

***PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*
VE DUNALIELLA TERTIOLECTA
TARAFINDAN METAL
BİYOKULLANIMI, BİYOBİRİKİMİ
VE TOKSİSİTE DEĞERLENDİRMESİ**

ZEYNEP SEDA TAYLAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM* VE *DUNALIELLA TERTIOLECTA
TARAFINDAN METAL BİYOKULLANIMI, BİYOBİRİKİMİ VE TOKSİSİTE
DEĞERLENDİRMESİ

ZEYNEP SEDA TAYLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. HÜLYA BÖKE ÖZKOÇ

SAMSUN 2005

***PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM* VE *DUNALIELLA TERTIOLECTA*
TARAFINDAN METAL BİYOKULLANIMI, BİYOBİRİKİMİ VE TOKSİSİTE
DEĞERLENDİRMESİ**

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, ağır metallerin deniz algleri tarafından alımının, birikiminin, toksisitesinin, organizma sayılarında ve klorofil içeriklerinde meydana getirdiği değişimlerin incelenmesidir. Bu nedenle besin zincirinde önemli olan yeşil alg *Dunaliella tertiolecta* ve diatom kahverengi alg *Phaeodactylum tricornutum* kontrol organizması olarak kullanılmıştır. Ağır metal olarak ise bakır ve çinko metalleri seçilmiştir. Seçilen ağır metallerin çalışmadaki konsantrasyonlarına karar verirken, sucul ortamda bulunacak maksimum ve minimum konsantrasyonları göz önünde bulundurulmuştur. Organizmaların bulunduğu ortama yalnızca 1 ağır metal eklenmiş ve 4-7 gün boyunca kesikli sistemde çalıştırılmıştır. Deneyler 3 aşamadan oluşmaktadır. Alg örneklerine 4-7 gün boyunca ilk aşamada yüksek konsantrasyonda metal; ikinci aşamada düşük konsantrasyonda metal; üçüncü aşamada da azot ve fosfor varlığında düşük konsantrasyonda metal uygulanarak organizmaların ağır metali biyoakümüasyonu (BA), biyokonsantrasyon faktörü (BCF), hücre inhibisyon değerleri, klorofil içerikleri bulunmuş ve literatür değerleri ile kıyaslanmıştır.

Genel olarak metal alımı ile organizma sayılarında, klorofil konsantrasyonlarında ve biyokonsantrasyon faktörlerinde (BCF) azalma, biyoakümüasyonu (BA) değerleri ve inhibisyon yüzdelерinde ise artışlar gözlemlenmiştir. Ancak yüksek konsantrasyonlu uygulamalarda 5 mg/L'lik metal dozunda inhibisyonun olduğu; daha yüksek olan 10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L ve 50 mg/L'lik metal dozlarında ise inhibisyonun olmadığı gözlemlenmiştir. 0,05 mg/L, 0,25 mg/L, 0,50 mg/L, 1 mg/L, 1,50 mg/L'lik düşük metal dozlarında ise inhibisyon yüzdelерinin arttığı gözlemlenmiştir. Deniz diatomu *Phaeodactylum tricornutum* ve yeşil alg *Dunaliella tertiolecta*'nın çinko alımlarının bakır alımlarından daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bakır metali her iki organizmaya da çinkodan daha toksiktir. Metal konsantrasyonu ve maruziyet süresi arttıkça inhibisyon oluşumunun yanı sıra hücre içine alınan metal miktarlarında azalma, hücre yüzeylerine adsorblanan metal

miktarlarında ise artışlar elde edilmiştir. *Phaeodactylum tricornutum*'un düşük konsantrasyondaki bakır giderim verimliliği %72-%100, azot ve fosfor kaynağı varlığında %87,33-%100; *Dunaliella tertiolecta*'nın ise düşük konsantrasyondaki çinko giderim verimliliği %98-%100, azot ve fosfor kaynağı varlığında %90,13-%100 arasında değiştiği gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : *Phaeodactylum tricornutum*, *Dunaliella tertiolecta*, Bakır, Çinko, Biyoakümülyasyon (BA), Biyokonsantrasyon Faktörü (BCF), Akut Toksisite

METAL BIOAVAILABILITY, BIOACCUMULATION AND TOXICITY BY *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM* AND *DUNALIELLA TERTIOLECTA*

ABSTRACT

The aim of this work was to examine the variations relating to heavy metal uptake, accumulation, toxicity, cell numbers and chlorophyll content in marine algae. For that reason, it was used green algae *Dunaliella tertiolecta* and diatome brown algae *Phaeodactylum tricornutum*, which are important in nutrient chain, as control organisms. It was selected zinc and copper as heavy metal. It has been taken in to consideration maximum and minimum heavy metal concentration in aquatic environment; while it has been decided heavy metal concentration. It has been added one heavy metal and worked batch systems during 4-7 days. The experiments have carried out in 3 steps. In the first step, it has been applied high metal concentration; in the second step, lower metal concentration; and finally, lower metal concentration contained nitrogen and phosphorus, during 4-7 days. It was measured heavy metal bioaccumulation (BA), bioconcentration factor (BCF), cell inhibition values, chlorophyll content, and the datas obtained were compared with literature values.

Generally, it has been observed that diminish in cell numbers, chlorophyll concentration, bioconcentration factor (BCF); increase at bioaccumulation (BA) values, percent inhibition with metal uptake. Although it has been obtained inhibition at 5 mg/L metal concentration it hasn't been obtained inhibition at 10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L, 50 mg/L metal concentrations. It has been determined increase in percent inhibition at 0.05 mg/L, 0.25 mg/L, 0.50 mg/L, 1 mg/L, 1.50 mg/L metal concentrations. Zinc uptake was higher than copper uptake for every organisms. Copper is more toxic than zinc for both of them. While metal concentration and exposure time were increasing, it was obtain to decrease metal uptake into cell; increase to be adsorbed metal on cell surface. It has observed that low copper concentration removal output is %72-%100; presence of nitrogen and phosphorus removal output is %87,33-%100 for *Phaeodactylum tricornutum*. It has observed that low zinc concentration removal output is %98-%100;

presence of nitrogen and phosphorus removal output is %90,13-%100 for *Dunaliella tertiolecta*.

Keywords: *Phaeodactylum tricornutum*, *Dunaliella tertiolecta*, Copper, Zinc, Bioaccumulation (BA), Bioconcentration Factor (BCF), Acute Toxicity.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca yardımını, yakın ilgisini ve desteğini hiç bir zaman esirgemeyen sevgili hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Hülya BÖKE ÖZKOÇ'a en derin teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım boyunca yardımı ve sağladığı tüm olanaklardan dolayı Sayın Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ'a ve katkılarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Rıdvan SIVACI'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında ve lisans eğitimim boyunca bana sağlamış oldukları imkanlardan dolayı bölümümüzün bütün öğretim üyelerine, ayrıca yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarıma ve bölümümüzün diğer çalışanlarına da teşekkür ederim.

Lisans dönemimde stajımı yaptığım, yüksek lisans tez aşamamda da yardımlarını benden esirgemeyen SIEMENS Kartal / İstanbul Fabrikası Çevre Yönetimi Birimi çalışanlarından Kimya Mühendisi Sayın Güzin YAVUZ'a ve Çevre Mühendisi Sayın Sema ÖZTÜRK'e teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemi sağlayan, benden desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, fedakar, daima moral kaynağım olan canım anneme de teşekkür eder, hazırlamış olduğum tezimi kendisine atfederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	2
2.1. Metal Kaynakları.....	3
2.1.1. Doğal Kökenli Kaynaklar.....	3
2.1.2. Antropojenik (İnsan Kökenli) Kaynaklar.....	4
2.1.3. Metalin Su Ortamındaki Davranışı, Hareketi.....	5
2.2. Metallerin Organizmadaki İşlevleri.....	7
2.3. Metallerin Canlıdaki Birikim Şekilleri.....	10
2.3.1. Birikim Örnekleri.....	14
2.3.2. Atılma Olmaksızın Birikim.....	15
2.3.3. Bir Miktar Atılma İle Birlikte Birikim.....	16
2.3.4. Detoksifiye Olarak Depolanan Kısımdan Dışarı Atılma.....	17
2.4. Metallerin Organizmaya Toksik Etkisi.....	20
2.4.1. Toksisite Testleri.....	21
2.4.1.1. Akut Toksisite Testleri (Kısa Süreli Maruziyet Testleri).....	21
2.4.1.2. Kronik Toksisite Testleri (Uzun Süreli Maruziyet Testleri).....	23
2.5. Toksisitede Alglerin Kullanımı.....	24
2.5.1. Kullanılan Organizmalar.....	26
2.5.1.1. Yeşil Alg <i>Dunaliella tertiolecta</i>	26
2.5.1.2. Diatom <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	28
2.6. Biyoakümülyasyon ve Biyokonsantrasyon Faktörü.....	30
2.7. Ağır Metallerin Sucul Ekosisteme Etkileri.....	33
2.7.1. Bakır (Cu).....	34
2.7.2. Çinko (Zn).....	35
3. MATERYAL VE METOD.....	37
3.1. Alg Kültürlerinin Temini.....	37
3.2. Kültür Ortamı.....	38
3.2.1. Deniz Suyu Özellikleri (Sentetik Deniz Suyu).....	38
3.2.2. Besin Tuzu Ortamı ve Hazırlanması.....	39
3.3. Organizmaların Ekimi.....	39
3.4. Kullanılan Malzemeler ve Teknik Ekipmanlar.....	42

3.4.1. Teknik Ekipmanlar.....	42
3.5. Sterilizasyon.....	42
3.6. Test Metalleri.....	42
3.7. Biyoakümülyasyon Deneyleri.....	43
3.8. Toplam Sindirim Metodu.....	45
3.9. Atomik Absorbsiyon Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması.....	47
3.10. Klorofil Tayini	48
3.10.1. Alg Hücrelerinin Deney Ortamından Ayrılması.....	48
3.10.2. Ekstraksiyon.....	48
3.11. Hücre Sayımı	49
3.12. Kullanılan Ampirik Formüllerin Örnek Hesapları.....	50
3.12.1. Biyoakümülyasyon ve Biyokonsantrasyon Faktörleri.....	50
3.12.2. Klorofil	50
3.12.3. Spesifik Büyüme Oranı (μ , st^{-1}).....	51
3.12.4. İnhibisyon Oranı.....	51
3.12.5. Adsorblanan ve Hücre İçine Alınan Metal Miktarının Hesaplanması.....	52
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	
4.1. 1.Set, Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti.....	53
4.2. 2. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti.....	58
4.3. 3.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti.....	65
4.4. 4.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti	71
4.5. 5. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok).....	76
4.5. 5. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı).....	77
4.6. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok).....	88
4.6. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı).....	89
4.7. 7. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Azot ve Fosfor	

Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok).....	100
4.7. 7. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı).....	101
4.8. 8. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti.....	112
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	124
KAYNAKLAR.....	127
EKLER.....	137
ÖZGEÇMİŞ.....	139

KISALTMALAR LİSTESİ

AAS	Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi
BA	Biyoakümülyasyon
BCF	Biyokonsantrasyon Faktörü
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetikasit
EPA	Environmental Protection Agency
ISO	International Standardization Organization
OECD	Uluslararası Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü
PAH	Poliaromatik Hidrokarbonlar
PMRA	Pesticide Management Regulatory Agency
USEPA	The United States of Environmental Protection Agency
UTEX	The University of Texas, Culture Collection of Algae Department of Botany, Austin

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Metalin Su Ortamında İzlediği Yol	6
Şekil 2.2. Metalin Organizmaya Alımı ve Kullanımını Etkileyen Yöntemler	13
Şekil 2.3. Akuatik Omurgasızda Ağır Metal Birikim Dokusu	15
Şekil 2.4. Metabolizmadan Herhangi Bir Atım Olmaksızın Esas Metalin Depolanarak Birikmesi	16
Şekil 2.5. Metabolizma Tarafından Kullanılan Kısımdan Atılma	17
Şekil 2.6. Detoksifiye Formlarda Birikmiş Esas Metalin Akuatik Bir Omurgasızın Ağır Metal Birikim Dokusundaki Net Birikimi	18
Şekil 2.7. <i>Amphipod crustacea</i> Canlısında Beslenme Yoluyla Alınan İz Metalin “ventral” Hücrelerinde Detoksifiye Olmuş Metal Olarak Birikimi ve Buna Bağlı Olarak Metabolizmadaki Toplam Metal Konsantrasyonundaki Değişimler	19
Şekil 2.8. Laboratuvar ve Çalışılan Bölge Arasında Deneysel Dizayn Çalışması	21
Şekil 4.1. 1. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> ’un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BA Değerleri	55
Şekil 4.2. 1. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> ’un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BCF Değerleri	55
Şekil 4.3. 1. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> ’un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Klorofil Değerleri	56
Şekil 4.4. 1. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> ’un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen İnhibisyon Değerleri	56
Şekil 4.5. 2. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> ’nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BA Değerleri	62

Şekil 4.6.	2. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BCF Değerleri	62
Şekil 4.7.	2. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Klorofil Değerleri	63
Şekil 4.8.	2. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen İnhibisyon Değerleri	63
Şekil 4.9.	3. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko İle Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BA Değerleri	68
Şekil 4.10.	3. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko İle Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BCF Değerleri	68
Şekil 4.11.	3. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko İle Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Klorofil Değerleri	69
Şekil 4.12.	3. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko İle Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen İnhibisyon Değerleri	69
Şekil 4.13.	4. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BA Değerleri	73
Şekil 4.14.	4. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen BCF Değerleri	73

Şekil 4.15.	4. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen Klorofil Değerleri	74
Şekil 4.16.	4. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen İnhibisyon Yüzdeleri	74
Şekil 4.17.	5. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BA Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	80
Şekil 4.18.	5.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BCF Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	80
Şekil 4.19.	5.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	81
Şekil 4.20.	5.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen İnhibisyon Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	81
Şekil 4.21.	5. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BA Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	84
Şekil 4.22.	5.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BCF Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	84

Şekil 4.23.	5.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	85
Şekil 4.24.	5.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen İnhibisyon Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	85
Şekil 4.25.	5.Set 1 mg/L'lik Bakır Konsantrasyonunda <i>P. tricornutum</i> Organizmasının Toplam Aldığı, Adsorbe Ettiği ve Hücre İçine Aldığı Metal Miktarı	88
Şekil 4.26.	6. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucu Zamanla BA'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	91
Şekil 4.27.	6.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucu Zamanla BCF'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	91
Şekil 4.28.	6. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucu Zamanla Klorofilin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	92
Şekil 4.29.	6. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	92
Şekil 4.30.	6.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BA'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	95
Şekil 4.31.	6.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BCF'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	95

Şekil 4.32.	6. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla Klorofilin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	96
Şekil 4.33.	6. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Çinko Konsantrasyonuna karşı İnhibisyon Yüzdesi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	96
Şekil 4.34.	6. SET 0.25 mg/L'lik Çinko Konsantrasyonunda <i>D. tertiolecta</i> Organizmasının Toplam Aldığı Adsorbe Ettiği ve Hücre İçine Aldığı Metal Miktarı	99
Şekil 4.35.	7.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BA'nın Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	103
Şekil 4.36.	7.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BCF'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	103
Şekil 4.37.	7.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla Klorofil Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	104
Şekil 4.38.	7.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko Konsantrasyonuna Karşı Değişen İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	104
Şekil 4.39.	7. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BA'nın Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	107

Şekil 4.40.	7. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BCF'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	107
Şekil 4.41.	7.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla Klorofil Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	108
Şekil 4.42.	7.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko Konsantrasyonuna Karşı Değişen İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	108
Şekil 4.43.	7 SET 0,25 mg/L'lik Çinko Konsantrasyonunda <i>D. tertiolecta</i> Organizmasının Toplam Aldığı, Adsorbe Ettiği ve Hücre İçine Aldığı Metal Miktarı	111
Şekil 4.44.	8. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BA'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	115
Şekil 4.45.	8. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BCF 'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	115
Şekil 4.46.	8. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla Klorofilin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	116
Şekil 4.47.	8.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır Konsantrasyonuna Karşı Değişen İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	116

Şekil 4.48.	8. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BA'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	119
Şekil 4.49.	8. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BCF'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	119
Şekil 4.50.	8. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla Klorofilin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	120
Şekil 4.51.	8.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır Konsantrasyonuna Karşı Değişen İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	120
Şekil 4.52.	8. Set 0,25 mg/L'lik Bakır Konsantrasyonunda <i>P. tricornutum</i> Organizmasının Toplam Aldığı, Adsorbe Ettiği ve Hücre İçine Aldığı Metal Miktarı	123

TABLOLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Canlı İçin Gerekli Elementler	7
Tablo 3.1. Sentetik Deniz Suyu ve Kullanılan Kimyasalların Markası	38
Tablo 3.2. Kültür Ortamındaki (f/2) Nütrientlerin Konsantrasyonları ve Kullanılan Kimyasalların Markası	39
Tablo 3.3. Toksisite Testlerinde Uygulanan Test Koşulları	40
Tablo 3.4. Biyoakümümlasyon Deneyleri Takip Sırası	44
Tablo 3.5. AAS Ölçüm Koşulları ve Konsantrasyon Ölçüm Aralıkları	47
Tablo 4.1. 1. Set, Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri	54
Tablo 4.2. 1. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Değerleri	57
Tablo 4.3. 2. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri	61
Tablo 4.4. 2. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Değerleri	64
Tablo 4.5. 3. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri	67

Tablo 4.6.	3.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko İle Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Değerleri	70
Tablo 4.7.	4.Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri	72
Tablo 4.8.	4.Set Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri	75
Tablo 4.9.	5. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucu Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	79
Tablo 4.10.	5. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	82
Tablo 4.11.	5. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	83
Tablo 4.12.	5. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	86

Tablo 4.13.	5. SET Hücre İçine Alınan ve Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal Miktarları	87
Tablo 4.14.	6. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	90
Tablo 4.15.	6. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	93
Tablo 4.16.	6. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	94
Tablo 4.17.	6. SET Set Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Çinko Konsantrasyonuna Karşı İnhibisyon Yüzdesi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	97
Tablo 4.18.	6. SET Hücre İçine Alınan ve Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal Miktarları	98
Tablo 4.19.	7. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	102
Tablo 4.20.	7. Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko Konsantrasyonuna Karşı Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	105

Tablo 4.21.	7. SET Sentetik Deniz Suyunda <i>D. tertiolecta</i> 'nın Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	106
Tablo 4.22.	7. Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>D. tertiolecta</i> 'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko Konsantrasyonuna Karşı Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	109
Tablo 4.23.	7. SET Hücre İçine Alınan ve Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal Miktarları	110
Tablo 4.24.	8. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	114
Tablo 4.25.	8. Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır Konsantrasyonuna Karşı Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)	117
Tablo 4.26.	8. Set Sentetik Deniz Suyunda <i>P. tricornutum</i> 'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	118
Tablo 4.27.	8. Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında <i>P. tricornutum</i> 'un Düşük Konsantrasyonda Bakır Konsantrasyonuna Karşı Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)	121
Tablo 4.28.	8 . SET Hücre İçine Alınan ve Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal Miktarları	122

RESİMLER LİSTESİ

	Sayfa
Resim 2.1. Yeşil alg <i>D. tertiolecta</i> 'nın hücresel yapısı	27
Resim 2.2. Kahverengi Alg Diatom <i>P. tricornutum</i> 'un Hücresel Yapısı	29
Resim 3.1. İklim Odasında Yetiştirilen Alg Örnekleri-1	40
Resim 3.2. İklim Odasında Yetiştirilen Alg Örnekleri-2	41
Resim 3.3. Sıvı Besi Ortamında Üretilen Yeşil Alg <i>D. tertiolecta</i> ve Kahverengi Alg Diatom <i>P. tricornutum</i> 'un Stokları	41
Resim 3.4. Metal Sindirimi İşleminde Çeker Ocakta Yapılan Asit İlave İşlemi-1	46
Resim 3.5. Metal Sindirimi İşleminde Çeker Ocakta Yapılan Asit İlave İşlemi-2	46
Resim 3.6. Hot-Plate Üzerinde Metal Sindirimi Yapılmakta Olan Örnekler	47
Resim 4.1. Sağlıklı <i>D. tertiolecta</i> Hücreleri	60
Resim 4.2. Metale Maruz Kalmış <i>D. tertiolecta</i> Hücreleri	60
Resim 4.3. Sağlıklı <i>P. tricornutum</i> Hücreleri	66
Resim 4.4. Metale Maruz Kalmış <i>P. tricornutum</i> Hücreleri	66
Resim 4.5. Metal Öncesi ve Metal Maruziyeti Sonrası Kahverengi Alg <i>P. tricornutum</i> Organizmasının f/2 Besi Ortamındaki Üreme Durumu	78

1.GİRİŞ

Su ortamlarından göl, nehir, deniz ve okyanuslar insanlar tarafından uzun bir süredir görmezden gelinerek sınırsız kapasitedeki atık bölgeleri olarak görülmektedir. Endüstriyel atık sular, zirai kaynaklı sular ve evsel atık suların sahil sularına geniş ölçüde deşarjı dünyanın bir çok kesiminde giderek yaygınlaşmaktadır. Bunun sonucu olarak, sahil ve iç kesimlerdeki su ortamlarında kirlilik hızla artmaktadır.

Su ortamları, günümüzde atıkların çoğu için ideal bir deşarj yeri olarak kabul edilmiş, basit ve ucuz bir bertaraf seçeneği olarak geniş uygulama görmektedir. Gelişmiş ülkeler de dahil olmak üzere kabul edilen bu kavram, bütün zehirli kimyasal maddelerin biyolojik birikiminin ve bazı kirleticilerin su ortamlarında uzun süre kalması nedeniyle ekolojik zehirlenmenin artarak bugünkü vahim duruma gelmesine yol açmaktadır. Bu kirlenme suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini etkilemektedir. Akuatik kirliliği belirleyici bu özellikler izlenerek problemlerin çeşitli çözüm yollarına gidilmektedir. Bunun için kirleticilerin konsantrasyonları kimyasal olarak belirlenmektedir. Ancak bu yöntemler su ortamındaki potansiyel kirliliği belirlemede yetersiz kalmakta ve yapılacak izlemelerde yeni tekniklerin geliştirilmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

Günümüze kadar, su ortamındaki kirlilikleri izlemede geleneksel metotlar suyun kimyasal analizleri idi. Ancak bu veri su ortamında yaşayan biota üzerindeki kirleticilerin etkisini gösterememektedir (Webb ve Gagnon, 2002).

Bu nedenlerle son yıllarda yapılan çalışmalarla akuatik kirliliği belirlemede organizmalardan yararlanılmaktadır. Organizmalar onları çevreleyen ortam ile denge halinde yaşadığından bütünleştirici örnekleme aracı olarak düşünülebilir. Organizmalar, kirleticilerin organizma içi konsantrasyonları ve bunun sonucunda oluşan biyolojik etkiler arasındaki ilişkinin özelliklerinin anlaşılmasını sağlayabilirler.

