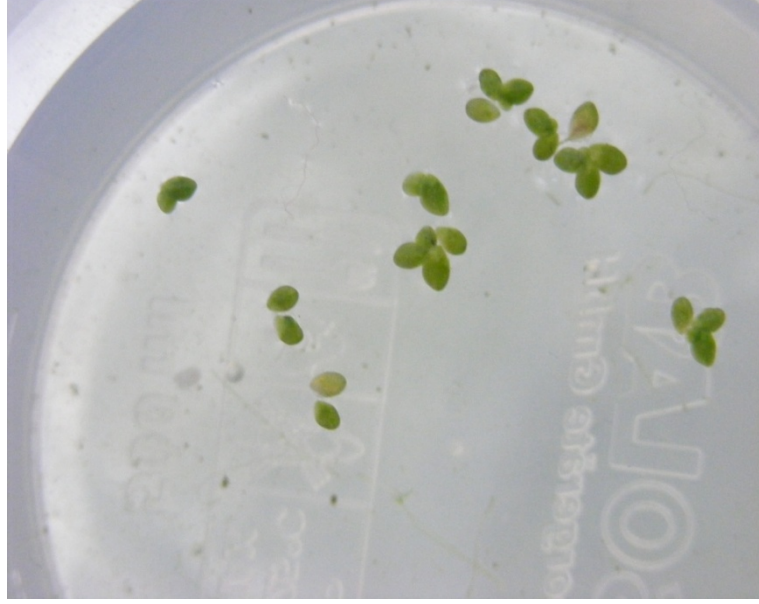
EK 5 (2Cr, Pb) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü



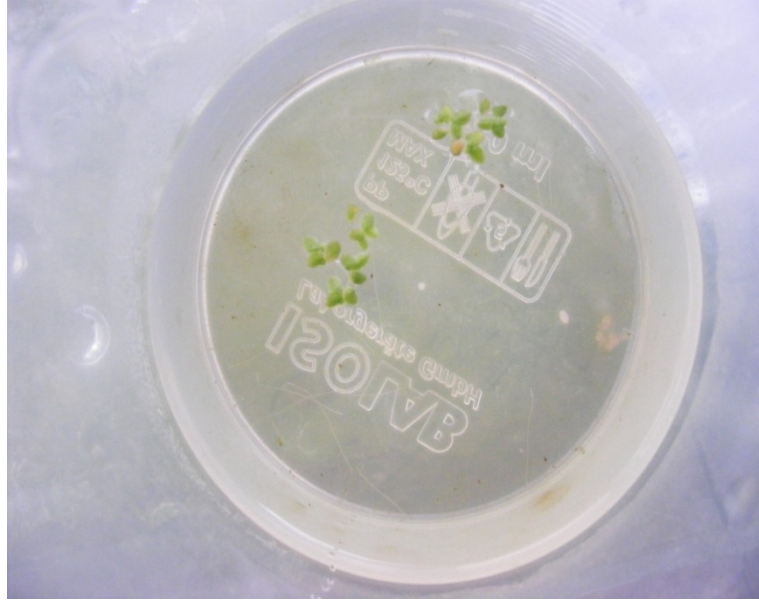
EK 6 (Cr, 2Pb) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü



EK 7 (2Cu, Pb) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü



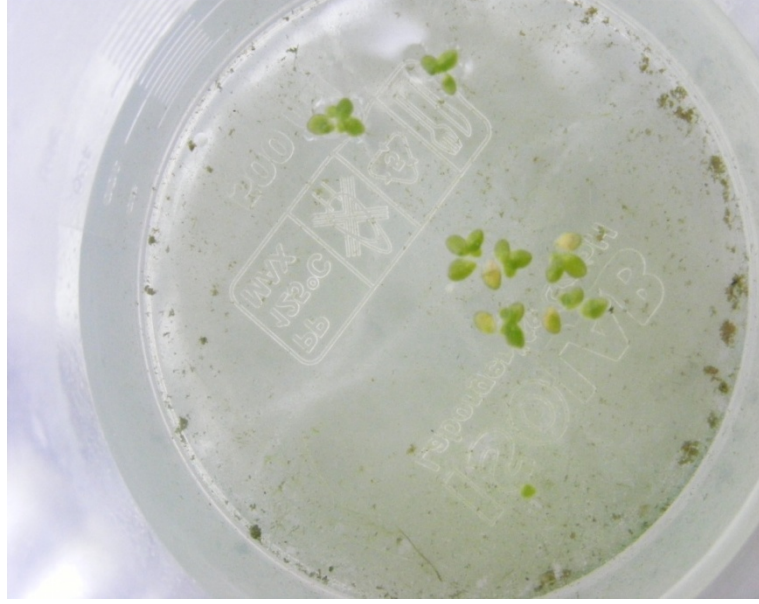
EK 8 (Cu, 2Pb) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü



EK 9 (Cr, 2Cu) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü



EK 10 (2Cr, Cu) karışımında bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü



EK 11 Kontrol grubunda bulunan *Lemna minor*'un 7. gün sonundaki görünümü



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı :Esra ÜÇÜNCÜ

Doğum Yeri :Trabzon

Doğum Tarihi :02.11.1986

Medeni Hali :Bekar

Yabancı Dil :İngilizce

Eğitim Durumu

Lise :Samsun Tülay Başaran Anadolu Lisesi (2004)

Lisans :Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2009)

Yüksek Lisans :Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji

Anabilim Dalı (Eylül 2007- Haziran 2011)