Bu amaçla yapılan çalışmada sucul ortamların birincil üretici basamağında besin zinciri yolu ile diğer sucul canlıların besini olan ve bünyesine aldığı kirleticilerin besin zincirinde diğer organizmalara geçişini sağlayarak anahtar görevi gören deniz diatomlarından biri olan *Phaeodactylum tricornutum* ve yeşil alg *Dunaliella tertiolecta* kullanılmıştır. Alg örneklerinde esas metallerden bakır ve çinkonun kısa süreli akut toksisite testleri (ISO, 1995) uygulanarak metallerin biyoakümülyasyonları (BA),

biyokonsantrasyon faktörü (BCF) değerleri, organizma sayıları, klorofil içerikleri, inhibisyon yüzdeleri ölçülerek literatür değerleri ile kıyaslanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Bir doğal ekosistemde sürekli, dengeli bir madde ve enerji döngüsü vardır. Ekosistemi oluşturan canlı grupları birbirine besin zinciri ile bağlıdır. Aldıkları besinleri enerjiye dönüştürüp kullanır, bir kısmını da depolayıp besin zincirinin bir üst halkasındaki canlıya aktarırlar. Canlılardan herhangi birinin kirleticiler ile zarar görmesiyle, madde ve enerji döngüsündeki bu zincirler kırılmakta, canlılar arasında varolan karşılıklı etkileşim bozulmaktadır. İşte bütün insanlığın sorunlarından biri ve belki de en önemlisi doğal çevredeki dengenin yani organik ve inorganik çevre ile bu çevrede yaşayan organizmalar arasındaki uyumun bozulmaya başlamasıdır. Ekosistemde canlılar arasındaki dengeyi bozan bu kirleticileri organik ve inorganik kirleticiler olarak sınıflandırmak mümkündür.

Kirleticilerden organik kontaminantların aksine, inorganik kökenli olan ağır metaller konsantrasyon ya da toksisitelerini azaltan parçalanma işlemine uğramazlar. Bazı ağır metaller akuatik organizmalara direkt toksik olan çoğu deniz ve nehir organizması tarafından önemli seviyelerde birikirler. Bu birikim, hem sahil ortamındaki canlılar üzerinde metallerin muhtemel zararlı etkileri, hem de insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri açısından bir fikir verir (Serfor-Armah ve diğerleri, 2001). Günümüzde sahil bölgelerindeki endüstrileşme faaliyetleri deniz ortamlarına özellikle de ağır metal içeriği yüksek endüstriyel atık su deşarjlarını arttırmaktadır. Endüstriyel atık sular ve maden suyu drenajları yüksek oranda ağır metal içerirler. Deniz ortamına antropojenik kaynaklı metal girişleri sonucu metallerin su ortamındaki konsantrasyonları artmaktadır. Ağır metaller, diğer kirleticilerin aksine parçalanmaya dirençli olduklarından deniz ortamındaki ekosistem için tehdit oluşturmaktadırlar. Fitoplanktonların deniz suyundan kadminyum, bakır, çinko ve kurşun gibi ağır metalleri alıp biriktirebilme kabiliyetleri yüksektir (Torres ve diğerleri, 1998).

Su ortamlarındaki ağır metal kirliliği son yıllarda giderek artan bir öneme sahip olmuştur. Ağır metaller toprak ve kayaçların doğal bileşenleri olmalarına rağmen, doğal ve antropojenik kaynaklardan sürekli salınımları çevrede biyoakümülyasyonlara sebep olmaktadır. Tatlı su, tuzlu su ve karasal ekosistemlerde besin zincirinin ilk basamağındaki birincil üreticiler olarak yer alan bitki ve diğer organizmalar ağır

metalleri aldıkları besinlerden ekstrakte ederek bünyelerinde konsantre ederler. Bu olay metallerin konsantrasyonlarının çevresel açıdan izin verilebilir seviyelerin üstüne çıkmasına neden olur (Nellessen ve Fletcher, 1983).

262 farklı toksik kimyasal arasından, ağır metal olarak tanımlanan 2.6×10^9 kg'ının %11'inin çevreye direkt olarak yayıldığı tahmin edilmektedir. Çinko, bakır, mangan ve krom metalleri başlıca 25 kimyasal kirletici arasında sıralanmaktadır ve her yıl 20×10^6 kg'dan daha fazlası çevreye salınmaktadır. Diğer metal ve bileşikler alüminyum, antimon, arsenik, baryum, kadminyum, kobalt, molibden, kurşun, nikel ve titanyum ise 500×10^6 kg'ın üzerindeki miktarlarda salınmaktadır (Nellessen ve Fletcher, 1983).

Geçmişte, biyotadaki ağır metal konsantrasyonunun esas ölçüm amacı, yenilebilir canlılardaki aşırı ağır metal yüklemelerinin sindirim yoluyla geçmesi ile insanların maruz kaldığı toksikolojik tehditleri belirlemektir. İnsanlara direkt etkisi olan diğer ağır metallerden örneğin yenilebilir ürünler yoluyla geçebilen topraktaki ağır metallerin birikimi ve sucul ortamlardaki balık stoklarını etkileyen ağır metal kirliliklerini kapsamaktaydı. Bu konuların hem tıbbi hem de ekonomik açıdan geçerli olmasına karşın, günümüzde popülasyondaki bireyler üzerinde ve ekosistem üzerindeki ağır metallerin toplu etkileri araştırılmaktadır.

2.1. METAL KAYNAKLARI

2.1.1. Doğal Kökenli Kaynaklar

Metal bileşikler, çeşitli mineraller şeklinde ve çoğu toprakta olmak üzere geniş bir alana yayılmışlardır. Aynı zamanda göllerde, nehirlerde, körfez ve okyanuslarda, bunların sedimentlerinde de benzer tarzda bulunmaktadır.

Metaller ve bileşikler yerkabuğunda değişik konsantrasyonlarda bulunurlar. Örneğin yer kabuğunda yüksek oranda bulunan elementler oksijen, silisyum, demir, kalsiyum, sodyum, potasyum, magnezyum, titan, hidrojen, fosfor ve mangandır. Yerkabuğunda miktarı binde birden az olan metaller ise “eser metaller” denir. Eser metaller çevre kirlenmesi bakımından yüksek konsantrasyonlu metallerle oranla çok daha tehlikelidirler. Eser oranda bulunan elementler ise baryum, vanadyum, nikel, çinko, bakır, kurşun, berilyum, uranyum, kalay, kadminyum, civa, gümüş ve altındır.

Tabii minerallerdeki metaller normal olarak çözünmeyen bileşikler olup canlı organizmalara zararsızdırlar. Buna karşılık bunların çözünen türevleri, bazen çok şiddetli olmak üzere, genellikle organizmalar için toksiktirler. Ağır metallerin çevrede özellikle biyosferde geniş bir yayılma göstermelerine karşılık zararlı formdaki konsantrasyonları nadiren önemli boyutlara ulaşır.

Kadmiyum, kurşun ve civa bu nadir durumlardan birkaçı olup dikkatleri üzerine çekmiş ve bir bütün olarak planlanmış çevre araştırması sistemi içinde öncelik verilmiş kirleticilerdendir (Kamalı Uğur, 1999).

2.1.2. Antropojenik (İnsan Kökenli) Kaynaklar

Kirleticiler, genelde iki ana kaynaktan gelirler. Noktasal deşarjlar, atık su deşarjları, endüstriyel kaynaklardan gelen atık sular, tehlikeli atık bertaraf bölgeleri ve kaza sonucu sızmalar. Noktasal deşarjlarda salınan materyallerin tiplerini karakterize etmek genelde kolaydır. Aksine noktasal olmayan deşarjlar, zirai alanlardan gelen ilaçlar, kontamine olmuş topraklar ve akuatik sedimentlerden, atmosferik birikimlerden ve yerleşim alanlarından gelen sızıntı kaçaklarından kaynaklanır. Noktasal olmayan kaynakları karakterize etmek daha zordur. Çoğu durumda noktasal olmayan kaynaklardan gelen deşarjlar kompleks karışımlardır. Toksik maddelerin miktarını, deşarjların miktarını ve zamanlamasını tahmin etmek zordur. Noktasal olmayan deşarjlardaki en zor görüşlerden biri bileşenlerin toksikolojik karakterlerini değiştirebilmesidir (Landis ve Ho Yu, 1999).

Su ortamına yapılan nehir deşarjları, daha önceden nehre deşarj edilmiş endüstriyel deşarjlar, yağmurlarla oluşan yüzeysel deşarjlar..vs yoluyla su ortamları kontamine olur. Yağmurların yoğun olduğu zamanlarda yüzeysel drenajlar ile biota-sediment ve su Cu, Cd, Pb, Hg gibi ağır metaller ile, PAH, fosfor ve organoklor ile kontamine olma potansiyeline sahiptir. Kontaminasyon sonucunda doğal ortamların bulundukları kalite sınıfı düşmektedir. Ayrıca su ortamında tekne-yat gezi faaliyetleri de var ise benzin ve fuel akıntıları da su ortamını kontamine ederek kalite sınıflarını düşürmektedir (Webb ve Gagnon, 2002; Marsden ve DeWreede, 2000).

Fe, Cu, Zn, Pb, Hg ve Cd gibi metaller, evsel atıklar, metal üretimi yapan endüstriyel tesislerden, deri fabrikalarından, krom kaplama, gübre fabrikalarından ve petrol rafinerilerinden kaynaklanır (Haritonids ve Malea, 1998). Antropojenik kaynaklardan en çok, arıtılmamış maden suyu drenajları, eritme işlemleri, çelik,

çimento, plastik, boya, tekstil, elektro kaplama tesislerinin çıkış suları ve yine yağ tankerlerinden atıkların deşarjı gibi faaliyetler de alıcı ortamları kirleten başlıca kaynaklardır (Serfor-Armah ve diğerleri, 2001).

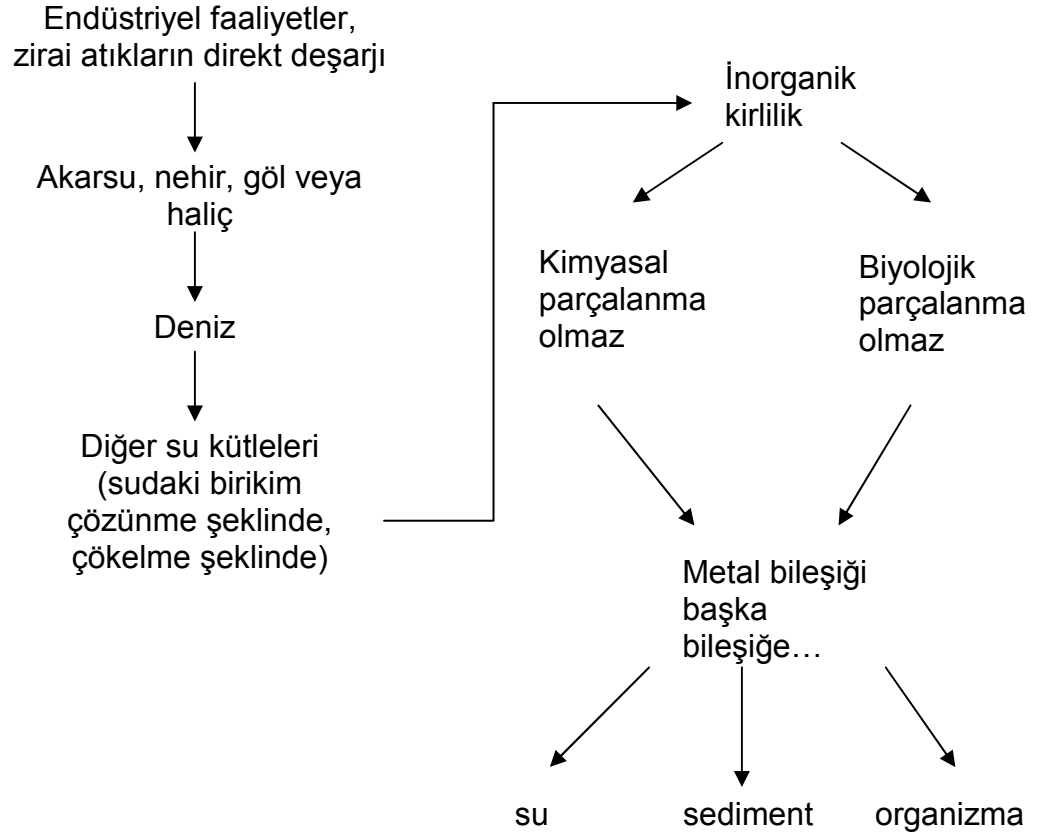
2.1.3. Metalin Su Ortamındaki Davranışı, Hareketi

Nüfusun çoğalması ve sanayinin hızla gelişmesi kullanılan su ve oluşan atık miktarında büyük bir artış meydana getirmiştir. Üretim faaliyetlerinin gelişmesi atık madde sorununu da beraberinde getirmiş, başlangıçta tabiatın özümleme kapasitesi atıkların bertarafını sağlamışsa da, alınan önlemlerin yetersizliği ile günümüzde ciddi çevre problemleri ile karşılaşilmektedir. Endüstri sektörünün hızla ilerlemesi, oluşan atık miktarı ve türünün giderek artması toprak, hava ve su ortamlarının kirlenmesine sebep olmaktadır.

Endüstriyel faaliyetler sonucunda oluşan atık sularda bazen eser miktarlarda bazen de yüksek miktarlarda metaller bulunabilir. Bu metaller deşarjın yapıldığı noktadan itibaren akarsu, nehir, göl ve haliçlerden deniz ve okyanuslara kadar ulaşabilirler. Deniz ortamına giren kirletici maddelerin çoğu karasal kaynaklıdır. Bunlar karadan denizlere; akarsular, yağmur ve kıyı bölgelerdeki atıklar ile taşınır. Metal kirlenmesi iletim, rüzgar ve sularla bir yerden başka bir yere sürüklenirler. Bu şekilde bir dağılmanın yararlı yönleri yanında konsantrasyon azalımı gibi zararlı yönleri de vardır. Böylelikle hiç kirlenmemiş bölgelere kirlilik taşınabilir.

Tabii şartlar altında denizlerdeki ağır metallerin en önemli kaynağı olarak nehirler görülmektedir. Genel olarak nehirlerle taşınan ağır metallerin büyük bir kısmı çözülmüş halde değil parçacıklar halinde taşınmaktadır. Parçacık halindeki nehir yükünün sadece bir bölümü denizlere ulaşır. Çünkü akarsuyun hızı azaldıkça çökelme meydana gelir ve körfezlerde tuzlu su ile tatlı su karıştığı zaman çeşitli fiziko-kimyasal değişimler olur.

Sonuçta metal kirliliğinin çoğu sularda birikir. Sulardaki birikim, çözünme şeklinde olabileceği gibi, çözünmeden suların dibinde çökelme şeklinde de olabilir. Metal kirlenmesi, organik kirlenmeler gibi kimyasal ve biyolojik yollarla parçalanmazlar, bir metal bileşiği başka bir bileşiğe dönüşür. Dönüşme ne olursa olsun metal iyonunun konsantrasyonu değişmez (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Metalin Su Ortamında İzlediği Yol (Rainbow, 1995)

Su ortamları tek başına su kütlelerinden ibaret olmayıp, bünyesinde bir çok hayvan ve bitki kökenli yüzen veya dipteki sediment tabakasında yaşayan organizma grupları ihtiva etmektedir. Kirleticiler sadece suda çözünmekle kalmayıp, ortam şartlarına göre organizmaya geçmekte, besin zincirinde birikmekte veya dibe çökmektedirler. Dolayısıyla bir kirletici sadece suda değil, aynı zamanda o su ortamında bulunan tüm canlıların yapısında bulunmaktadır (Rainbow, 1995; Haritonids ve Malea, 1998). Su ortamındaki kirlilikleri belirlemede çoğunlukla suyun kimyasal analizleri kullanılmaktadır. Ancak bu ölçümler tek başına yeterli olmamakta, tamamlayıcı diğer analizlerin de yapılmasını gerekli kılmaktadır.

Su ortamlarının kalitesini izlemede biyolojik türlerin kullanımı; kirleticilerin bu ortamda yaşayan organizmalara etkilerini bu kirleticilerin ekosistemdeki kirlilik seviyelerinin biyolojik açıdan değerlendirilmesini sağlar (Campanella ve diğerleri, 2001; Lynngby, 1987).

Ağır metallerin pek çoğu sucul organizmaların dokularında oldukça yüksek konsantrasyonlarda birikirler. Birikmiş bu konsantrasyonlar kolaylıkla ölçülebilir,

herhangi bir bozunmaya uğramazlar ve analiz edilen türlere göre haftalar, aylar ve hatta yıllar boyunca metal ölçümünde zamana dayalı (mevsimsel) bir ölçüm sağlarlar. Günümüzde nehir ya da sahil sularındaki ağır metalin biyolojik olarak kullanılan konsantrasyonlarını belirlemek, coğrafik ve/veya değişken varyasyonları oluşturmak amacıyla organizmalar geniş çapta kullanılmaktadırlar (Rainbow, 1995).

2.2. Metallerin Organizmadaki İşlevleri

Yüksek konsantrasyonda bulunan elementler, organizmalarda çözeltileri halinde bulunurlar ve hücreler arasındaki elektro nötralliği sağlarlar. Eser ağır metaller ise canlı yapısında eser oranda bulunurlar ama görevleri çok önemlidir. Bunlardan bazıları proteinlerin bazıları da enzimlerin içinde bulunurlar. Canlılar için gerekli elementler Tablo 2.1.'de görülmektedir (Gündüz, 1994b).

Tablo 2.1. Canlı İçin Gerekli Elementler (Gündüz, 1994b)

Element	Fonksiyon
Yüksek Konsantrasyon	
Sodyum	Başlıca hücre dışı katyonu
Potasyum	Başlıca hücre dışı katyonu
Kalsiyum	Kemiklerin başlıca elementi olup bazı enzimler için gereklidir
Magnezyum	Birçok enzimi aktiveştir. Klorofilde bulunur. Bitkiler için çok gereklidir
Ağır ve Eser	
Bakır	Oksitleyici enzimler için gerekli ve hemosiyaninde bulunur
Çinko	Birçok enzimi aktive eder
Demir	Canlı için gereken en önemli geçiş elementi, Hemoglobin ve enzimlerde bulunur
Kalay	Sıçanlar için gereklidir ancak fonksiyonu bilinmemektedir
Kobalt	Birçok enzimi aktive eder ve vitamin 12 de bulunur
Krom	Gelişmiş hayvanlarda bulunur ve ensülini aktive eder
Mangan	Bazı enzimleri aktive eder
Molibden	Bazı enzimleri aktive eder
Vanadyum	İlkel bitkilerde, deniz hayvanlarında ve insanlarda bulunur

İnsanlar ağır metalleri su, hava ve yiyecek zinciri yoluyla alırlar. Sudaki ağır metallerin miktarları suyun kullanılma alanlarının yaygın olması nedeni ile çok önemlidir. Bitkiler, hayvanlar ve su ürünleri ağır metali depo ederler. Böylece insanlar bütün yiyecek ve içecekleri ile beraber belirli miktarlarda metalleri de alırlar.

Özellikle toksik organik atıkların metallerle birleşerek veya başka bileşiklere dönüşerek daha toksik hale geçmeleri önemli sorunlar yaratmaktadır. Metallerin toksik etkileri:

- Kimyasalın özelliklerine,
- Organizmaya giriş yollarına,
- Alıcı organizmanın yaş ve gelişim durumuna,
- Organizmaya giren miktarına,
- Süresine bağlı olarak değişmektedir (Gündüz, 1994b).

Organizmanın ihtiyacı olan besinler arasında olan metaller organik moleküllerle ve daha çok proteinlerle birlikte fonksiyon gösterirler. Oksijen taşıyan hemoglobin, hemosiyanin ve enzimlerin çoğu böyle metaloproteinlerdendir.

Enzimlerin çoğu spesifik metallerin bulunmaması halinde katalitik aktivitelerini yapamazlar. Bazı ağır metaller, uygun konsantrasyonlarda enzim aktiviteleri için gerekli olmasına karşılık, doğal konsantrasyonlar aşıldığında enzim aktivitelerini inhibe ederler. Ag, Hg, Cu, ve Pb gibi metaller özellikle toksiktirler, enzim aktivitelerini durdururlar.

Ağır metaller sucul ortamlarda en sık karşılaşılan kirleticilerdendir. Biyolojik bakış açısından bakıldığında ağır metalleri esas olan ve olmayan şeklinde iki kategoride toplamak mümkündür. Ancak yüksek konsantrasyondaki esas metaller de toksik olmaktadır. Metallerin pek çoğu çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal prosesler üzerinde direkt etkiye sahiptir. Ağır metallerin fotosentetik fonksiyonların çoğunu olumsuz yönde etkilediği saptanmıştır. Bakır, çeşitli algler, siyanobakteriler ve diğer organizmaların enzim aktiviteleri, metabolizmaları ve büyümeleri için esas mikro besin tuzudur (Cid ve diğerleri, 1995).

Yüksek seviyede ağır metaller, deniz fitoplanktonlarına toksik olabilmektedirler. Toleransları hayatta kalmaları için en önemli mekanizmalarından biri olduğundan, pek çok organizma metallere bağlanma özelliğine sahip peptid ya da proteinler sentezleyerek ağır metallerin sitotoksikolojik etkilerine karşı cevap verirler. Alglerde çoğunlukla sentezlenen baskın sınıf III- metallothioneinlerdir. Bu moleküller ağır

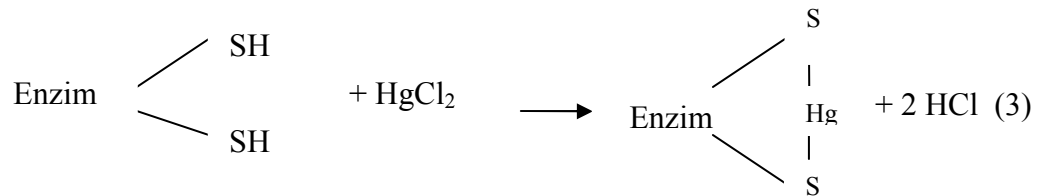
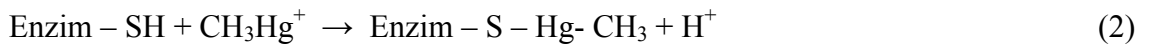
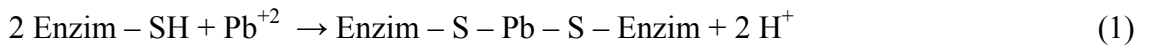
metaller ile çok sayıda bağ yaparak ve bu sayede de hücre içi serbest metal konsantrasyonunu düşürerek metal toksisitesini azaltabilirler (Torres ve diğerleri, 1997).

Çoğu ağır metal, düşük konsantrasyonlarda yaşayan organizmalar için esas elementlerdir, fakat yüksek dozları besin zincirinin farklı seviyelerine ait diğer organizmalarda daha yüksek dozlara ulaşabildiğinden toksik olabilmektedirler. Deniz suundaki mikroalgler birincil üretici olduklarından, ağır metaller bu organizmaların ortamdaki esas besin tuzu alımlarını ve/veya hücre içi taşınımını bozup enzimlerini inaktive ederek direkt etkilerler. Bakır metali ise akuatik biotada özellikle de fitoplanktonlara toksik etki yapmaktadır. Yeşil alg ve diatomlar ise deniz suyu toksisite testlerinde en yaygın kullanılan organizma gruplarındandır. *Phaeodactylum tricornutum* ve *Dunaliella tertiolecta* deniz suyu toksisite testleri için yaygın kullanılan standart organizma grubu olarak bazı çalışmalarda önerilmektedir (Tolun ve diğerleri, 2001; Gonzales-Davila ve diğerleri, 2000; Moreno Garrido ve diğerleri, 2000).

Metal toksisitesi ile ilgili iki mekanizma mevcuttur:

1. Enzimin aktif bölgesinde yararlı olan metal, toksik metal ile yer değiştirir.
2. Toksik metal moleküle bağlanır ve metalik katyonun değişmesi enzimin aktivitesini değiştirir.

Bir kirlenici enzimin aktif bölgesi ile birleşebilir, bunun sonucunda enzim inaktive olur. Örneğin civa, kurşun, kadmilyum gibi bir ağır metal sülfür atomu ile kovalent bağ oluşturan enzim molekülü üzerindeki SH ya da tiol grubuna kendiliğinden bağlanabilir. Eğer SH grubu enzimin aktif bölgesinde olursa, bu durum enzimin inaktivasyonuna sebep olmaktadır. Örnek olarak kurşunun, metil civanın ve civa klorürün bir enzimi inaktive etme basamakları verilirse;



.....(Landis, 2000).

Bazı ağır metaller nörofizyolojik etkiler yarattıklarından daha toksiktirler. Bu etkiler endokrinolojik ve teratojenik hastalıklar, kanserojenik ve mutajenik etkilerdir. Metallerin toksik etkileri metalden metale organizma içinde değişiklik gösterir. Sonuçta

gerekli olsun veya olmasın ağır metallerin çoğu canlı organizmalar için toksik potansiyele sahiptir (Tolun ve diğerleri,2001; Gündüz, 1994b).

2.3. Metallerin Canlıdaki Birikim Şekilleri

Tüm sucul omurgasızlar, metabolizmaları için esas olsun ya da olmasın, metalleri dokularında, organlarında farklı omurgasızlar da, ağır metalleri bünyelerinde farklı konsantrasyonlarda biriktirirler. Aynı sucul habitatta yaşayan ve hatta aynı cinsten olan yakın türler bile iz metalleri bünyelerinde çok farklı konsantrasyonlarda depolarlar. Belli bir türde anormal derecede yüksek olan ağır metal konsantrasyonu, başka bir tür için düşük olabilir. Örneğin istiridyede düşük olan çinko konsantrasyonu bir midye türünde yüksek olabilir. Phillips Rainbow, doğal ve metal ile kontamine olmuş bölgelerden topladığı *crustacean* türlerinde birim kuru ağırlık başına Zn, Cu ve Cd ‘un konsantrasyonlarını belirlemiştir. Buna göre bölgelere, organizmaya ve metallerin çeşidine göre organizmalarda biriken metal miktarlarında farklılıklar gözlemlenmiştir. Her organizmanın metali kullanımında farklı metabolik amaçlar söz konusu olduğundan metalin kullanılan, atılan ve biriken miktarları farklı çıkmıştır. Ayrıca esas metal olan Zn ve Cu’ın biriken miktarları, esas olmayan Cd metal miktarından daha fazladır. Örneğin *Balanus Amphitrite* için bu değerler; Zn: 9353 µg/g kuru ağırlık, Cu: 3472 µg/g kuru ağırlık, Cd: 7.3 µg/g kuru ağırlık’tır (Rainbow, 2002).

Ağır metalin, metabolik amaç ile kullanımı, vücuttan atılımı ya da depolanması, omurgasız canlının fiziksel özelliklerine bağlıdır (Rainbow, 2002). Bununla birlikte metalin alımı ya da biyoakümüasyonu organizma ile çevresindeki ara yüzeyde oluşan prosesler tarafından belirlenir. Bunlar;

- a) Organizma kesitinin özellikleri,
- b) Her bir metalin biyolojik arakesitle reaktivitesi,
- c) Diğer metallerin varlığı ya da metal alımını uyaracak ya da zıt yönde etkileyebilecek ana katyonlar,
- d) Biyolojik ya da kimyasal reaksiyonların hızını etkileyen sıcaklık gibi faktörler,
- e) Ayrıca biyodokulara taşınan metal miktarı organizmanın fiziksel durumuna ya da biyolojik faktörlere bağlıdır (Luoma, 1983).

Bir ağır metal kendisine benzerlik gösteren herhangi bir moleküle bağlanma eğilimindedir. Hücreler içerisindeki iz metaller, sülfür ve azota benzerlik gösterdiğinden

çoğu sülfür ve azot içerikli aminoasitlerden yapılmış proteinlere bağlanma potansiyeli gösterirler. Bu tür benzerlikler potansiyelde toksik olan tüm iz metalleri proteinlere ya da diğer moleküllere bağlar ve onların normal metabolik aktivitelerini önler. Ağır metallerin vücuttan dışarı atılana kadar kendisine yüksek oranda benzeyen dokudan uzaklaşması imkansız olan moleküler bağlı olanları “metabolik açıdan kullanılan” metallerdir. Bu ağır metal toksik değildir. Detoksifikasyon metallohioneinler ya da çözünmeyen metaliferus granülleri gibi proteinlere bağlı olmayı gerektirirler (Rainbow, 2002). Organizmalar, yüksek metal konsantrasyonuna maruz kaldıklarında metallohionein üretimlerini arttırırlar. Metallothionein yüksek sayıda polipeptid içeren uzun zincirli bir proteindir. Sahip olduğu polipeptidler ile metali bağlayarak metabolizmadaki toksisitesini azaltırlar (Torres ve diğerleri, 1997). Ayrıca fotosentetik organizmalar yüksek pH değerlerinde hücrelerin etrafında bölgesel bir zon oluştururlar. bazı alg türleri de ortamda metalin varlığı söz konusu olduğunda, phytochelatin (sekonder metabolit) gibi toksisiteyi azaltan kompleks yapıcı maddeler üretebilirler (Moreno Garrido ve diğerleri, 2000).

Çoğu ağır metal, metabolizmada esas rol oynadıklarından hemen atılmaz ya da detoksifiye olmaz. Örneğin çinko karbonik anhidratları içeren çoğu enzimde anahtar bileşendir. Bakır da bazı kabuklu canlılarda, ahtapotlarda ve bazı midyelerde bulunan hemosiyanin proteini, solunum için gereklidir. Bu yüzden belli miktarlarda metal, metabolizmanın ihtiyacını karşılamaktadır. Bu ihtiyacın teorik olarak tahminini yapmak mümkündür. Ancak metabolizmada kullanılmayan, potansiyel formdaki (birikme eğiliminde) metal toksik olur ve sonuçta toksikliğin azaltılması ya da metalin vücuttan atılması gerekir. Bünye için gerekli olmayan kadminyum, kurşun, civa gibi metaller minimum konsantrasyonda dahi canlıya gerekli değildir, metabolizmadan detoksifiye olmalıdırlar (Rainbow, 2002).

Su ortamında bir metal değil, birden fazla metal vardır ve metallerin sudaki formları metal-ligand kompleksleridir. Bu sebeple bir organizma tek bir metal varlığına asla maruz kalmaz, her bir metalin çeşitli fiziko-kimyasal formlarına maruz kalır. Maruziyet hem besin (partiküler form), hem de solüsyon (suda çözünmüş form)’dan kaynaklanır (Luoma, 1983). Her akuatik omurgasız, metali yaşadıkları ortamdan (suda iyon halinde), ya da besinlerden alırlar. İz metal bünyeye girdikten sonra,

- esas metabolik amaçlar için kullanılır,
- vücutta depo edilebilir,
- atılır,

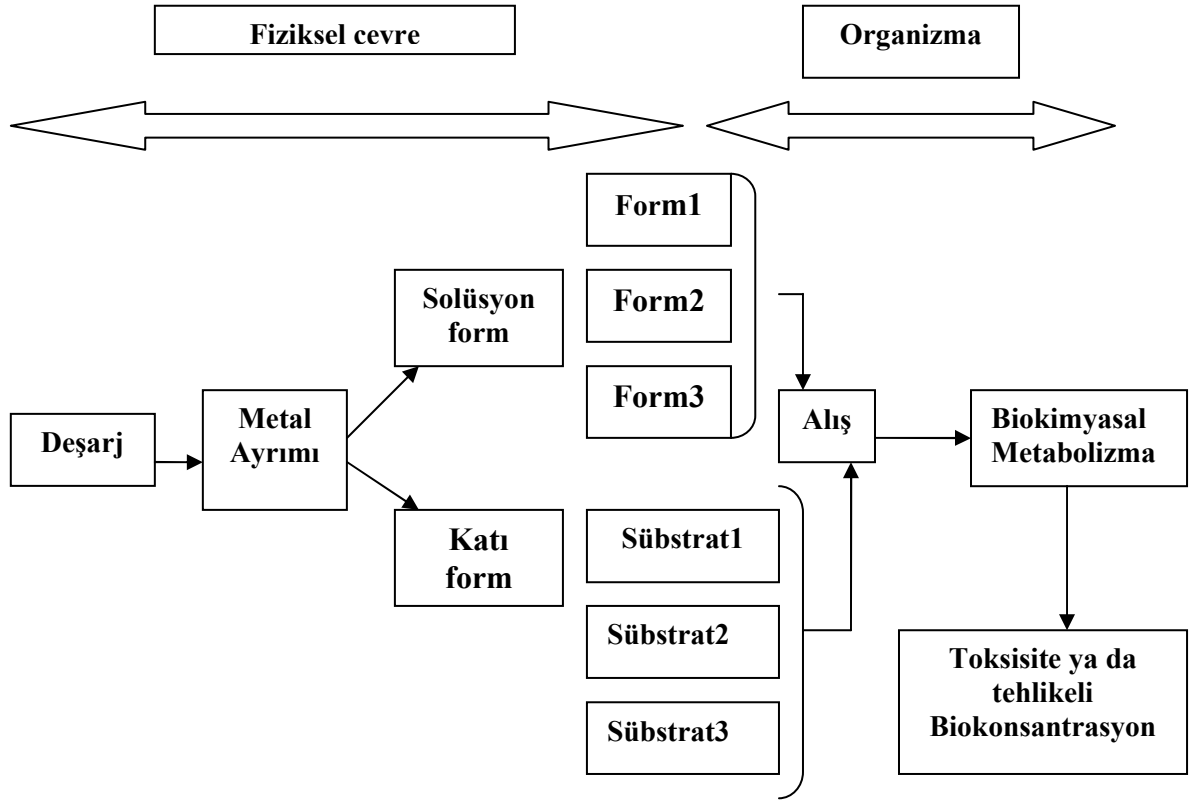
- iz metal, kendisine benzeyen herhangi bir moleküle bağlanma potansiyeli gösterebilir,
- ya da yanlış biyomolekül olarak faaliyet yapar ki bu da toksik etkiye sebep olur (Rainbow, 2002).

Organizmanın metali alımında ve kullanımındaki prosesleri bir şema halinde gösterebiliriz. Buna göre organizma su ortamındaki metali ya çözünmüş halde solüsyondan ya da metali daha önceden bünyesine almış başka bir organizmanın besin olarak tüketilmesiyle alır. Alınan metal organizmada kullanım, atım şeklindeki bir dizi biyokimyasal işlemlerden geçer. Ancak metalin arta kalan kullanılmayan kısmı ise organizmaya ya anında toksik etki yapabilir ya da canlının bünyesinde birikerek potansiyel toksik etki oluşturur (Şekil 2.2.) (Luoma, 1983).

Organizma bulunduğu ortam ile sürekli etkileşim halindedir. Organizmaya giren, çıkan ve canlı tarafından kullanılan metal miktarı arasında sürekli bir etkileşim vardır. İstenilen, bu etkileşim sonucunda dengeye ulaşmaktır. Metal alımında Luoma'ya göre 2 varsayım mevcuttur:

1. Metal konsantrasyonu organizmada asla durgun seviyeye ulaşmaz (örneğin, yaşam süresi boyunca metal alımı devam eder).
2. Nihai biyobirikim seviyesi yalnızca taşınım hızının bir fonksiyonu değildir.

Organizmanın yaşam süresi boyunca net metal birikimi, organizmanın boyutu ve canlıdaki metal konsantrasyonu arasındaki pozitif bir korelasyon olduğunu kanıtlamaktadır. Biyobirikim, dokular içerisindeki proteinlere bağlı metalin sentezi ile belirlenebilir (Luoma, 1983).



Şekil 2.2. Metalin Organizmaya Alımı ve Kullanımını Etkileyen Prosesler (Luoma, 1983)

Akuatik omurgasızlardaki birikmiş iz metal konsantrasyonunu iki kategoride toplayabiliriz.

Birincisi; metabolizmada elverişli form (canlı tarafından kullanılan),

İkincisi; detoksikleşmiş metal (metabolizma için esas rolü olmayan vücuttan atılacak form).

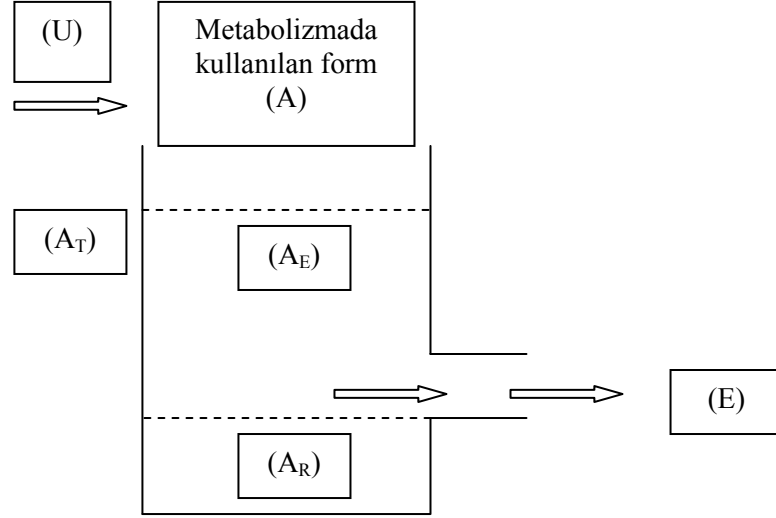
Bu kategorizasyon yani metalin izleyeceği yolun modellenmesinde kolaylık sağlar. Detoksif metal kategorisindeki metal, granül ve/veya metallothionein (metali kendine bağlayan uzun zincirli bir protein) ile birleşerek uzun zincirli, halkalı kimyasal formları oluşturabilir. Yine de ters yöndeki kimyasal reaksiyonların olması ile detoksif bileşiklerin oluşumu ihmal edilebilir. İkinci kategorideki detoksifiye sınıfında olan metal miktarı için teorik bir limit yoktur. Bu miktar eşik konsantrasyonunu aştığında, ilk olarak sublethal (ölüm öncesi eşik konsantrasyon) ancak sonunda öldürücü etkiye sebep olur.

Birikmiş metalden metabolizmanın kullandığı kısım ve detoksifiye (atılacak kısım) formu olarak depolanan metalin eşik konsantrasyonu arasında bir bağlantı

bulunmaz. Toplam birikmiş metal konsantrasyonu (metabolizma için uygun) ve toksik etkiye başlama konsantrasyonu arasında da ilişki kurmaya gerek yoktur. Vücuda girecek metalin giriş hızı, vücuttan atılma hızını geçtiğinde, metal metabolizma için toksik etki oluşturur. Akuatik omurgasızlardaki toplam metal konsantrasyonu, omurgasız tarafından bu metalin daha önceden vücuda girmiş ve birikmiş olmasına bağlıdır. Metabolizma tarafından metalin vücuttan atılma hızı, giriş hızından az ise, vücuttaki detoksifiye metal konsantrasyonu (toplam birikmiş metal kons.) belli bir değere kadar artar. Ağır metalin bölgesel biyokullanılabilirliğindeki herhangi bir artış, çözünmüş formda ya da beslenme yoluyla vücuda giren metalin giriş hızının artmasına sebep olur. Eğer ki giriş hızı maksimum kombine atılma hızını aşarsa, metabolik açıdan uygun (canlı tarafından kullanılabilir) vücut konsantrasyonu artarak eşik konsantrasyonuna ulaşır ki bu konsantrasyon, canlıya toksik etki yaparak ölümüne sebep olur (Rainbow, 2002; Schlacher-Hoenlinger ve Schlacher, 1998).

2.3.1. Birikim Örnekleri

Littoral zonda yaşayan *Palaemon elegans* kabuklusunda esas metallerden çinko (Zn) kullanılmıştır. Canlı çinkoyu yaşadığı solüsyondan alır. Çinkonun, ilk olarak vücuda girdiğinde artan bir hızda giriş yapmasına rağmen, *Palaemon elegegans* canlısının vücudundaki metal konsantrasyonu, o metal için eşik konsantrasyonuna ulaşana dek, herhangi bir değişiklik göstermez. Yeni çinko vücuda önemli miktarlarda girerken, aynı zamanda bu giren miktara eş değer çinko vücuttan atılır (Rainbow, 2002). Solüsyondan çinkonun alınış hızı, metabolizmadan atılma hızını aşarsa, çinkonun vücut konsantrasyonu 75-90 $\mu\text{g Zn / g}$ kuru ağırlık arasındaki değerleri aşar. Vücuttaki çinko konsantrasyonu yaklaşık iki katına çıkar ki bu ölümcül etki yaratır. Bu kabuklu canlıdaki tüm birikmiş çinko konsantrasyonunun metabolik açıdan elverişli olduğunu (gerektiğinde organizma tarafından kullanılabilir) ve de potansiyel açıdan toksik olduğunu göstermektedir (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Akuatik Omurgasızda Ağır Metal Birikim Dokusu (Rainbow, 2002).

U : Organizmaya giren metali temsil eder.

E :Organizmadan atılan metali temsil eder.

A_T :Metabolizma için elverişli olan tüm formların toplam değeri olan eşik konsantrasyonunu temsil eder.

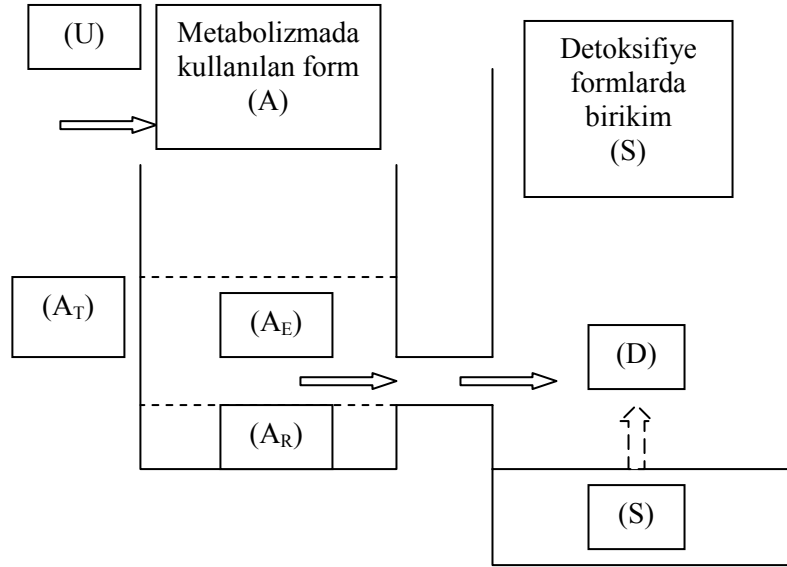
A_R : Metabolizmanın faaliyeti için esas gerekli olan metal miktarını temsil eder.

A_E : İhtiyaçtan fazlası metalin atılan kısmını temsil eder.

Bu verilere göre canlının çinkoya duyduğu ihtiyaç teorik olarak tahmin edilebilir. Çinko içeren enzimlerin sayısı, metabolik açıdan aktif dokunun toplam enzim içeriği..vs. teorik olarak hesaplanmış ve dokuda enzim için gerekli olan çinko ihtiyacı 34.5 mikro g Zn/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur (Rainbow, 2002).

2.3.2. Atılma Olmaksızın Birikim

Metalin kullanılmadan artan (A_E) kısmı, metalin atılması gerçekleşmeksizin toksik formlarda depolanır. Şekil 2.4., barnacle'ların Zn birikimini göstermektedir. *Barnacle*'lar çinkonun tümünü solüsyonda biriktirirler, vücut dokularında sayısız Zn-pirofosfat granülü olarak depolarlar. Bu granüller dışarı atılmaz ve metabolizmadaki Zn konsantrasyonu bu sebeple yüksek seviyelere (örneğin 100000 $\mu\text{gZn} / \text{g}$ kuru ağırlık) ulaşabilir.



Şekil 2.4. Metabolizmadan Herhangi Bir Atım Olmaksızın Esas Metalin Depolanarak Birikmesi (Rainbow, 2002).

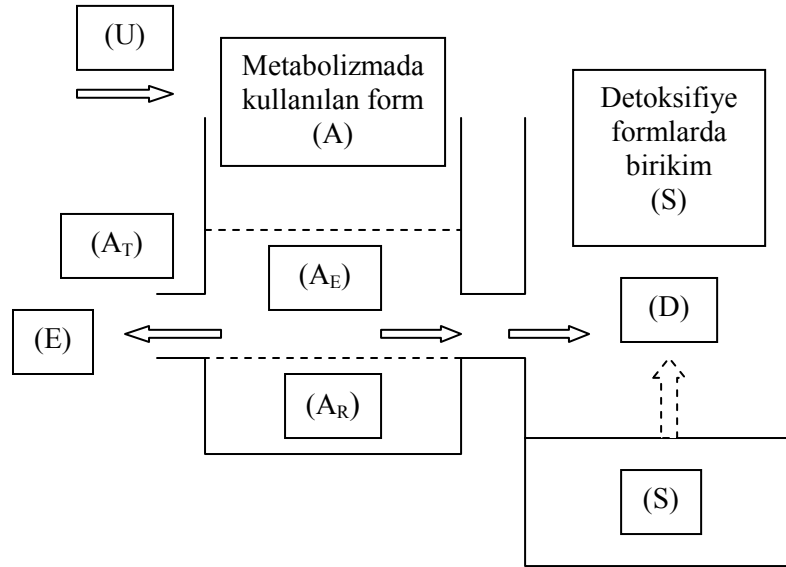
D: Detoksifiye Form (depolanan formlar içerisinde atılacak olan form)

S :Store (depolanan/tamamiyle toksik form)

Diğer birikim örnekleri de kısaca özetlenirse;

2.3.3. Bir Miktar Atılma ile Birlikte Birikim

Diğer birikim şekillerine benzemekle beraber, farklı olarak metabolizma tarafından kullanılan kısımdan atılma olmaktadır (Şekil 2.5.).



Şekil 2.5. Metabolizma Tarafından Kullanılan Kısımdan Atılma (Rainbow, 2002)

U: Organizmaya giren metal miktarını temsil eder.

E: Organizmadan atılan metal miktarını temsil eder.

A_T : Metabolizma için elverişli olan tüm formların toplam değeri olan eşik konsantrasyonunu temsil eder.

A_R : Metabolizmanın faaliyeti için esas gerekli olan metal miktarını temsil eder.

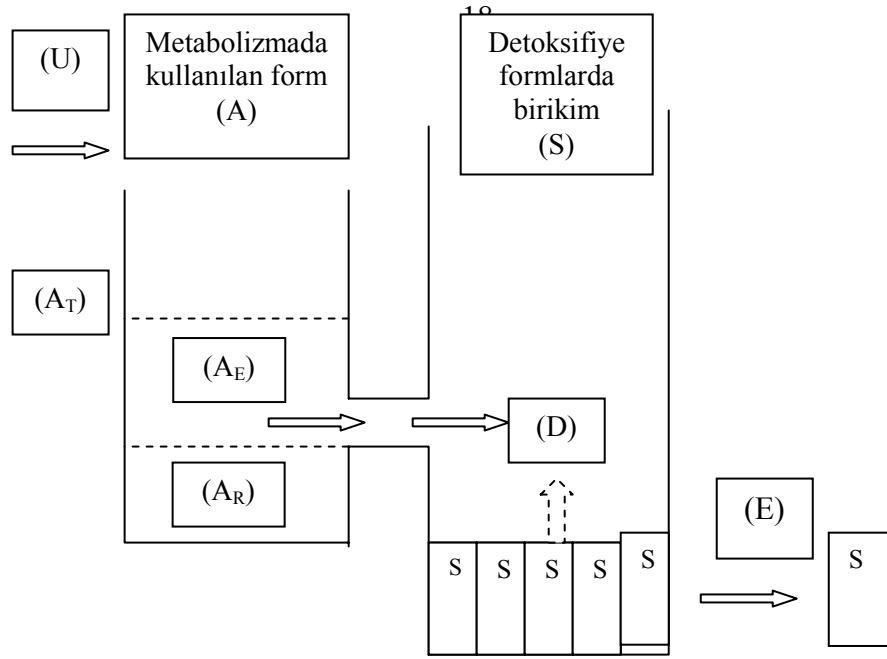
A_E : İhtiyaçtan fazlası metalin atılan kısmını temsil eder.

D : Detoksifiye olan (zehisizleştirilen) formu temsil eder.

S : Depolanan (stored)/toksik formu temsil eder.

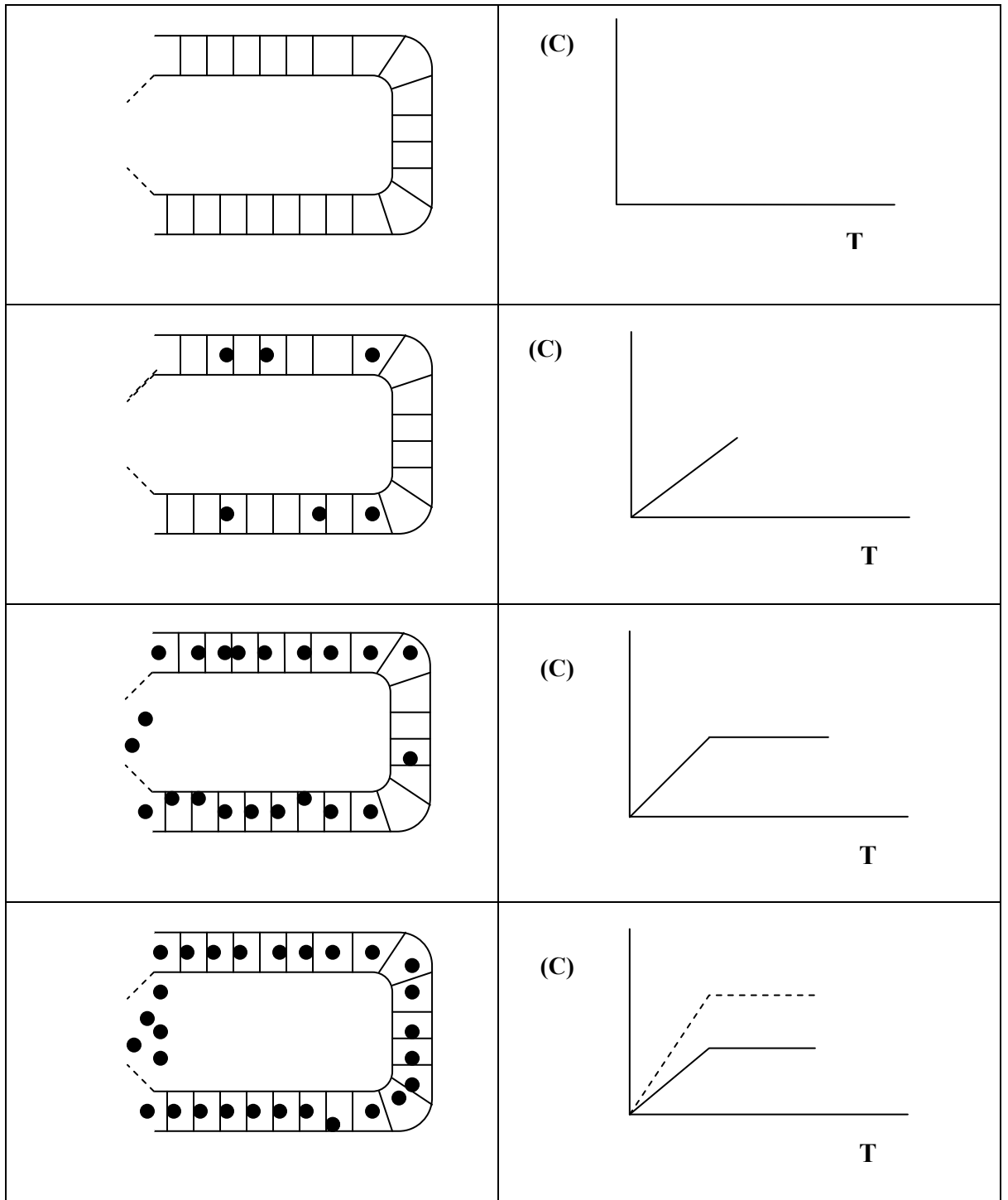
2.3.4. Detoksifiye Olarak Depolanan Kısımdan Dışarı Atılma

Metale maruziyetlerin tümünde net bir metal birikimi vardır, fakat bu seçenekte farklı olarak detoksifiye formundaki birikmiş metal deposundan atılım olmaktadır. Şekil 2.6., bu durumu şematik olarak açıklamaktadır (Rainbow, 2002). Bu birikim, doku örneklerinde *amphipod*'ların beslenme yoluyla aldıkları bakır (Cu) ve çinko (Zn) için örnek olarak gösterilmiştir (Rainbow, 2002) (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. Detoksifiye Formlarda Birikmiş Esas Metalin Akuatik Bir Omurgasızın Ağır Metal Birikim Dokusundaki Net Birikimi (yalnız, detoksifiye olmuş kısımdaki birikmiş metalin bir kısmı atılmaktadır) (Rainbow, 2002).

Şekil 2.7’de metalin organizma tarafından alımı ve birikimi hücresel diyagram olarak gösterilmiştir. İlk sütun organizmanın hücrelerini, ikinci kısım ise hücredeki ağır metalin zamanla değişimini göstermektedir. Birinci şekilde organizma henüz ağır metale maruz kalmadığından hücredeki konsantrasyon değeri sıfırdır. İkinci şekilde ise organizma ağır metale maruz kaldığından zamanla ağır metal konsantrasyonu artmaktadır. Üçüncü şekilde ise organizma ağır metal ile tamamiyle doygun duruma geldiğinden hücredeki ağır metal konsantrasyonu denge konumuna ulaşmıştır. Dördüncü şekilde ise organizma doygun durumda iken hala ağır metal konsantrasyonuna maruz kaldığından farklı bir denge konsantrasyonu oluşturmuştur (Rainbow, 2002).



Şekil 2.7. *Amphipod crustacea* canlısında Beslenme Yoluyla Alınan İz Metalin “ventral” hücrelerinde detoksifiye olmuş metal olarak birikimi ve buna bağlı olarak metabolizmadaki toplam metal konsantrasyonundaki değişimler (Rainbow, 2002).
(T:Zaman, C:Besin alımı yoluyla oluşan maruziyette iz metalin artan etkisi)

2.4. Metallerin Organizmaya Toksik Etkisi

“Ağır metal” terimi “iz metal” terimi ile eş anlamlı kullanılır, hem bünye için esas olan hem de olmayan iz metalleri kapsar. Eğer türler arasında spesifik sınırını aşarsa yaşayan organizmalar için toksik potansiyele sahip olur.

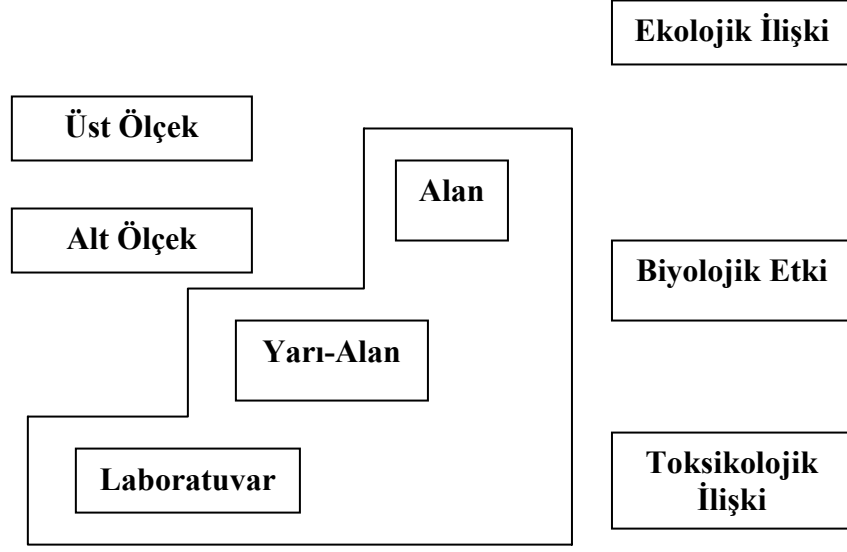
Toksik bir madde **“herhangi bir organizmada veya onun yavrularında ölüme, hastalığa, anormal davranışlara, fiziksel veya üreme bozukluklarına ya da fiziksel deformasyonlara neden olabilen, besin zinciri veya diğer maddelerle birleşmesi durumundaki konsantrasyonlarda zehirlenme etkisi oluşturabilen madde”** olarak tanımlanmaktadır. Toksik etki oluşturabilen maddeler çok çeşitli konsantrasyonlarda olabilirler ve organizmada ters etkilere sebep olabilirler. Ters etki **“Organizmanın tepkisinde ek bir mücadele gerektiren, verimi veya tüm organizma performansını etkileyebilen ve fonksiyonel bozulma ile sonuçlanan herhangi bir biyokimyasal, psikolojik, anatomik, patolojik ve/veya davranış değişikliğidir”** (Kurt, 2000; Kurt, 1999).

Toksisite biyolojik bir sistem üzerinde zararlı bir etki oluşturan bir materyalin özellik ya da özellikleridir. Toksik madde ise bu biyolojik etkiyi oluşturan maddedir (Landis ve Ho Yu, 1999). Son 20 yıl boyunca, canlıların vermiş oldukları biyolojik tepkinin toksik etkilerin ya da maruziyetlerinin belirlenmesinde kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek amacıyla pek çok araştırma yapılmıştır. Kirliliğin mevcut olduğu ortamda sadece tek bir canlı grubunun değil, tüm komünitenin incelenmesi gerekmektedir.

Bir ya da daha fazla organizma → popülasyon → komünite → ekosistem ‘de antropojenik değişimlere karşılık canlıdaki biyokimyasal-fizyolojik fonksiyonlar arasında bağlantı kurulmalıdır (Trebskorn ve diğerleri, 2001) (Şekil 2.8.).

Metalin geldiği kaynak (doğal ya da antropojenik) metalin toksisitesini etkileyebilir, fakat bu faktör toksisite testlerinde nadiren düşünülmektedir. Metalin toksisitesi, biraz da organizmada bağlanmış olduğu organlara göre değişir. *Copepod*’larda su ortamından alınan metaller, *copepodlar* balıklar tarafından tüketildiğinde eğer ki balığın iskelet yapısında birikiyorsa balık tarafından biyokullanılabilirliği daha düşüktür. Ancak alınan metal organizmanın yumuşak dokularında (böbrek, karaciğer,..vs) birikirse organizmadaki ve bu organizmayla beslenen diğer organizmalarda daha fazla olmaktadır. Metalin canlıda yerleştiği organ

akuatik ekosistemde biyokimyasal döngüdeki iz elementi etkileyebilir (Wang ve Fisher, 1999).



Şekil 2.8. Laboratuvar ve Çalışılan Bölge Arasında Deneysel Dizayn Çalışması (Trebskorn ve diğerleri, 2001)

2.4.1. TOKSİSİTE TESTLERİ

2.4.1.1. Akut Toksisite Testleri (Kısa Süreli Maruziyet Testleri)

İkinci Dünya Savaşı'ndan beri, akut toksisite testleri, toksik materyallerin (pestisitler, metaller, endüstriyel deşarjlar..vs) kısa süreli (genellikle 4 gün veya daha az) maruziyetlerinde akuatik organizmalara yapmış oldukları potansiyel etkileri belirlemek amacıyla geniş çapta kullanılmıştır (Rand ve Petrocelli, 1984).

Akut toksisite testleri olarak adlandırılan kısa süreli toksisite testleri kısa dönem veya zamanlarda maruz kalma sonucunda oluşan pek çok etkiyi değerlendirmede kullanılır (Kurt, 1999).

Akut toksisite testinin amacı, kontrollü şartlar altında, kısa süreli maruziyetler esnasında bir grup test organizması üzerinde oluşan pH, sıcaklık..vs gibi yıkıcı etkilerin seviyesini ya da test materyalinin (kirletici madde) konsantrasyonunu belirlemektir. Akuatik organizmalarla yapılan toksisite testleri, canlının tükettiği yiyecekler içerisinde bulunan ya da enjeksiyon yoluyla direkt olarak yaşam ortamına eklenerek yürütülebilir. Çoğu testte, bir grup organizma su ortamına karıştırılmış olan farklı

konsantrasyonlardaki birkaç uygulamaya maruz bırakılarak yürütülür. Ölüm, kolaylıkla belirlenebilir bir cevap olacağından, en yaygın olanı akut toksisite testi' dir. Ölüm koşulu genellikle hareketin olmayışı (balıklarda özellikle solungaçların hareketi) ve verilen reaksiyonların giderek yavaşlamasıdır. Deneysel çalışmalarda test materyalinin toksisitesinin ölçümünde en fazla %50 oranında yanıt sağlanmıştır ve bu deney genelde akut lethal hareket periyodunu içine aldığından 96 saat (ya da daha az) standart maruziyet süresi boyunca yapılır. Bu sebeple, akut toksisite testlerinin çoğu balıklar üzerinde yapılmaktadır. Makro omurgasızlarda ortalama lethal konsantrasyon 96 saattir (96 saat / LC_{50}). Ancak ölüm bazı omurgasızlarda kolaylıkla belirlenemediğinden, EC_{50} (ortalama etkili konsantrasyon) LC_{50} değerine nazaran daha çok tercih edilir. Bazı omurgasızlarda (örneğin *Daphnia*'lar ve küçük larvalarda) EC_{50} değerinin tahmin edilmesi için kullanılan etki canlının hareketinin azaldığı durum yani hareketsizliktir. Örneğin yengeç, tatlı su istakozu ve karides ile EC_{50} değerinin tahmininde genellikle kullanılan etkiler hareketsizlik, normal gidişatı korumada yetersizlik olarak tanımlanan denge kaybıdır (Rand ve Petrocelli, 1984).

Genelde yaygın olan bir akut test yaklaşımı, ölüm ya da hayatta kalabilmeye sebep olunan konsantrasyonları test etmek olmalıdır. Test materyalinin konsantrasyonunu ve bu maddeye maruz bırakılan etkilenen organizma yüzdesi arasındaki ilişki belirlenebilir ve konsantrasyon-ölüm eğrisi çizilir. Kısa süreli test sonuçları genelde,

1-Ölen organizmaların yüzdesi ya da uygulanan her bir test konsantrasyonunda immobil (hareketsiz) olan organizmaların yüzdesi ya da uygulanan her bir test konsantrasyonunda immobil olan organizmaların yüzdesi,

2- Gözlemlenmelerden elde edilen LC_{50} ya da EC_{50} değeri (test organizmalarının %50'sinin öldüğü konsantrasyon değeri) şeklinde ifade edilir (Rand ve Petrocelli, 1984; Chinni ve diğerleri, 2002).

Testler esnasında potansiyel insan toksisitelerini tahmin etmek için LD_{50} yani teste tabi tutulan popülasyonun % 50'sinin öldüğü doz belirlenir (Kurt, 1999).

LD_{50} 'ye benzer şekilde LC_{50} , sulu bir solüsyon veya soluma yoluyla maruziyet sonucunda ölüm etkisinin olduğu doz da kullanılır.

Kısa süreli testler, etkili konsantrasyonda EC_{50} ölümle sonuçlanmayan tepkilerle bağlantılı dozları belirlemek için kullanılır (Kurt, 1999).

Akut Toksisite Testlerinde en çok kullanılan konsantrasyon türleri şunlardır:

LC₅₀ : Organizmaların %50 'sinin ölümüne sebep olan konsantrasyon. Grafiksel ya da hesaplama yöntemi ile bulunabilir.

EC₅₀ : Test edilen organizmaların %50'sinin etkilendiği konsantrasyon. Grafiksel ya da hesaplama yoluyla bulunabilir. Bu parametre ölüme yol açmayan etkiler için kullanılır.

IC₅₀ : Bir organizmanın normal tepkisini %50 oranında azaltan inhibitör konsantrasyonudur. Algler, bakteriler ve diğer organizmaların büyüme hızları için daha çok IC₅₀ değeri ölçülmektedir (Landis ve Ho Yu, 1999).

2.4.1.2. **Kronik Toksisite Testleri (Uzun Süreli Maruziyet Testleri)**

Akuatik test organizmalarına potansiyel tehlikeleri olan kimyasalların verebilecekleri muhtemel zararları değerlendirmek ve anlamak açısından önemli olan bir seçenek kronik ya da tüm yaşam döngüsü boyunca değişimleri izlemek için yapılan toksisite testleridir. Bu testten elde edilen veriler, tüm yaşam evresi boyunca sürekli bir kimyasala maruz bırakılan akuatik organizmalarda herhangi bir etkinin tahmininde ve bu kimyasalın canlıda hiçbir etkisinin olmadığı konsantrasyonların tahmininde kullanılabilir. Kronik toksisite testi, akuatik bir organizmanın yeniden üretim, üreme, normal gelişim ve büyümesine engel olacak bir kimyasalın konsantrasyonlarını gösterebilir. Genelde kronik etki oluşturan konsantrasyonlar, ölüm gibi hemen gözlemlenebilir akut etkilerinkinden daha düşüktürler. Bu yüzden, kronik toksisite testleri, akut toksisite testlerindeki kimyasal toksisitesinin ölçümünde daha duyarlı bir ölçüm sağlayabilirler (Rand ve Petrocelli, 1984).

Kronik toksisite testi, test canlısının tüm yaşam evresi boyunca yapılmalıdır. Canlının gamet evresi, embriyonun ilk gelişim evresi, yeni larva oluşum aşaması, yetişkin evre, olgunluk evresi..vs.

Kronik toksisite testinde, kontrol olmaksızın tüm test popülasyonları, canlıların büyüme, gelişme, cinsel olgunluğa ulaşma ve üreme kabiliyeti (F₁, ilk üreyen nesil) açısından yeterli bir sürede kimyasala maruz bırakılırlar. Her bir popülasyon, farklı kimyasal konsantrasyonlarına maruz bırakılır ve düzenli aralıklarla kontrol popülasyonu ile kıyaslanarak normal büyüme, cinsel olgunluğa erişme, doğurganlık ve ölüm oranları ölçülür (Rand ve Petrocelli, 1984).

MATC: Organizmada kabul edilebilir maksimum kabul edilebilir toksisite konsantrasyonu,

NOEC: Hiçbir etkinin gözlemlenmediği konsantrasyon,

LOEC : Etkinin gözlemlendiği en düşük konsantrasyon (Rand ve Petrocelli, 1984; Taylan, 2004).

2.5. Toksisitede Alglerin Kullanımı

Günümüzde artan endüstriyel faaliyetler ağır metal içerikli endüstriyel atık suların, maden drenaj sularının sahil bölgelerine deşarjını arttırmıştır. Sürekli insan faaliyetleriyle kirleticiler içinde en toksik olan ağır metallerin deniz ortamına girişi yüksek seviyelere ulaşmıştır. Parçalanmalarının zor olması sebebiyle, deniz ekosistemi üzerinde ağır metallerin etkisinin irdelenmesi zorunlu kirleticiler grubundadır. Bu ortamda yaşayan deniz algleri ise ağır metallere maruz kalan ilk organizma topluluklarıdır. Fitoplanktonlar üzerinde ağır metallerin etkisi sucul sistemlerdeki besin zincirinin ilk temel basamağını oluşturması bakımından önemlidir. Fitoplanktonların deniz suyundan kadminyum, bakır, çinko, kurşun gibi ağır metalleri konsantre etme yetenekleri yüksektir. Ayrıca fitoplanktonlar deniz suyundaki konsantrasyonu düşük konsantrasyonlardaki ağır metali yüksek miktarlarda biriktirebilirler (Torres ve diğerleri, 1998). Çevresel şartlara hızlı cevap verdiklerinden uygun biyolojik indikatördürler. Bu sebeple su kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılırlar (Farrell ve diğerleri, 2002).

Algler özellikle metallerin etkileri ile ilgili çalışmalar için uygundur. Çünkü metaller ile etkileşimi sağlayan ve fonksiyonel gruplar içeren büyük yüzey alanları vardır. Hücre yüzeyleri ağır metalleri bağlar ve akuatik sistemde çözünmüş metalin dağılımını ve taşınımını etkilerler. Bazı alg türleri, metalleri bağlama ve konsantre etme yetenekleri sayesinde metal kontaminasyonunun indikatörü olarak kullanılırlar (Wong ve diğerleri, 2001; Burger ve Gochfeld, 2001; Amado Filho ve diğerleri, 1999; Muse ve diğerleri, 1999).

Toksisitede alglerin kullanımı, organik maddenin birincil üreticileri ve besin zincirinin bir parçası olduklarından önemlidir. Bu canlılar, oksijeni önemli seviyelerde temin ederler ve bu sebeple de aerobik ayrışma işlemine katkıda bulunurlar; su ortamındaki varlıkları bu sebeple gereklidir (Shehata ve diğerleri, 1999).

Makroalglerin ağır metal alış kabiliyetleri tahmin edilenden daha büyüktür ve bulundukları ortamda giderek artan metal seviyelerine karşı oldukça toleranslıdır (Tabudravu ve diğerleri, 2002; Villares ve diğerleri, 2001). Algler yalnızca su ortamında çözünmüş serbest metal iyonlarını değil, aynı zamanda organik ve inorganik kökenli kompleks partikülleri de yüzeylerine bağlarlar. Makroalglerin çoğu sesildir, boyutları analize uygundur, doğal ortamdan toplanmaları ve tanımlanmaları kolaydır, yaşadıkları ortamda geniş alanlara yayılırlar ve metalleri yüksek seviyelerde biriktirirler (Conti ve Cecchetti, 2003; Wong ve diğerleri, 2001; Terry ve Stone, 2001; Wilde ve Benemann 1993).

Fitoplanktonlar ve zooplanktonlar biyomonitör (izleyici) organizma komünitelerindendirler. Bazıları, kirliliğe karşı duyarlı, bazıları dirençli, bazıları da orta seviyede toleranslıdır. Bireysel toleransları, antropojenik atıklardan gelen potansiyel zararı tanımlamada fayda sağlayabilmektedir. Özellikle de iklimsel değişimler, toprak ve su ortamlarının yanlış kullanımı, ötrofikasyon sonucu sucul ortamlarda meydana gelen uzun süreli değişimlerin değerlendirilmesinde faydalı organizmalardır (Farrell ve diğerleri, 2002).

Toksisite testlerinde pek çok alg türü kullanılmaktadır. Bu türler Cyanophyceae türleri (siyanobakteriler ya da mavi-yeşil alg), Bacillariophyceae (diatom), Chlorophyceae (yeşil alg), Rhodophyta (kırmızı alg), Chrysophycophyta ve Chrysophyceae (kahverengi alg), Pyrrophytocyta (kamçılı algler)'dir.

Yeşil alglerden en sık kullanılan organizma türleri *Selenastrum capricornutum*, *Dunaliella tertiolecta*, *Scenedesmus subspicatus*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlamydomonas eugametos*, *Chlamydomonas reinhardtii*; mavi-yeşil alglerden *Anabaena flosaquae*, *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena cylindrica*; diatomlardan *Navicula pelliculosa*, *Craticula cuspidata*; deniz alglerinden *Skeletonema costatum*, *Nitzschia* spp., *Isochrysis galbana*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Dunaliella tertiolecta*, *Chlorococcum* spp., *Laminaria saccharina*, *Champia parvula*, *Ceramium strictum*, *Skeletonema costatum*, diatomlardan *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira pseudonana*, dinoflagellatlardan *Gonyaulax polyedra*, *Pyrocystis lunula*, kırmızı alglerden *Champia parvula*, kahverengi alglerden *Phaeodactylum tricornutum*, *Macrocyctis pyrifera* en çok önerilen alg türleridir (Farre ve Barcelo, 2003; Davy ve diğerleri, 2001; Lane Christopher ve diğerleri, 2001; Tolun ve diğerleri, 2001; Zhou ve diğerleri, 1998; Rainbow ve Phillips, 1993; Phillips, 1991). Alglerin yanında balıklar ve sucul omurgasızlar da toksisite testlerinde yaygın kullanılan organizma gruplarındandır.

Balık türlerinden en çok *Rainbow trout* ve *Fathead minnow*, omurgasızlardan da *Daphnia magna* sıkça kullanılmaktadırlar (Bart ve Janssen, 2003; Farre ve Barcelo, 2003).

Tatlı su mikro alglerinin toksisite testlerinde sıkça kullanılmasına karşın, deniz ortamında “standart toksisite testi” olarak tanımlanabilen çok az test bulunmaktadır. Ancak, yeşil algler ve diatomlar, deniz suyu toksisite testlerinde en yaygın kullanılan mikroalglerdir. *Phaeodactylum tricornutum* ve *Dunaliella tertiolecta* pek çok çalışmada önerilen alg türleridir (Heraud ve Beardall, 2002; Tolun ve diğerleri 2001; OECD, 1984; Okay ve diğerleri, 1998; Okay ve diğerleri, 1996). Moreno Garrido ve diğerleri, *P. tricornutum*’un, deniz suyu toksisite testlerinde standart organizma olarak kullanımını önermişlerdir (Moreno Garrido ve diğerleri, 2000).

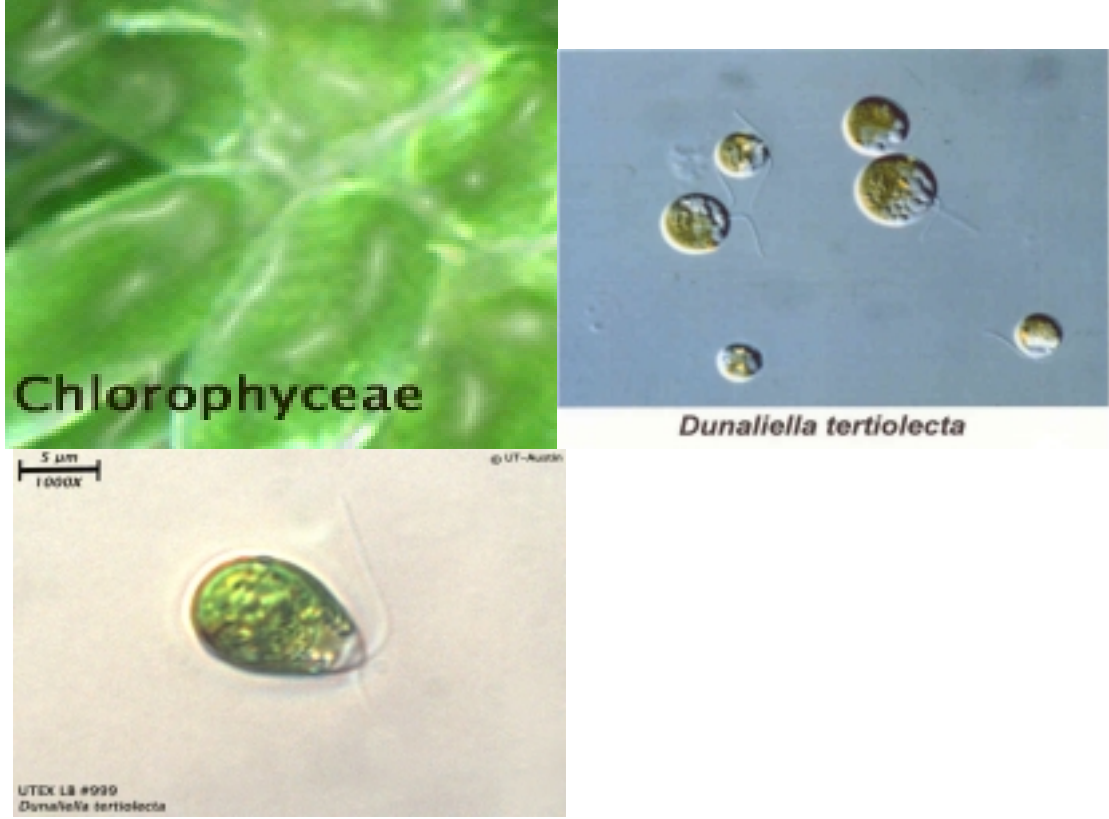
2.5.1. Kullanılan Organizmalar

2.5.1.1. Yeşil Alg *Dunaliella tertiolecta* – Butcher, 1959

D. tertiolecta, Volvocales ordosunda Chlorophyceae sınıfına ait bir türdür (taksondur). Sahil sularının en baskın organizmalarıdır. Orjini Oslo fiyordları Norveç’tir. Genelde bu organizma toksisite testlerinin yanı sıra verilen kirleticiye karşı ATP değişimi, gliserol üretimi veya içeriğinin değişimi açısından da tercih edilmektedir (<http://www.bio.utexas.edu/research/utex/class/chlorophyceae-d-f.html>) (Resim 2.1.). Tek hücreli, ya da kolonial thallusa sahiptirler. Chlorophyceae sınıfı yeşil alg hücreleri iki eşit uzunlukta kuyruk içerir (Ercan, 1994). Hücre duvarlarında ise ağırlıklı olarak selüloz bulunur (Round, 1965). *Dunaliella* cinsinin üyeleri, yüksek oranda tuz (% 30) içeren ortamlarda bulunabilirler. Mg^{+2} konsantrasyonunu yaklaşık 1.75 M kadar yüksek olan hipersalin ortamlar içinde yaşayabilirler. *D.tertiolecta*, $MgSO_4$ konsantrasyonu yüksek olan ortamlarda yaşayabilmesine rağmen, $MgCl_2$, $Mg(NO_3)_2$ ve LiCl içeriği yüksek ortamlarda gelişemezler.

Dunaliella, NaCl konsantrasyonu açısından geniş bir değer aralığındaki ortamlarda gelişebilirler. Hücre membranları seçici geçirgendir. Bu sebeple hücre osmometre gibi davranır. Hücreleri osmotik basınca maruz kaldığında, hacminde ve şeklinde değişiklikler olur, fakat osmoz düzenleyici metabolizması sayesinde bu değişimleri önleyebilir. Osmotik basınç hücre dışında arttığında hücre suyu stoplazmadan dış ortama geçeceğinden hücreleri büzülür. Organizma ilk hacmine

ulaşana dek şişme eğilimi gösterir. Bu osmoregulasyon, hücrenin bütünlüğünü koruyan ve osmotik aktif bir bileşik gibi davranan gliserolün hızlı sentezi ile gerçekleştirilir (Ercan, 1994).



Resim 2.1. Yeşil alg *D. tertiolecta*'nın hücresel yapısı

(<http://www.bio.utexas.edu/research/utex/class/chlorophyceae-d-f.html>)

Regnum (Alem) : Plantae

Subregnum (Alt Alem) : Thallophyta

Division (Bölüm) : Chlorophyta

Classis (Sınıf) : Chlorophyceae

Order (Takım) : Volvocales

Familia (Familya) : Dunaliellaceae

Genus (Cins) : Dunaliella

Species (Tr) : *Dunaliella tertiolecta*, Butcher

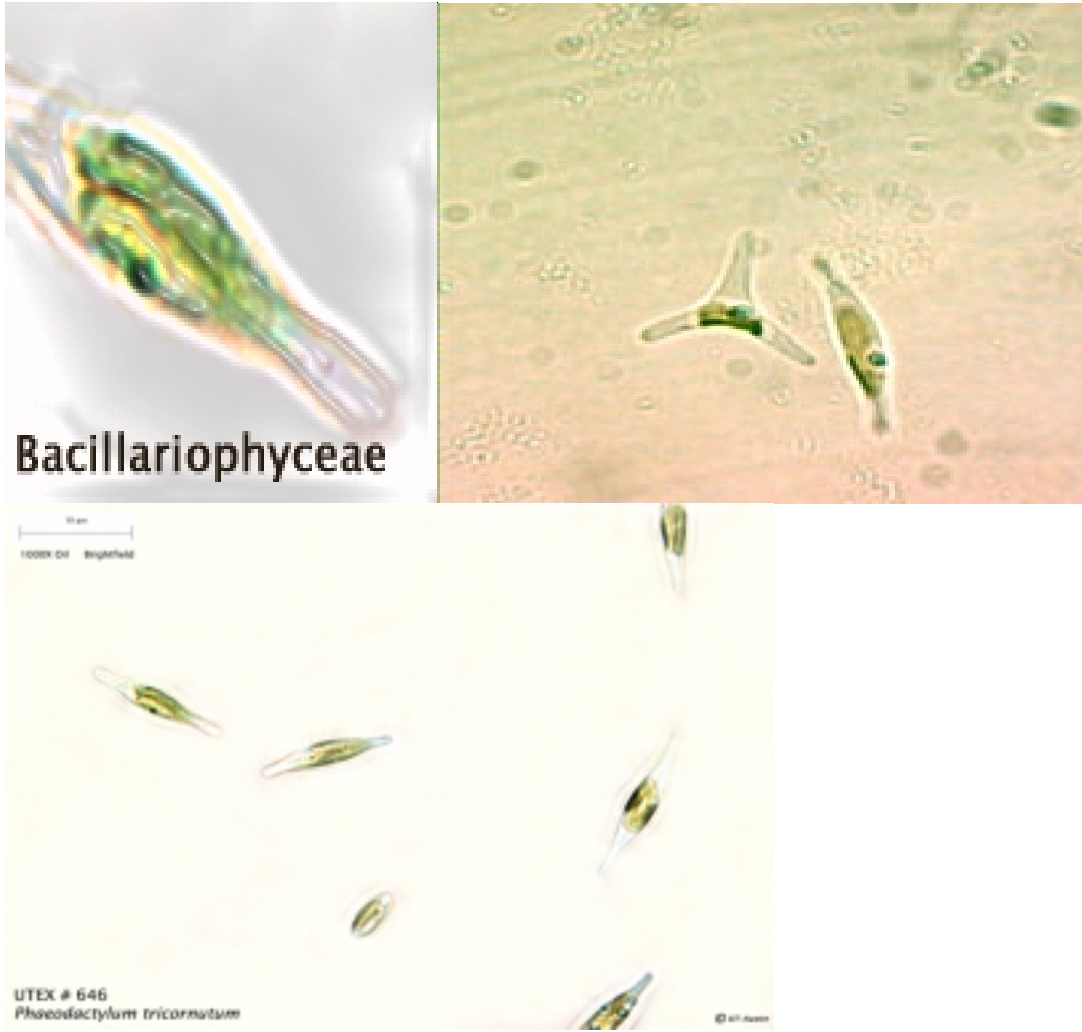
Boyutları: 5.8μm-8.2μm (<http://www.algabase.org>; Round ve diğerleri, 1990)

2.5.1.2. Diatom *Phaeodactylum tricornutum* – Bohlin, 1897

Diatom, içinde yaşadığı çevre suyundan temin ettiği silisten yapılmış kabuk veya furustul içinde yerleşmiş çok küçük bir protoplazmadır. Geniş ve sığ havzalar, çok miktarda suda erimiş silis ve temiz sular, gelişmesini sağlayan ve hızlandıran faktörlerdir. Sayıları 16000'e ulaşan farklı diatome çeşitleri tatlı sularda, denizlerde veya hafif tuzlu sularda gelişmektedirler. Diatome furustulu amorf silis ($\text{SiO}_2 \times n\text{H}_2\text{O}$) yapısındadır. Genellikle gevşek yapılı ve hafif olup, rengi içeriğindeki demir oksitlerin miktarına göre beyazdan açık bej, gri ve koyu kahverengiye kadar değişebilmektedir. Absorbsiyon kabiliyeti yüksek olup ağırlığının üç katı kadar su emebilir. En önemli özelliklerinden birisi de %85-90 'lık porozite sağlayan yüksek gözenekli yapısıdır (DPT, 7.ci 5 Yıllık Kalkınma Planı).

Diatomların boyutu 1 μm 'den daha az olabilir, yine 1 mm'den de büyük olabilir. Fakat tipik olarak 10-200 μm 'lik boyutlardadır (Thomas ve Dolley, 2003; DPT, 7.ci 5 Yıllık Kalkınma Planı). Tek hücrelidirler. Kloroplastları çok küçüktür. Üçgen, kareye yakın veya da ince uzun kapsül şeklinde de olabilirler. Bazı cinsleri yüzey alanlarını arttıran sillere sahiptir (Lane ve diğerleri, 2001).

P. tricornutum Bacillariophyceae sınıfının üyesidir. Okyanus bölgelerinde en bol bulunan birincil üretici sınıfındadırlar. Orjini Plymouth İngiltere'dir. Oval hücreli *P.tricornutum* kültürleri agar üzerinde muhafaza edilirler. Sıvı ortama inoküle edildikten sonra kümeleşme eğilimi gösterirler (<http://www.bio.utexas.edu/research/utex/class/bacillariophyceae.html>) (Resim 2.2). Bacillariophyceae sınıfındaki tek hücreli diatomun pek çoğu dairesel ya da ovaldır, hücre duvarı silika ağırlıklıdır, silikanın porozlu yapısı sebebiyle hücre duvarı diğer alg gruplarındaki hücre duvarından daha komplekstir. Bacillariophyceae (Diatomlar) silis içerikli hücre duvarlarının 2 kapaklı bir kutuya benzemesi karakteristiktir. Eşeyli ve eşeysiz ürerler ve erkek üreme hücreleri dışında kamçı taşımazlar (Round, 1965; <http://www.botany.ubc.ca/cccm/NEPCC%20isolates/nbacillario/nbacil640.html>).



Resim 2.2. Kahverengi alg diatom *P. tricornutum*'un hücresel yapısı (<http://www.bio.utexas.edu/research/utex/class/bacillariophyceae.html>)

Regnum (Alem) : Plantae

Subregnum (Alt Alem) : Thallophyta

Division (Bölüm) : Bacillariophyta

Classis (Sınıf) : Bacillariophyceae

Subclassis (Alt Sınıf) : Bacillariophycidae

Order (Takım) : Naviculales

Familia (Familya) : Phaeodactylaceae

Genus (Cins) : Phaeodactylum

Species (Tür) : Phaeodactylum tricornutum, Bohlin

Boyutları: 24.4x3.8 μm (<http://www.algabase.org>; Round ve diğerleri, 1990)

2.6. Biyoakümülyasyon ve Biyokonsantrasyon Faktörü

Bünyeye alınan metaller organizma tarafından kullanılabilir, fazlası atılır veya depolanabilir. Organizmada metalin fazlası biyoakümülyasyona uğrar ve depolanır.

Biyoakümülyasyon (BA), organizmaların çevrelerindeki kirleticilerin kendi bünyelerince alıkonması ve alınmasıdır. Biyokonsantrasyon faktörü (BCF) ise denge durumunda test edilen organizmadaki kimyasal konsantrasyonunun bulunduğu su ortamındaki konsantrasyonuna oranıdır. BCF bir maddenin ekotoksitesini ölçmek için önemli bir değişkendir ve bu değerler ekosistemdeki kimyasalların dağılım oranlarının yorumlanmasında fayda sağlar. Bu sebeplerden dolayı da risk değerlendirmesi ve modelleme çalışmaları için anahtar parametrelerdir (Ercan, 1994). Biyoakümülyasyon ve biyokonsantrasyon faktörleri denklem (4) ve (5) ile hesaplanabilir;

$$BA = \frac{A \times B \times 100}{C \times D} \quad , \text{ (} \mu\text{g kimyasal / g kuru ağırlık)..... (Ercan, 1994) \quad (4)$$

A : Sindirimi yapılmış numunedeki metal konsantrasyonu (mg/L)

B : Sindirimi yapılmış solüsyonun son hacmi (ml)

C : kuru alg ağırlığı / ıslak alg ağırlığı

D : Islak alg ağırlığı (g)

$$BCF = \frac{K}{M} \quad , \text{ (} \mu\text{g Metal/ g Alg Kuru Ağırlık / mg/L)..(Lyman Warren, 2000) \quad (5)$$

K: Algdeki Kimyasalın Konsantrasyonu ($\mu\text{g Metal/ g Alg Kuru Ağırlık}$)

M: Deniz suyundaki Metal Konsantrasyonu (mg/L)

Suyun kimyasal içeriği metalin özelliğini ve organizmadaki biyoakümülyasyonunu etkilemektedir. Fizikokimyasal koşullardaki redoks potansiyeli, pH, tuzluluk, sıcaklık., vb. değişimler organizma tarafından metalin biyokullanımını etkileyebileceklerdir.

Alg hücreleri, sucul ortamlardaki katyonların geri dönüşümlü bağlanmasında yüksek oranda ve hızlı çekim özelliğine sahip büyük yüzey alanları sağlarlar. Bu

hücrel yapılar anyonik ve katyonik değişim bölgelerinin (amino, fosforil, sülfidril ve karboksilik gruplar ..vb) arasına katılan ve bu anyon-katyonlara bağlı hücre duvarı üzerinde bir dizi mozaik oluştururlar. Metal iyonlarının yaşayan hücre duvarları üzerine bağlanarak hücre membranından sitoplazma içerisine taşınımında, yalnızca hücre yüzeyine bağlanma ile kıyaslanıldığında daha yavaş aktif alım söz konusu olmaktadır. Ancak bu iki reaksiyonda da adsorbsiyon ile metal alımının artması ortamda yalnızca organizmanın var olması durumunda gerçekleşmez. Fitoplanktonlardan kaynaklanan organik kalıntılar, metal ile kompleks yaparak biyolojik membrandan geçen ağır metallerin taşınımını, biyokullanımını, biyoakümüleyonunu ve toksisitesini değiştirebilmektedir (Ercan, 1994).

Algler, bakteriler, mantarlar, midyeler ve daha pek çok su canlısının metal akümüleyasyonu çalışmalarındaki kullanımı son 20 yıldan günümüze yaygınlaşmaktadır. Çalışılan mikroorganizmalardan alglerin özellikle de deniz alglerinin yüksek oranda metali biriktirebilme ve de biriktirme proseslerinin nispeten ucuz olması okyanus ortamındaki algleri zengin bir kaynak haline getirmiştir. Alglerde hücre yüzeylerine adsorbsiyon dominant bir mekanizma olmasına karşın; hem yüzeye adsorbsiyon hem de hücre içine diffüzyon alglerin metal alımında kullanılan mekanizmalardır. Deniz ortamındaki besin zinciri yoluyla toksik maddelerin biyoakümüleyasyon / biyomagnifikasyonu gerçekleşmektedir. Meydana gelen bu prosesler besin zincirinin üst kademelerine gelindiğinde balıklardaki toksik madde miktarının mikroalglerdeki toksik madde miktarından fazla olmasına sebep olmaktadır (Zhou ve diğerleri, 1998).

Spokane Nehri'nde kadminyum, bakır, civa, kurşun ve çinko ölçümlelerinde günlük toplam maksimum yüklemeler sonucunda elde edilen metal konsantrasyonları su kalite standartları ile kıyaslanarak akuatik organizmalar için bu metallerin akut ve kronik toksisite koşul değerleri hesaplanmıştır. Buna göre kronik koşul için ortalama 4 günlük ve akut koşul için ortalama 1 saatlik deneyler sonucunda aşağıdaki eşitlikler elde edilmiştir.

	<u>Kronik Koşul</u>		<u>Akut Koşul</u>
Kadmiyum	$\leq (0.865).(e^{0.7852 (\text{Ln (sertlik)})-3.490})$	$\leq$	$(0.865).(e^{1.128 (\text{Ln (sertlik)})-3.828})... (6)$
Bakır	$\leq (0.862).(e^{0.8545 (\text{Ln (sertlik)}) -1.465})$	$\leq$	$(0.862).(e^{0.9422 (\text{Ln (sertlik)})-1.464})... (7)$
Kurşun	$\leq (0.687).(e^{1.273 (\text{Ln (sertlik)})-4.705})$	$\leq$	$(0.687).(e^{1.273 (\text{Ln (sertlik)})-1.460})... (8)$
Çinko	$\leq (0.891).(e^{0.8473 \text{ Ln (sertlik)} + 0.7614})$	$\leq$	$(0.891).(e^{0.8473 (\text{Ln (sertlik)})+0.8604})... (9)$

(Pelletier, 1984)

Deniz fitoplanktonlarındaki metal alımı ile ilgili kapsamlı pek çok çalışma olmasına karşın, metal akümüasyonu üzerinde besin tuzlarının etkisi ile ilgili yok denecek kadar az çalışma mevcuttur. Nehir ve sahil sularında ötrofikasyon ve metal kontaminasyonu artan insan faaliyetleri sonucunda aynı anda meydana gelebilir. Akuatik sistemde metalin besin zincirindeki transferi sahil bölgelerindeki ötrofikasyondan etkilenebilir. Artan insan faaliyetleri sebebiyle oluşan ötrofikasyon, fitoplankton topluluklarının kompozisyonunu ve sayılarını etkileyerek büyük oranda bozmaktadır. Besin tuzlarının artışı ile etkilenebilen fitoplankton ve omurgasızlardaki metalin biyoakümüasyonu değişim göstermektedir. Ötrofikasyon sebebiyle fitoplanktonlardaki metal konsantrasyonundaki değişimler besin zinciri ile aktarılan metal miktarını da büyük ölçüde etkileyebilir.

Besin tuzu açısından zengin koşullarda eğer metal alımı sabitse veya azalıyorsa hücre büyümesindeki artış, hücredeki metal konsantrasyonunda azalmaya, metal alımındaki artışlar hücredeki metal konsantrasyonunda artışlara sebep olabilmektedir. Algler tarafından alınan metaller, besin zinciri yoluyla algleri tüketen otçul canlıların bünyesine artan konsantrasyonlarda geçmektedirler (Wen-Xiong Wang ve Robert, 2001). Su kalitesinin bozulmasında, ötrofikasyon, nüfus artışı, endüstrileşme ve artan kirleticiler ile birlikte açık denizlerde ve nehirlerde ciddi problemlere sebep olmaktadır (Okay ve diğerleri, 1996).

2.7. Ağır Metallerin Sucul Ekosisteme Etkileri

Çeşitli aktiviteler sonucu oluşan ve çok değişken yapıda olabilen atık suların göl, nehir, koy ve körfez gibi alıcı ortamlara deşarjları bu ortamın fiziko-kimyasal yapısını değiştirir. Ağır metaller gibi kirleticiler ortamın toksisitesinin artmasına neden olurlar. Bu metallerin hemen öldürücü etkisinin olmadığı ancak besin zinciri yoluyla organizmadan organizmaya geçerek miktarının yükseldiği ve belli düzeylerde toksik olduğu gözlemlenmiştir.

Sucul ortamdaki besin zinciri ilk olarak birincil üretici olan alg'lerden başlar. Algleri zooplanktonlar, bunları da pradatörler (avcılar) takip eder. Balıklar ise insanlar tarafından tüketilir. Böylece zincirin ilk halkasında alınan bir kirleticinin konsantrasyonu sürekli olarak besin zincirinin bir üstündeki organizmada artan konsantrasyonlarda birikir (Geldiay ve Kocataş, 1988). Besin zincirinde biriken maddeler “devamlı kirleticiler” adını almaktadırlar. Civa, kadminyum, kurşun gibi ağır metaller bu gruba dahil edilirler.

Metaller su içinde organizmaların vücutları içine solungaç gibi özel yapılar yoluyla absorblanırlar. Hayvanlar içinde midye gibi kabuklu canlılar beslenme mekanizmaları ile solüsyondan ağır metalleri alırlar. Bu işlem sudaki element ve organizma dokusu arasında bir denge oluşuncaya kadar devam eder. Deniz suyundan direkt çekim iki yolla olur; organizmaya adsorbsiyon ve elementin solungaçlar ya da bağırsak duvarına adsorbsiyonudur (Kamalı Uğur, 1999).

Deniz ekosistemine bir kimyasal madde girdiğinde suda dağılabilir, salgılarla atılabilir, depolanabilir veya metabolize edilebilir. Dışarı atılma, depolama ve metabolize etme organizma içindeki kimyasalın konsantrasyonu ve dış ortamdan organizma içine hareket eden kimyasalın potansiyelinin artmasıyla azalır. Pek çok kimyasal suda çözünen kimyasallara nazaran membrandan geçip yağ tabakalarında daha kolay depolanır (Özkoç ve Tosun 1999).

Kimyasallar yüksek konsantrasyona sahip oldukları ortamlardan düşük konsantrasyona sahip oldukları ortamlara geçmeye, diffüze olmaya ve hareket etmeye eğilimlidirler. Genellikle suda çözünme oranı yüksek olan bileşiklerin biyolojik birikim potansiyeli düşüktür ve organizmaya giren su hemen dışarı çıkamaz (Özkoç ve Tosun, 1999).

Çevresel toksikoloji yönünden önemli olan metaller: As, Hg, Cd, Pb, Cu, Zn, Se'dir. As ve Se gerçek anlamda metal olmamalarına karşın bu grupta incelenirler (Traş ve Baş, 1992). Kaynakları ve sucul organizmalara etkileri açısından toksik metalleri incelemek mümkündür.

2.7.1. Bakır (Cu)

Bakır, kırmızı-kahverengi renkte, yumuşak dövülebilir bir metaldir. Genelde valans elektron olarak 2 değerlikli, fakat ortam şartlarına göre +1 ve +3 değerlikte de olabilir. Doğal tuzlarda ve organik bileşiklerde doğal olarak bulunmaktadır. Bakır, metalinin suda çözünürlüğü az olmasına karşın, nitrik asit ve sülfirik asit solüsyonlarında çözünürlüğü artırılabilir. En çok çözünen tuzları olan , bakır(II) sülfat ve bakır(II) klorür daha az çözünen bakır tuzları, bakır (II) hidroksit ve bakır (II) oksit'e göre daha fazla toksiktir (<http://tuberoze.com>).

Bakır, tüm bitki ve hayvanların gelişiminde esas rol oynayan bir elementtir. Bakır, birçok enzimin temel bileşenidir (Ercan, 1994). Özellikle midye içinde kan proteinlerinin temel bir elemanı olmasından dolayı önemlidir (Kamalı Uğur, 1999). Proteinlerin yapısına katılan önemli bir elementtir. Hemoglobinin oluşumunda demirin en verimli şekilde kullanılması için gereklidir. Çoğu kabuklu deniz canlısı ve midyelerde oksijen taşıyan kan proteini olan bakır içerikli hemosiyanin'e sahiptir. Bitkilerde ise bakır, karbonhidrat, azot, ve hücre duvarı metabolizmasındaki gerekli pek çok enzimin esas bileşenidir (<http://www.tuberoze.com>).

Bakırın aşırı girdisi nehirlerde bakır birikimine yol açar. Genellikle bakır toksisitesi Mo, Zn ve SO_4^{-2} girdileri ile artar. Bakırın yüksek konsantrasyonları tehlikeli olabilir. Toksisitesi büyük ölçüde pH'ya bağlıdır. pH arttığında solüsyondaki serbest bakırın konsantrasyonu azalır ve partikül grupları iyice bölünür. Bu durum solüsyonda bakır bulunuşundan daha toksik bir ortam meydana getirir. Çalışmalar, bu partiküllerin mukos tabakaya, balıkların solungaçlarına yapıştığını ve absorblandığını göstermiştir.

Hayvanlar iz metale karşı koyabilecek bazı mekanizmalar geliştirmişlerdir. Eğer bakırın eksikliği ya da aşırılığı uzun süre devam etmiyorsa bir çok organizma sahip olduğu mekanizmalar ile bakırın dengesini düzenleyebilir ve bir çok anormalliği de önleyebilir (Ercan, 1994). Genellikle hücre duvarına metalin bağlanması, metale toleranslı enzimlerin üretimi, bitkilerde metalin hücredeki organik asitler ile kompleks oluşturarak vakuol organında depolanması veya metale bağlanarak kompleks oluşturan

phytocelatin (sekonder metabolit) üretimi ile hücre içine metal girişi engellenmektedir (<http://www.tuberoze.com>).

Bir çok çalışma bakırın sürekliliği sonucunda bazı dokularda özellikle akciğerde biriktiğini göstermiştir. Memelilerde bakır, akciğer, böbrek ve diğer organlarda birikir.

Bakırın endüstrideki kullanımı oldukça yaygındır. İletken levha ve elektrik devresi yapımında, elektro- kaplama sanayinde, bobin üretiminde, yüksek iletken tüp yapımında ..vb pek çok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca pek çok kimyasal ve tıbbi ekipman ve madeni para yapımında, su ve gaz iletim borularında, çatı kaplama materyallerinde, bronz ve tunç yapımında da kullanılmaktadır.

Bakır bileşikleri de insektisid, algisid, molluskasid, fungusidlerde, ayrıca kahverengi toz boya yapımında, vurmali çalgı yapımında, mordan ve çeşitli pigmentlerde hammadde olarak kullanılmaktadır (Ercan, 1994).

Kırsal kesimde havadaki ortalama bakır konsantrasyonu, 5-50 ng/m³ aralığındadır. Kontamine olmamış deniz suyunda 0.15 µg/L, tatlı sularda 1-20 µg/L seviyesindedir. Sedimentler ise bakır için önemli bir rezervuardır. Doğal tatlı su sedimentlerinde 16-5000 mg/kg kuru ağırlık, deniz sedimentlerinde ise 2-740 mg/kg kuru ağırlık aralığındadır. anoksik sedimentlerde ise bakır sülfid bileşiklerine bağlı olduğundan biyolojik açıdan kullanımı olanaksızdır. Kontamine olmamış topraklarda ortalama bakır konsantrasyonu ortalama 30 mg/kg 'dır (<http://www.tuberoze.com>).

Bakır, akuatik organizmaların üreme, biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal özelliklerini zıt yönde etkilemektedir.

Suda izin verilebilir konsantrasyonu: Tuzlu su ortamlarını korumak amacıyla 24 saatlik ortalama 4µg/L seviyesinde olmalı ve 23 µg/L'yi geçmemelidir. İnsan sağlığını korumak amacıyla ise bu değer 1 µg/L seviyesinde olmalıdır (Ercan, 1994).

2.7.2. Çinko (Zn)

Çinko, yer kabuğundaki en yaygın elementlerden birisidir. Hava, su, toprak ve tüm besinlerde dolayısı ile de besin zincirinin her kademesinde bulunur. Saf çinko, mavi-beyazımsı parlak bir metaldir. Pillerde, pas önlemede kaplama maddesi olarak, pek çok elektronik komponentlerin kaplamasında diğer metaller ile bir arada kullanılmaktadır. Endüstride de boya, kauçuk imalatında, süs eşyası yapımında ve yiyeceklerin korunmasında katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır. Özellikle de pillerde, matbaacılıkta, demiryolu yapımında, boya astarlarında, otomotiv sektöründe, tekne boyalarında, siyanür proseslerinde altının ekstrakte edilmesinde, sabun üretiminin

yağ alma aşamasında, tutkal yapımında, sulu sodyum bisülfid yapımında ve analitik kimyada rejenerant olarak pek çok alanda kullanılmaktadır. Çinko doğal prosesler ile çevreye salınır, fakat çoğu durumda, madencilik aktivitelerinden, çelik üretiminden, kömür ve atık yakma gibi işlemler sonucu alıcı ortamlara ulaşır. Toprak, su, sediment ve havadaki toz partikülleriyle birleşir. Havadan ise yağmur ve kar ile yıkanarak su ortamlarına geçer. EPA tarafından tavsiye edilen alım sınırı erkekler için 15 mg/gün, kadınlar için 12 mg/gün, çocuklar için 10 mg/gün, bebekler için ise 5 mg/gün 'dür. İçme suyu sınır değeri ise 5 mg/L'dir. Çalışma alanlarında İş Alanları Sağlık Yönetimi- OSHA' ya göre günde 8 saat çalışan bir insan için havadaki çinko klorür gaz limiti 5 mg/m³, haftada toplam 40 saatin üzerinde çalışan bir insan için ise maksimum 1 mg/m³'ü geçmemelidir. Çinko, canlıların beslenmesinde esas rol oynayan elenmentlerdendir. Yokluğu, sağlık problemlerine neden olduğu gibi, fazlası da akut toksisiteye neden olmaktadır. Buhar olarak solunması, boğaz kuruluğu, öksürük, zayıflama, baş ağrısı, titreme, ateş, mide bulantısı, kusma gibi etkilere sebep olmaktadır. Çinko klorür buharı, soluk borusunun mukus membranında harabiyetlere sebep olmaktadır. Çinkonun çözünabilir tuzlarının sindirim yolu ile alımı sonucunda ise, mide bulantısı, kusma ve müshil etki göstermektedir. Çinko buharının (toz ya da yoğun buhar) yoğun olarak solunması metal buhar ateşi olarak adlandırılan kısa süreli spesifik bir hastalığa neden olmaktadır. Kronik toksisitesinde zararlı sağlık etkisi, 1 günde 10-15 kez 100-250 mg/gün aralığında doza maruz kalma sonucu görülmektedir (<http://www.tuberoze.com>). Çinkonun kısa bir süre içerisinde yüksek miktarda yenmesi ile mide krampları, mide bulantısı ve kusma ortaya çıkmaktadır. Daha uzun süreler boyunca alımında ise, anemi, pankreas harabiyeti, HDL (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein -iyi yönlü kollesterol) miktarında azalmalara neden olmaktadır (OECD Series on Testing and Assessment, 2001). Deney farelerinde yapılan deneylerde de yüksek çinko konsantrasyonlarının kısırlığa sebep olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca deri hastalıklarına da sebep olmuştur. İnsanlar da da cilt tahrişlerine sebep olmaktadır (<http://www.tuberoze.com>).

3. MATERYAL VE METOD

Ağır metallerin organizmalardaki toksisitesini belirlemek için yapılan bu çalışmada, diatom kahverengi alg *P. tricornutum* ve yeşil alg *D. tertiolecta* organizmalarında bakır ve çinkonun biyoakümülyasyonu (BA), biyokonsantrasyon faktörü (BCF), metal maruziyeti sonucu hücre sayısında, inhibisyon yüzdelisinde ve klorofil içeriğindeki değişimler bulunarak literatür değerleri ile kıyaslanmıştır.

Organizmaların bulunduğu ortama yalnızca bir ağır metal eklenmiş ve 4-7 gün boyunca kesikli sistemde çalışılmıştır. Deneyler üç aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada alg örneklerine yüksek konsantrasyonda metal uygulanmıştır. İkinci aşamada daha düşük metal konsantrasyonunda hem normal şartlarda hem de EDTA kompleksi ile yıkama yapılmıştır. Üçüncü aşamada da azot ve fosfor varlığında düşük metal konsantrasyonunda hem normal hem de EDTA kompleksi ile yıkama yapılarak organizmaların metal alımı, hücre inhibisyon oranları ve klorofil içeriğindeki değişimler belirlenmiştir. Birinci ve ikinci aşamada yüksek ve düşük metal konsantrasyonlarında organizmanın metal alımı, inhibisyonu ve klorofil içeriğindeki değişimler; ikinci ve üçüncü aşamada ise ortamda azot ve fosfor kaynağının varlığında organizmaların metal alımı, inhibisyonu ve klorofil içeriğindeki değişimler bulunarak literatür değerleri ile kıyaslanmıştır. EDTA ile muamelenin amacı hücrelerin yüzeylerinde adsorbe edilen metalin yıkanarak organizmadan uzaklaşması ve bu sayede yalnızca hücre içine alınan metal miktarını belirlemektir.

3.1. Alg Kültürlerinin Temini

Bu çalışmada, tek hücreli yeşil alg *D. tertiolecta* ve deniz diatomu *P. tricornutum* kullanılmıştır. Kültürler Teksas Üniversitesi Saf Alg Kültürü Toplama Merkezi (UTEX) Austin- Amerika’ dan temin edilmiştir. Sentetik deniz suyu hazırlanarak (Tablo 3.1.), f/2 besi ortamı (Tablo 3.2.) ile zenginleştirilmiştir (ISO, 1995; Wen-Xiong Wang ve Robert, 2001; Zhou ve diğerleri, 1998). Kültürler 250 mL’lik erlenler içerisinde, 200 mL lik besi ortamında, 20 ± 2 ° C sıcaklıkta, $8 \pm 0,2$ pH’da üretilmiştir. Aydınlatma sistemi olarak ta ortalama ışık yoğunluğu 3500-4000 lux olan cool-white flouresan ve fluora lambalı iklim odası 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ayarında kullanılmıştır.

4-7 gün süreli akut toksisite testi boyunca organizma ve sudaki metal konsantrasyonu, biyoakümülyasyonu ve biyokonsantrasyon faktörü, klorofil-a ve hücre sayısındaki değişimler toksikolojik açıdan literatür değerleri ile bağlantı kurularak değerlendirilmiştir. Ayrıca suda kalan metal konsantrasyonları ölçülerek organizmaların metal giderim verimlilikleri de belirlenmiştir. Yapılan işlemler üçer kez tekrar edilmiştir.

3.2. Kültür Ortamı

3.2.1. Deniz Suyu Özellikleri (Sentetik Deniz Suyu)

Mikroalgler ile yapılan toksisite deneylerinde EPA (Environmental Protection Agency) tarafından önerilen Standart Akut Toksikite ve İnhibisyon Testleri olarak ISO-1995 (International Standardization Organization) önerilmektedir (Petersen ve Kusk, 2000).

ISO 1995 standardına göre hazırlanan deniz suyu 0,2 µm por çaplı membran filtreden geçirilip 121° C'ta 15 dakika sterile edilmiştir. Ardından 4 ° C sıcaklıkta, karanlıkta saklanmıştır.

Tablo 3.1. Sentetik Deniz Suyu (ISO 1995) ve Kullanılan Kimyasalların Markası

Kimyasal	Sentetik Deniz Suyundaki Konsantrasyonu (g/L)	Markası
NaCl	22	Merck
MgCl ₂ .6H ₂ O	9,7	Merck
Na ₂ SO ₄ (susuz)	3,7	Carlo Erba
CaCl ₂ (susuz)	1,0	Carlo Erba
KCl	0,65	Merck
NaHCO ₃	0,20	Merck
H ₃ BO ₃	0,023	Merck

Not: Tüm kimyasallar analitik saflıkta kullanılmıştır.

3.2.2. Besin Tuzu Ortamı ve Hazırlanması

Besin tuzları, sentetik deniz suyu içerisinde çözülerek 1 L'ye tamamlanmıştır. Ortam pH'sı ise 1 M HCl ya da 1M NaOH solüsyonu ile $8 \pm 0,2$ 'ye ayarlanarak otoklavda 121°C 'ta 20 dakika sterile edilmiştir. Ardından 4°C 'de, karanlıkta saklanmıştır.

Tablo 3.2. Kültür Ortamındaki (f/2) Nütrientlerin Konsantrasyonları ve Kullanılan Kimyasalların Markası (Wen-Xiong Wang ve Robert, 2001; Zhou ve diğerleri, 1998)

Kimyasal	Konsantrasyon (mg/L deniz suyu)	Markası
NaNO_3	75	Merck
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	5	Merck
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	12,9	Acros organics
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,01	Merck
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,022	Pancreak
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,01	BDH
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	0,18	Merck
$\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	3,15	Merck
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,06	Carlo Erba

3.3. Organizmaların Ekimi

Sterilize edilen besi ortamına Laminar-Flow steril ekim kabininde *D. tertiolecta* sıvı stok kültüründen mikro pipet ile $100\mu\text{L}$ alınarak sıvı besiyerine ekim yapılmıştır. *P. tricornutum* katı stok kültür steril sıvı besiyerine aktarılmıştır. Ekimi yapılan besi ortamları iklim odasında 3 ± 1 ile 7 ± 1 gün aralığında bekletilerek üremeleri gözlemlenmiştir (Resim 3.1., 3.2., 3.3.). Üreme esnasında erlenler günde iki kez el ile çalkalanmıştır. Üreyen organizmaların hücre yoğunluğu 10^4 hücre/mL mertebesine ulaştıktan sonra ortama metal ilave edilmiştir. Deney süresince verilen metalin organizmalarla etkileşimini arttırmak amacıyla erlenler 50 rpm(devir/dakika)'de çalkalayıcıda tutulmuştur (Tsvetnenko ve Evans, 2002; Terzaghi ve diğerleri, 1998).

Tablo 3.3. Toksisite Testlerinde Uygulanan Test Koşulları (Davy ve diğerleri, 2001)

Parametre	Test Koşulları
Test Türleri	Tek hücreli diatom <i>P.tricornutum</i> ve yeşil alg <i>D.tertiolecta</i>
Test Tipi	Statik
Test Süresi	96-168 saat
Kültür Ortamı	f/2 Ortamı
Sıcaklık	20±2 °C
pH	8±0,2
Işık özelliği	Cool-white flouresan ve fluora
Işık Yoğunluğu	60 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
Fotoperiyot Süresi	12 saat aydınlık: 12 saat karanlık
Test Ortamının Boyutu	250 mL'lik erlen
Nütrient/Test Solüsyonu Hacmi	200 mL
Test Türlerinin Yaşı	4-10 günlük
Her bir test Ortamındaki Organizma Sayısı	$\times 10^4$
Ölçülen Nihai Nokta	Hücre sayısı, büyüme oranı

**Resim 3.1.** İklim Odasında Yetiştirilen Alg Örnekleri-1



Resim 3.2. İklim Odasında Yetiştirilen Alg Örnekleri-2



Resim 3.3. Sıvı Besi Ortamında Üretilen Yeşil Alg *D. tertiolecta* ve Kahverengi Alg Diatom *P. tricornutum*'un Stokları

3.4. Kullanılan Malzemeler ve Teknik Ekipmanlar

3.4.1. Teknik Ekipmanlar

Çalışmada kullanılan tüm ekipmanlar kimyasal olarak inert materyalden yapılmıştır.

- **Sıcaklık Kontrollü İklim Odası** : Cool White flouresan + fluora kalitesinde ve yaklaşık 3500-4000 lux ışık şiddetinde 20 ± 2 ° C sıcaklığındadır
- **Thoma Lamı**
- **Binocular Işık Mikroskobu**
- **Membran Filtre:** Ortalama olarak 0,2 µm por çapındadır.
- **Santrifüj cihazı** Maksimum 4500-5000 rpm devir hızındadır.
- **AAS (Alevli Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre)**
- **Klima**
- **Hot Plate (ısıtıcı)**
- **Otoklav**
- **pH-metre**
- **Erlen:** 250 ve 500 ml'lik kapasiteli, konik camdan ve ısıya dayanıklıdır.

3.5. Sterilizasyon

Tüm cam malzemeler kullanım öncesi deterjan ile yıkanmış, saf sudan ve %10'luk yıkama asitinden (HNO₃) geçirilerek 121 ° C 'ta 15 psi basınçta 20 dakika sterile edilmiştir.

3.6. Test Metalleri

P. tricornutum ve *D. tertiolecta* organizmaları için toksik metal olarak seçilen bakır ve çinkonun pH= $8,2 \pm 0,2$ 'de 1000 ppm'lik stok CuCl₂ ve ZnCl₂ bileşikleri kullanılmıştır. Metallerin organizma ile temas süresi olarak ise 96 saat (4 gün) / 168 saat (7 gün) aralığı seçilmiştir (ISO 1995; OECD 1984). Mikroalgler ile yapılan laboratuvar çalışmalarında kimyasalların toksisitesini izlemeye USEPA komisyonu tarafından tavsiye edilen hem deniz hem de tatlı su canlıları için geliştirilmiş 72-96 saatlik standart büyüme inhibisyon testleri ISO, 1995 kullanılmıştır. (ISO 1995; OECD 1984).

3.7. Biyoakümülyasyon Deneyleri

Kısa süreli biyoakümülyasyon deneylerinde birinci aşamada bakır; çinko konsantrasyonları (5, 10, 20, 30, 50 mg/L); ikinci aşamada aynı metallerin daha düşük konsantrasyonları (0,05, 0,25, 0,5, 1, 1,5 mg/L); üçüncü aşamada ise daha düşük metal dozlarında azot (NH_4Cl) ve fosfor (NaH_2PO_4) kaynağı ($\text{NH}_4^+\text{-N}$: 0,5, 1, 5, 8, 10 mg/L ve $\text{PO}_4\text{-P}$: 0,01, 0,8, 2,5, 5, 10 mg/L) eklenerek çalışılmıştır (Tablo 3.4.). Çalışmaların tümünde her deney erleninden 25 mL metal analizi, 25 mL klorofil tayini ve 200 μL organizma sayımı için olmak üzere toplam 50.2 mL örnek alınarak analize kadar siyah renkli şişede buzdolabında bekletilmiştir. Belli aralıklar ile ortamdan alınan 25 mL'lik örnekler GF/C Glass Fibre Filtre kağıdından süzülerek toplam sindirim metoduna tabii tutulmuştur.

Biyoakümülyasyon deneylerinde birinci aşamada yüksek konsantrasyonda organizmaların metal alımı, hücre inhibisyon oranları ve klorofil içeriğindeki değişimler belirlenmeye çalışılmıştır.

İkinci aşamada daha düşük metal konsantrasyonunda organizmaların metal alımı, hücre inhibisyon oranları ve klorofil içeriğindeki değişimler hem normal koşulda hem de EDTA'lı koşulda belirlenmeye çalışılmıştır. Normal koşulda öncelikle alg örnekleri GF/C filtre kağıdından süzölmüş ve Toplam Sindirim Metoduna (A.P.H.A., A.W.W.A., 1995) tabii tutulmuştur. EDTA'lı koşulda ise alg örnekleri öncelikle 4000 rpm'de santriföjlenerek süspanse forma getirilmiştir. Örneklere 0,02 M EDTA çözeltisi eklenerek tekrar 4000 rpm'de santriföjlenmiştir. EDTA ilavesi ile alg hücrelerinin yüzeyine adsorblanan metal yıkanarak su fazına geçirilmiş ve organizmadan uzaklaştırılmıştır. Santriföjlenen bu örnekler GF/C filtre kağıdından süzölmüş ve Toplam Sindirim Metoduna (A.P.H.A., A.W.W.A., 1995) tabii tutulmuştur.

Üçüncü adımda ise düşük metal konsantrasyonunda ortamda organik madde varlığının organizmanın metal alımına, hücre inhibisyon oranlarına ve klorofil içeriğindeki değişimlere etkisi hem hücre yüzeyine adsorblanan metal hem de hücre içine alınan metal açısından değerlendirilmiştir.

Tablo 3.4. Biyoakümülyasyon Deneyleri Takip Sırası

Set Sayısı	Organizma Türü	Kullanılan Metal	Metal Konsantrasyonu (mg/L)	NH ₄ ⁺ Konsantrasyonu (mg/L)	PO ₄ Konsantrasyonu (mg/L)
1. AŞAMA					
1. SET	<i>P.tricornutum</i>	Cu	5-10-20-30-50	-	-
2. SET	<i>D.tertiolecta</i>	Cu	5-10-20-30-50	-	-
3. SET	<i>P.tricornutum</i>	Zn	5-10-20-30-50	-	-
4. SET	<i>D.tertiolecta</i>	Zn	5-10-20-30-50	-	-
2.AŞAMA					
5. SET	<i>P.tricornutum</i>	Cu	0,05- 0,25- 0,50 1- 1,50	-	-
5. SET <u>EDTA İLE</u> <u>YIKAMA</u>	<i>P.tricornutum</i>	Cu	0,05- 0,25- 0,50 1- 1,50	-	-
6. SET	<i>D.tertiolecta</i>	Zn	0,05- 0,25- 0,50 1- 1,50	-	-
6. SET <u>EDTA İLE</u> <u>YIKAMA</u>	<i>D.tertiolecta</i>	Zn	0,05- 0,25- 0,50 1- 1,50	-	-
3.AŞAMA					
7. SET	<i>D.tertiolecta</i>	Zn	0,05- 0,25- 0,50 1- 1,50	0,5-1-5-8-10	0,01-0,8-2,5-5-10
7. SET <u>EDTA İLE</u> <u>YIKAMA</u>	<i>D.tertiolecta</i>	Zn	0,05- 0,25- 0,50 1- 1,50	0,5-1-5-8-10	0,01-0,8-2,5-5-10
8. SET	<i>P.tricornutum</i>	Cu	0,05- 0,25- 0,50 1- 1,50	0,5-1-5-8-10	0,01-0,8-2,5-5-10
8. SET <u>EDTA İLE</u> <u>YIKAMA</u>	<i>P.tricornutum</i>	Cu	0,05- 0,25- 0,50 1- 1,50	0,5-1-5-8-10	0,01-0,8-2,5-5-10

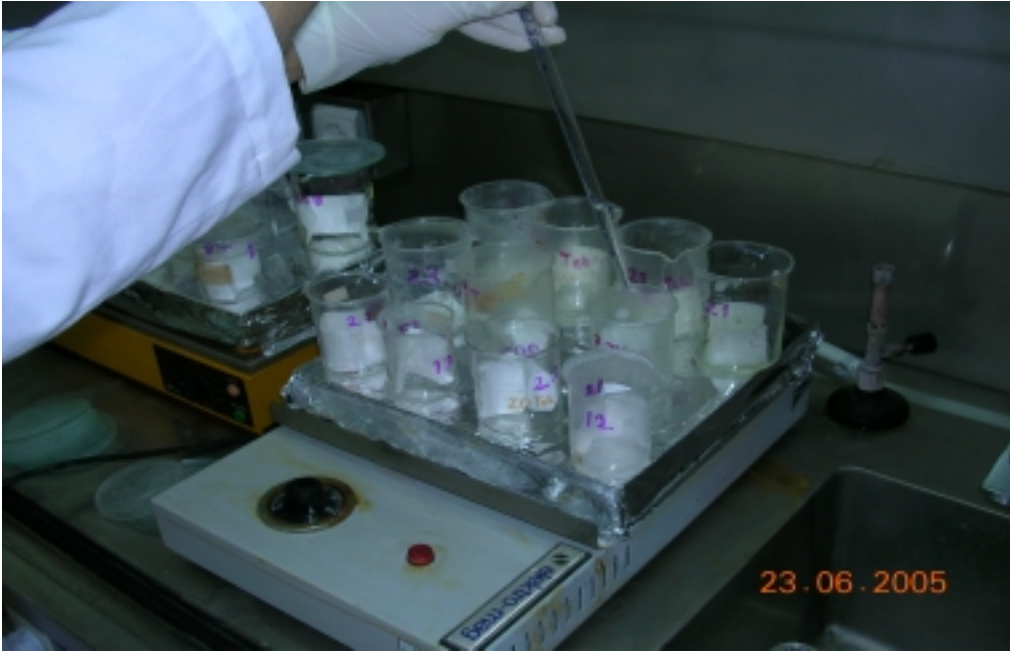
3.8. Toplam Sindirim Metodu

Algleri bulundukları ortamdan süzmek amacıyla GF/C Glass Fibre Filtre kağıtları kullanılmıştır. Filtre kağıtları öncelikle 103 °C' ta 1 st kurutulup desikatörde sabit tartıma gelmesi için 20 dk bekletildikten hemen sonra tartılmıştır. Belli aralıklar ile ortamdan alınan 25 mL'lik örnekler kurutulmuş GF/C Glass Fibre Filtre Kağıdından geçirilmiş ve ardından tekrar 103 °C' ta 1 st kurutulup desikatörde sabit tartıma gelmesi için 20 dk bekletildikten hemen sonra tekrar tartılmıştır. Bu işlem sonucunda filtre kağıdının tutabildiği alg miktarı gram cinsinden hesaplanmıştır. Filtre kağıtları bu ön işleminden geçirildikten sonra toplam sindirim işlemine geçilmiştir.

- Ön işleminden geçirilen filtre kağıtları 50 mL'lik beherlere yerleştirilmiştir. Her behere 10 mL HNO₃ (70 % w/w) ilave edilmiş ve üstleri saat camı ile kapatılarak 30 dk boyunca yavaşca ısıtılmıştır.
- Isıtma, organikler tamamen parçalanıncaya kadar sürdürülür ki bu da HNO₃'ün solgun renginin gözlenmesi ile anlaşılır.
- Soğumuş olan karışıma önce 5 mL HF ve daha sonra 5 mL HClO₄ eklenmiştir.
- Beherdeki karışım yaklaşık 20 dk boyunca, ağızları saat camı ile kapatılarak, ısıtıcıda kaynatılmıştır.
- Belirtilen süre sonunda beherlerin kapakları açılır ve HClO₄'ün buharlaşması sağlanmıştır.
- Beherlere yeniden 5 mL HF eklenerek kuru, sarı bir çökelek elde edilinceye kadar yaklaşık yarım st kaynatılmıştır.
- Bu çökelege 10 mL 1 M HCL eklenmiş ve yarım st ısıtılarak çözünmesi sağlanmıştır.
- Kalan kısım saf su ile 25 mL'ye tamamlanmış ve Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre (Unicam 929 AA) ile analize kadar soğuk odada saklanmıştır (A.P.H.A., A.W.W.A., 1995) (Resim 3.4., 3.5., 3.6.).



Resim 3.4. Metal Sindirimi İşleminde Çeker Ocakta Yapılan Asit İlave İşlemi-1



Resim 3.5. Metal Sindirimi İşleminde Çeker Ocakta Yapılan Asit İlave İşlemi-2



Resim 3.6. Hot-Plate Üzerinde Metal Sindirimi Yapılmakta Olan Örnekler

3.9. Atomik Absorbsiyon Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması

Cu ve Zn metalinin 1000 ppm'lik ana stoklarından hazırlanan Cu için 0,5-1-2-5-10 mg/L'lik, Zn için 0,25-0,5-1-2-4 mg/L'lik standartları okutularak otomatik kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Cu ve Zn için atomik absorbsiyon ölçüm koşulları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 3.5. AAS Ölçüm Koşulları ve Konsantrasyon Ölçüm Aralıkları (A.P.H.A., A.W.W.A., 1985).

Element	Lamba akımı (mA)	Dalgaboyu (nm)	Gaz Türü	Belirleme Limiti (mg/L)	Duyarlılığı (mg/L)	Optimum Konsantrasyon Aralığı (mg/L)
Cu	5	324,7	A-Ac	0,01	0,1	0,2-10
Zn	10	213,9	A-Ac	0,005	0,02	0,05-2

A-Ac: Hava-Asetilen

3.10. Klorofil Tayini

3.10.1. Alg Hücrelerinin Deney Ortamından Ayrılması

Deney ortamından alınan örnekler Whatman GF/C, por ölçüsü 0,45 µm olan süzgeç kağıdından vakum pompası kullanılarak tamamen süzülünceye kadar kurutulmuştur.

3.10.2. Ekstraksiyon

Pigmentler fotosentez yapmaya çok hassas olduğu için ekstrakt hazırlık esnasında mümkün olduğu kadar az ışığa maruz kalması sağlanmıştır. Aynı marka / kalitede süzgeç kağıdı ve aseton kullanılmıştır.

Öncelikle alglerin birikmiş olduğu süzgeç kağıdı santrifüj tüpüne yerleştirilmiş ve üzerine 10 mL %90'lık aseton ilave edilmiştir. Aynı şekilde %90'lık aseton bir tüpe konarak standart olarak kullanılmıştır. Santrifüj tüpleri kuvvetlice sallanarak süzgeç kağıdının çözücü içinde çözünmesi sağlanmış, alüminyum folyo ile kaplanarak 20-24 st karanlıkta buzdolabında saklanmıştır. Ekstraksiyon periyodundan sonra eğer çözücü buharlaşırsa hacim 10 mL'ye %90'lık aseton ile tamamlanmıştır. Örnekler ile birlikte kör tüp 5-10 dk boyunca 4000-5000 rpm'de santrifüj edilerek 630, 645, 665 nm'de absorbansları ölçülmüştür (A.P.H.A., A.W.W.A.,1995). 10 mm'lik ışık yolu ve absorbans(D) ölçümleri kullanılarak mg/L'deki klorofil a (C_a) konsantrasyonu 10 nolu denklem ile, buna göre mg/L'deki pigment konsantrasyonu da (11) nolu denklem ile hesaplanmıştır.

$$C_a = 11.6 \times D_{665} - 1.31 \times D_{645} - 0.14 D_{630} \quad \dots(10) \text{ (A.P.H.A., A.W.W.A., 1995).}$$

D_{630} : 630 nm dalga boyundaki absorbans

D_{645} : 645 nm dalga boyundaki absorbans

D_{665} : 665 nm dalga boyundaki absorbans

C_a : Klorofil-a pigment konsantrasyonu

Nicel spektrofotometre, bir maddenin absorbansının o maddenin konsantrasyonuna bağlı olduğu gerçeğini temel almaktadır. Buna göre hacmi bilinen sıvı kültürdeki klorofil a konsantrasyonu 10mm'lik küvetler ile 11 nolu denklemden hesaplanmıştır.

$$\text{Klorofil } a (\text{mg} / \text{m}^3) = \frac{(C_a) \times (V_a)}{(V_c)} \dots\dots\dots(11) \text{ (A.P.H.A., A.W.W.A., 1995)}$$

(V_a) : 1 mL'deki aseton çözücüsünün hacmi

(V_c) : Litredeki kültürün orijinal hacmi

3.11. Hücre Sayımı

P.tricornutum ve *D. tertiolecta* organizmaları üzerinde metallerin etkisi kesikli sistem kullanılarak çalışılmıştır. Hücre sayımı için çeşitli teknikler bulunmaktadır. Hücre sayımında elektronik partikül sayıcı, hemasiyometre, 10⁴ mertebesinde hücre sayımı yapabilen turbidimetre veya spektrofotometre veya da Thoma Lamı yöntemi kullanılmaktadır. Ölçüm yöntemlerinden Thoma Lamı yöntemi kullanılmıştır.

Kültür süspansiyonu iyice çalkalandıktan sonra steril bir pipetle içerisinden 1 mL alınarak steril bir tüpe konmuş, üzerine 9 mL 1/10 oranında seyreltilmiş H₂SO₄ ilave edilerek iyice çalkalanmıştır. Steril mikro pipetle sayıma hazırlanmış kültürlerden 200 µL alarak Thoma lamının sayım yapılacak kısmı üzerine konup lamelle kapatılarak Thoma lamı mikroskop tablasına yerleştirilmiştir. Thoma lamı üzerinde görülen her biri kendi içinde 25 küçük kareye bölünmüş olan 16 büyük karenin çapraz olarak 8 adedine mikroorganizmaları en az 5 defa sayarak ortalamaları alınmıştır. Ardından 16 karede bulunan miktarı hesaplanmıştır. Bulunan sayı 10000 ile ve sonuç da 1/10 olan seyreltme faktörü ile çarpılarak 1 mL'deki organizma sayısı 12 nolu denklem ile bulunmuştur. Buna göre;

$$1 \text{ ml'deki mikroorganizma sayısı} = a \times 10000 \times \text{seyrelme faktörü} \dots(12) \text{ (A.P.H.A., A.W.W.A., 1995).}$$

Burada a, Thoma Lamı üzerinde sayılan mikroorganizma sayısını göstermektedir.

3.12. Kullanılan Ampirik Formüllerin Örnek Hesapları

3.12.1. Biyoakümülyasyon ve Biyokonsantrasyon Faktörleri

BA ve BCF bir maddenin toksisitesini ölçmek için önemli bir değişkendir ve bu değerler ekosistemdeki kimyasalların dağılım oranlarının yorumlanması için yardımcı verilerdir. Bu sebeplerden dolayı da risk değerlendirmesi ve modelleme çalışmaları için anahtar parametrelerdir (Ercan, 1994).

BA ve BCF'yi denklem (4) ve (5) ile hesaplanan matematiksel ifadeler doğrultusunda bir örnek ile şöyle hesaplayabiliriz.

Başlangıç Kuru Filtre Kağıdı Ağırlığı: 0,9530 g

Süzülme İşlemi Sonunda Filtre Kağıdı Ağırlığı: 1,0125 g

g Organizma Kuru Ağırlığı: 0,0595 g

AAS Sonucu : 0,320 mg/L

mg metal / g organizma: 6,40 mg Cu / g organizma

Besi Ortamında Kalan Metal Konsantrasyonu: 0,063 mg/L

$$BA = \frac{0,320 \times 25 \times 100}{0,0595} = 16000 \mu g Cu / gorganizma$$

$$BCF = \frac{16000 \mu g Cu / gorganizma}{0,063 mg / L} = 253968$$

3.12.2. Klorofil

Süzülen Numune Hacmi (V_c): 50 mL

Eklenen %90'lık Aseton Hacmi (V_a): 10 mL

630 nm, 645 nm ve 665 nm dalga boylarındaki absorbanslar aşağıdaki denklemde yerine konarak klorofil-a pigment değeri bulunur.

Denklem (10) kullanılarak klorofil-a pigment değeri bulunur.

$$C_a = 2,95$$

Denklem (11) kullanılarak klorofil-a konsantrasyonu bulunur.

$$\text{Klorofil- a (mg/m}^3\text{)} = \frac{2,95 \times 20}{50} = 1,18 \text{ mg / m}^3$$

3.12.3. Spesifik Büyüme Oranı (μ , saat⁻¹)

$$\mu = \frac{\ln X_t - \ln X_0}{t} \dots\dots\dots(13) \text{ (ISO, 1995)}$$

X_t : t anında hücre sayısı (hücre sayısı / mL), Thoma Lamından elde edilen sonuçlardan

X_0 :Başlangıçtaki hücre sayısı (hücre sayısı / mL),

t: Deney boyunca geçen süre (saat)

Thoma Lamından elde edilen sonuçlardan,

$$X_t = 5 \times 10^4 \text{ hücre / mL}$$

$$X_0 = 8 \times 10^4 \text{ hücre / mL}$$

$$\mu = \frac{\ln(5 \times 10^4) - \ln(8 \times 10^4)}{168 \text{ saat}} = -0,0104 \text{ saat}^{-1}$$

3.12.4. İnhibisyon Oranı

$$I = \frac{\mu_c - \mu_t}{\mu_c} \times 100 \dots\dots\dots(14) \text{ (ISO, 1995)}$$

μ_c : Kontrol Grubu Organizmalarının Deney Süresince Ortalama Büyüme Oranı, saat⁻¹

μ_t : Belli bir dozda metal verilen organizma grubunun Ortalama Büyüme Oranı, saat⁻¹

$$I = \frac{(0,0065) - (0,0083)}{(0,0065)} \times 100 = 28\%$$

3.12.5. Adsorblanan ve Hücre İçine Alınan Metal Miktarının Hesaplanması

Biyoakümüülasyon deneylerinde 5-6-7-8.'ci setlerde metal sindirim işlemi öncesinde alg örnekleri hem rutin süzme işlemi; hem de süzme işlemi ve ardından 0,02 M'lık EDTA çözeltisi ile yıkama işlemine tabii tutulmuştur. Hem normal hem de EDTA'lı filtre kağıtlarına toplam sindirim metodu uygulanmıştır. Normal sindirim sonucu elde edilen değerler, alg tarafından alınan "**Toplam metal**" miktarını; EDTA ile muamele edilen örneklerin sindirim sonuçları ise yalnızca "**Hücre içine alınan metal miktarını**" temsil etmektedir. Buna göre ;

$$\begin{array}{lcl} \text{Organizmanın Aldığı} & = & \text{Hücre Yüzeyine Adsorbe Edilen} + \text{Hücre İçine Alınan} \\ \text{Toplam Metal} & & \text{Metal Miktarı} \quad \quad \quad \text{Metal Miktarı} \end{array}$$

.....(15)

Bu denklemde, normal sindirim sonuçları organizmanın aldığı toplam metal miktarını; EDTA ile muamele + sindirim sonuçları ise hücre içine alınan metal miktarını ifade etmektedir (Garrido Moreno ve diğerleri, 2000; Torres ve diğerleri, 1998). Dolayısı ile adsorblanan metal miktarı şu şekilde bulunmaktadır:

$$\begin{array}{lcl} \text{Hücre Yüzeyine Adsorbe Edilen} & = & \text{Organizmanın Aldığı} - \text{Hücre İçine Alınan} \\ \text{Metal Miktarı} & & \text{Toplam Metal} \quad \quad \quad \text{Metal Miktarı} \end{array}$$

.....(16)

Toplam Metal Miktarı (mg metal / g organizma) = 18,70 mg / g

Hücre içine Alınan Metal Miktarı (mg metal / g organizma) = 6,860 mg/g

Hücre Yüzeyine Adsorbe Edilen Metal Miktarı(mg metal / g organizma) = 18,70 –6,860
= 11,84 mg metal / g organizma olarak bulunmaktadır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. 1.Set, Sentetik Deniz Suyunda *Phaeodactylum tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti

Tablo 4.1.'dan görüldüğü gibi 4 günlük deney periyodu boyunca metal alımı ile organizma sayısında azalmalar olmuştur. Bu sebeple klorofil konsantrasyonlarında da bir düşüş söz konusudur. Klorofil konsantrasyonundaki en yüksek düşüş %63 oranında 5 mg/L'lik bakır konsantrasyonunda görülmüştür.

BA değerlerinde artış görülmektedir. Organizma yaşadığı ortamdan metali sürekli hücre içine alarak biriktirmekte ve daha sonra kullanmak üzere depolamakta, arta kalan miktarını ise atmaktadır. Bu sebeple maruziyet süresi ve metal konsantrasyonu arttıkça BA'da artışlar olmaktadır (Tablo 4.1.). Organizma metal konsantrasyonu açısından kendi protoplazmasından daha yoğun bir ortamda bulunduğu metal akım yönü ortamdan hücreye doğrudur. Zamanla hücre içine alım devam ettikçe hücre içi ve hücre dışı ortam arasında metal konsantrasyonu açısından bir denge oluşmaktadır. Dolayısı ile bu denge oluştuğunda hücresel membrandan içeri metal alımı yavaşlamaktadır. Bu durumda organizmanın hücre zarındaki gözeneklerden metali hücre içine süzerek alması yani biyolojik olarak konsantre edebilme kabiliyeti (BCF) azalmaktadır. Tablo 4.1.'den BCF değerlerindeki azalışlar görülmektedir. En yüksek BCF değerleri, kontrol grubu organizmalarında gerçekleşmiştir. Kontrol gruplarında ortamda dışarıdan verilen ekstra metal olmadığından ortam konsantre değildir. Bu sebeple organizma metali hücre zarından kolaylıkla süzerek içeri alabilmektedir. Torres ve diğerleri 1998, *P.tricornutum*'da kadmiyum metalinin düşük ve yüksek konsantrasyonlarında çalışmışlardır. Düşük konsantrasyonlarda hücre içi metalin maruziyet süresinin fonksiyonu olarak lineer şekilde arttığını, daha yüksek konsantrasyonlarda ise yalnız ilk 2 gün lineer artışın olduğunu ve sonrasında hücre içi metalin azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca maruziyet süresi arttıkça da biyokonsantre edilebilen metal miktarında da azalmalar görülmüştür. Ortamdaki metal konsantrasyonu arttıkça biyoakümülyasyonda ve inhibisyon oranlarında artışlar gözlemlenmiştir (Torres ve diğerleri, 1998).

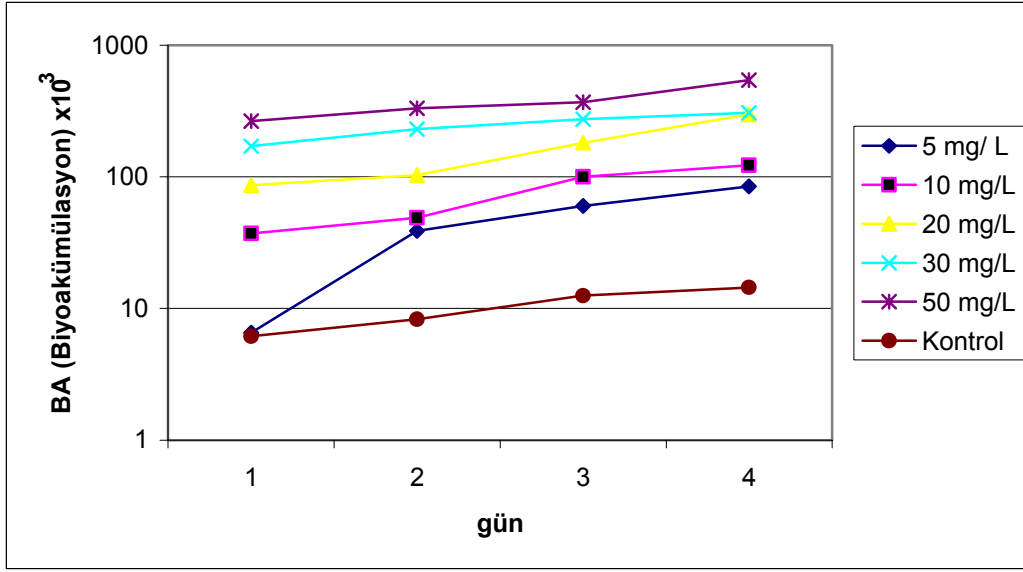
Inhibisyon oranlarına bakıldığında ise, yalnızca 5 mg/L'lik konsantrasyonda inhibisyonun olmadığı; diğer yüksek konsantrasyonlarda ise artan inhibisyon oranları görülmektedir (Tablo 4.2.). Büyüme oranlarına bakıldığında ise 10-20-30-50 mg/L'lik

konsantrasyonlardaki büyüme oranları kontrol grubunun büyüme oranlarından küçüktür. Artan metal konsantrasyonu hücre büyümesini azaltarak, hücrelerin inhibe olmasına yol açmıştır. Organizmaya metal alımı arttıkça meydana gelen hücresel hasarlar sebebiyle inhibisyon oranları %20-30 seviyesine çıkmıştır.

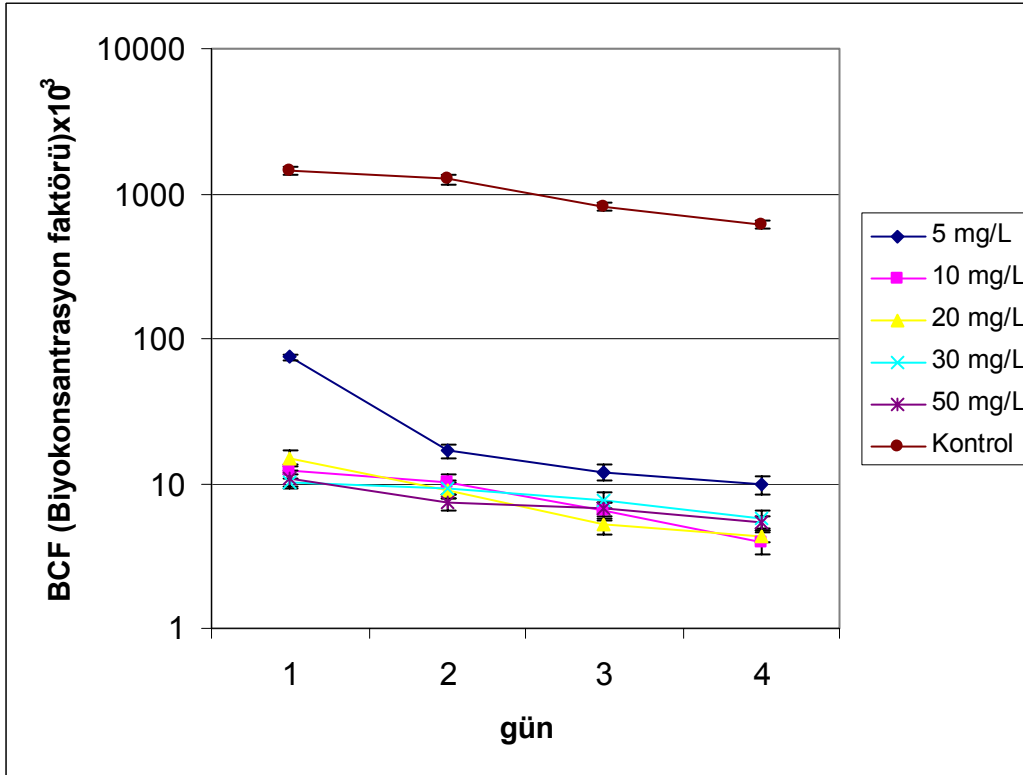
Tablo 4.1. 1. Set, Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı (Hücre/ml) $\times 10^4$	Deney Sonrası Hücre Sayısı (Hücre/ml) $\times 10^4$	BA** ($\mu\text{g/g}$) $\times 10^3$	BCF $\times 10^3$	Klorofil (mg/m^3)
1. Gün	5	25	23	$6,53 \pm 0,85$	$74,23 \pm 4,12$	$1,08 \pm 0,05$
2.Gün			22	$38,87 \pm 2,72$	$16,95 \pm 1,85$	$0,76 \pm 0,05$
3.Gün			21	$60,25 \pm 2,95$	$12,05 \pm 1,62$	$0,74 \pm 0,05$
4.Gün			20	$84,78 \pm 4,20$	$9,79 \pm 1,28$	$0,40 \pm 0,03$
1. Gün	10	36	20	$37,19 \pm 1,82$	$12,21 \pm 1,37$	$0,65 \pm 0,05$
2.Gün			22	$48,96 \pm 3,56$	$10,01 \pm 1,48$	$0,37 \pm 0,03$
3.Gün			17	$100,11 \pm 5,65$	$6,53 \pm 0,93$	$0,34 \pm 0,03$
4.Gün			15	$122,12 \pm 9,82$	$3,88 \pm 0,66$	$0,34 \pm 0,02$
1. Gün	20	57	44	$86,47 \pm 4,85$	$14,98 \pm 1,88$	$0,60 \pm 0,05$
2.Gün			44	$102,88 \pm 6,76$	$9,08 \pm 1,10$	$0,59 \pm 0,04$
3.Gün			23	$181,59 \pm 10,43$	$5,14 \pm 0,63$	$0,41 \pm 0,05$
4.Gün			21	$299,62 \pm 20,46$	$4,32 \pm 0,45$	$0,38 \pm 0,05$
1. Gün	30	37	35	$170,56 \pm 9,51$	$10,23 \pm 1,13$	$0,60 \pm 0,06$
2.Gün			31	$231,60 \pm 19,72$	$9,17 \pm 1,35$	$0,42 \pm 0,05$
3.Gün			22	$275,30 \pm 21,20$	$7,72 \pm 1,03$	$0,37 \pm 0,04$
4.Gün			19	$307,08 \pm 24,17$	$5,68 \pm 0,82$	$0,32 \pm 0,04$
1. Gün	50	64	51	$265,21 \pm 18,30$	$10,86 \pm 1,36$	$0,41 \pm 0,05$
2.Gün			47	$333,31 \pm 26,32$	$7,37 \pm 0,94$	$0,40 \pm 0,03$
3.Gün			37	$368,93 \pm 30,23$	$6,66 \pm 0,82$	$0,39 \pm 0,03$
4.Gün			21	$543,11 \pm 43,85$	$5,30 \pm 0,60$	$0,31 \pm 0,02$
1. Gün	Kontrol	33	23	$6,16 \pm 0,78$	$1447,08 \pm 110,56$	$0,84 \pm 0,02$
2.Gün			20	$8,25 \pm 0,96$	$1253,26 \pm 96,16$	$0,81 \pm 0,02$
3.Gün			31	$12,53 \pm 1,57$	$825,64 \pm 52,13$	$0,84 \pm 0,02$
4.Gün			31	$14,47 \pm 1,63$	$616,19 \pm 40,78$	$0,59 \pm 0,01$

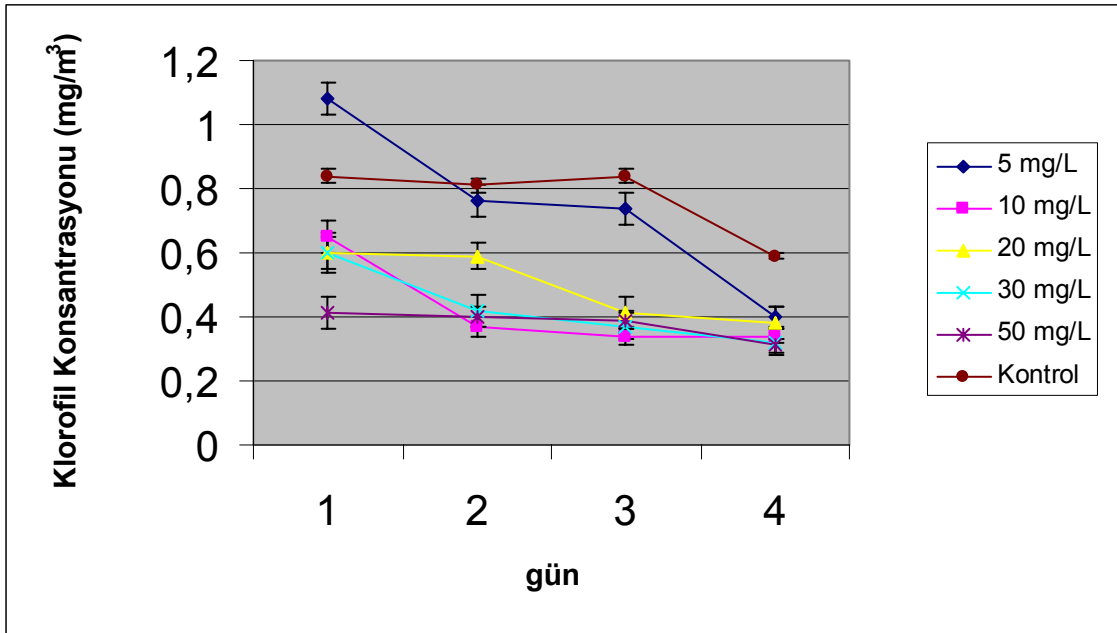
BA** : ($\mu\text{g Cu /g organizma}$)



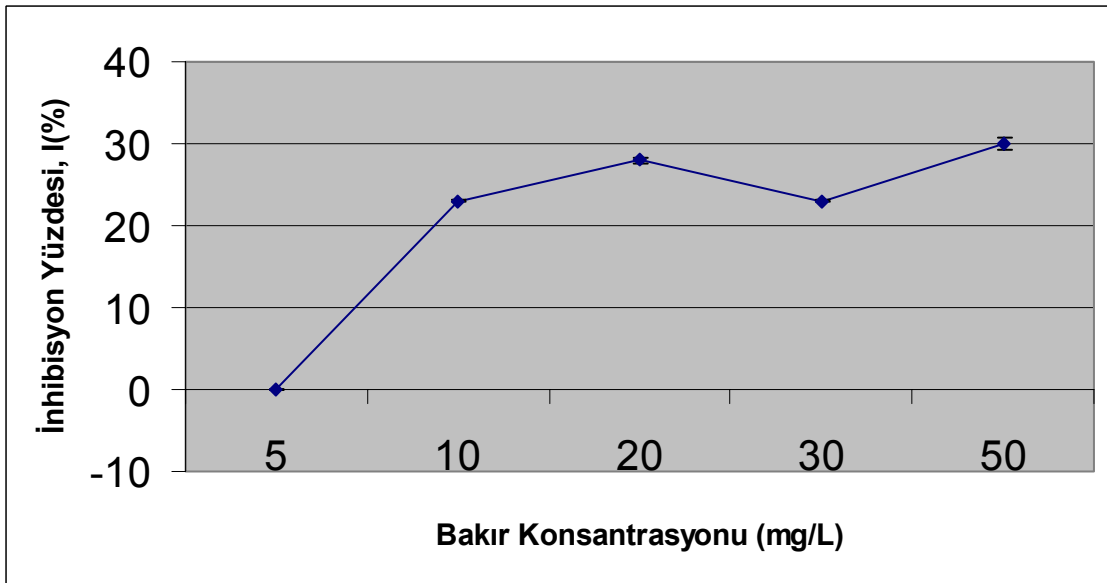
Şekil 4.1. 1. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BA Değerleri



Şekil 4.2. 1. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BCF Değerleri



Şekil 4.3. 1. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Klorofil Değerleri



Şekil 4.4. 1. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen İnhibisyon Değerleri

Tablo 4.2. 1. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Değerleri

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat ⁻¹	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün 2.Gün 3.Gün 4.Gün	5	-0,024 $\pm$ 0,0040 -0,010 $\pm$ 0,0014 -0,010 $\pm$ 0,0009 -0,009 $\pm$ 0,0010	I<1 inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,0001
1. Gün 2.Gün 3.Gün 4.Gün	10	-0,0050 $\pm$ 0,0007 -0,0045 $\pm$ 0,0006 -0,0056 $\pm$ 0,0007 -0,0051 $\pm$ 0,0006	23 $\pm$ 0,18
1. Gün 2.Gün 3.Gün 4.Gün	20	-0,0100 $\pm$ 0,0010 -0,0002 $\pm$ 0,00003 -0,0126 $\pm$ 0,0009 -0,0104 $\pm$ 0,0010	28 $\pm$ 0,32
1. Gün 2.Gün 3.Gün 4.Gün	30	-0,0025 $\pm$ 0,0002 -0,0036 $\pm$ 0,0004 -0,0072 $\pm$ 0,0009 -0,0069 $\pm$ 0,0010	23 $\pm$ 0,13
1. Gün 2.Gün 3.Gün 4.Gün	50	-0,009 $\pm$,0010 -0,006 $\pm$ 0,0010 -0,007 $\pm$ 0,007 0,012 $\pm$ 0,0012	30 $\pm$ 0,76
Kontrol	-	-0,015 $\pm$ 0,0010 -0,010 $\pm$ 0,0010 -0,001 $\pm$ 0,0001 0,000 $\pm$ 0,0001	Metal uygulanmadı

4.2. 2. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti

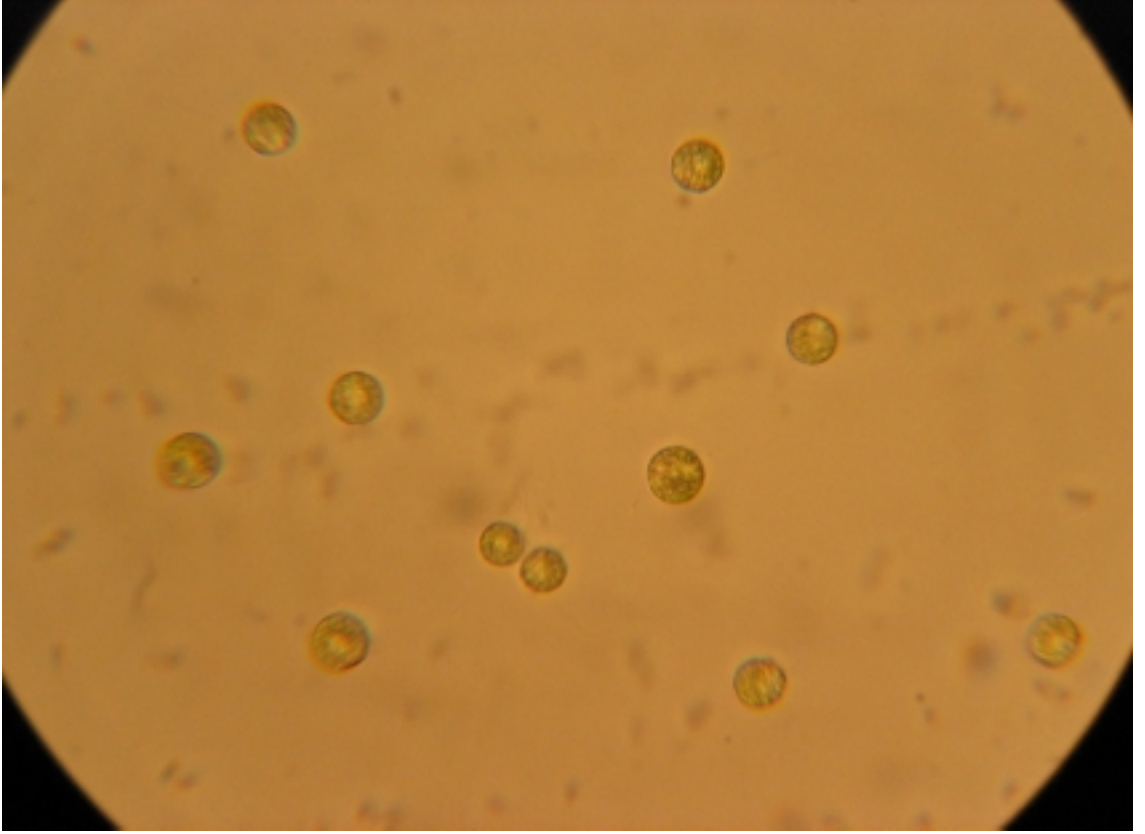
Metal maruziyeti arttıkça hücre sayılarında düşüş gözlemlenmiştir. Buna karşın, BA'da artışlar söz konusudur (Şekil 4.5.). Organizma ölümü olsa da hücre yüzeyine adsorbsiyon devam etmektedir. Hücre yüzeyine adsorbsiyonda organizmanın enerjiye gereksinimi olmadığından ve ölü hücre yüzeyleri metali adsorbe edebildiğinden BA değerlerinde artışlar görülmüştür. En yüksek BA değerine 50 mg/L konsantrasyonunda ulaşılmıştır, metal konsantrasyonu azaldıkça BA değerlerinde de azalmalar olmuştur (Şekil 4.5.). BCF değerlerinde de düşüş gözlemlenmiştir (Tablo 4.3.). Ortamdaki hücre ölümü sebebiyle klorofil değerlerinde de azalmalar olmuştur. Klorofil konsantrasyonundaki en büyük düşüş inhibisyon değerinin %25 olduğu 5 mg/L bakır konsantrasyonunda %78 olarak bulunmuştur. Resim 4.1. ve Resim 4.2.'de sırasıyla sağlıklı *D. tertiolecta* hücreleri ile metale maruz kalmış hücreleri görülmektedir. 5 mg/L'den yüksek olan bakır konsantrasyonlarında inhibisyon olmamıştır. Buna karşın 5 mg /L'lik bakır konsantrasyonunda inhibisyonun meydana gelmesi, düşük metal konsantrasyonlarında daha çok hücre içine alım mekanizmasının, yüksek metal konsantrasyonlarında ise hücre yüzeyine adsorbsiyon mekanizmasının daha aktif olduğunu göstermiştir. Düşük konsantrasyonlarda organizmaların hücresel membranları tıpkı bir filtre gibi ortamdaki metali süzerek içeri almakta, yüksek konsantrasyonda ise meydana gelen hücresel ölümler sebebiyle organizma kendisini metal toksisitesinden korumak amacıyla metali hücre yüzeyine adsorblamaktadır.

Metaller, hücre yüzeyi üzerindeki +2 değerlikli moleküllerin fonksiyonel grupları ile iyon değişimi yaparak hücre duvarına bağlanırlar. Hücre duvarı üzerinde çökerek çözünmeyen metal bileşikleri olarak depolanırlar. Depolanma işlemi sonucunda hücre yüzeyinde yoğun bir elektrogranüler tabaka meydana gelir. Elektrogranüler tabaka, metallothionein adı verilen spesifik moleküllere bağlanan metal deposudur ve sitoplazmayı yüksek metal konsantrasyonlarından koruyarak detoksifikasyon mekanizması olarak görev yapar. Bu sayede de metalin hücreye zararlı olan formda birikmesini önler (Torres ve diğerleri, 2000).

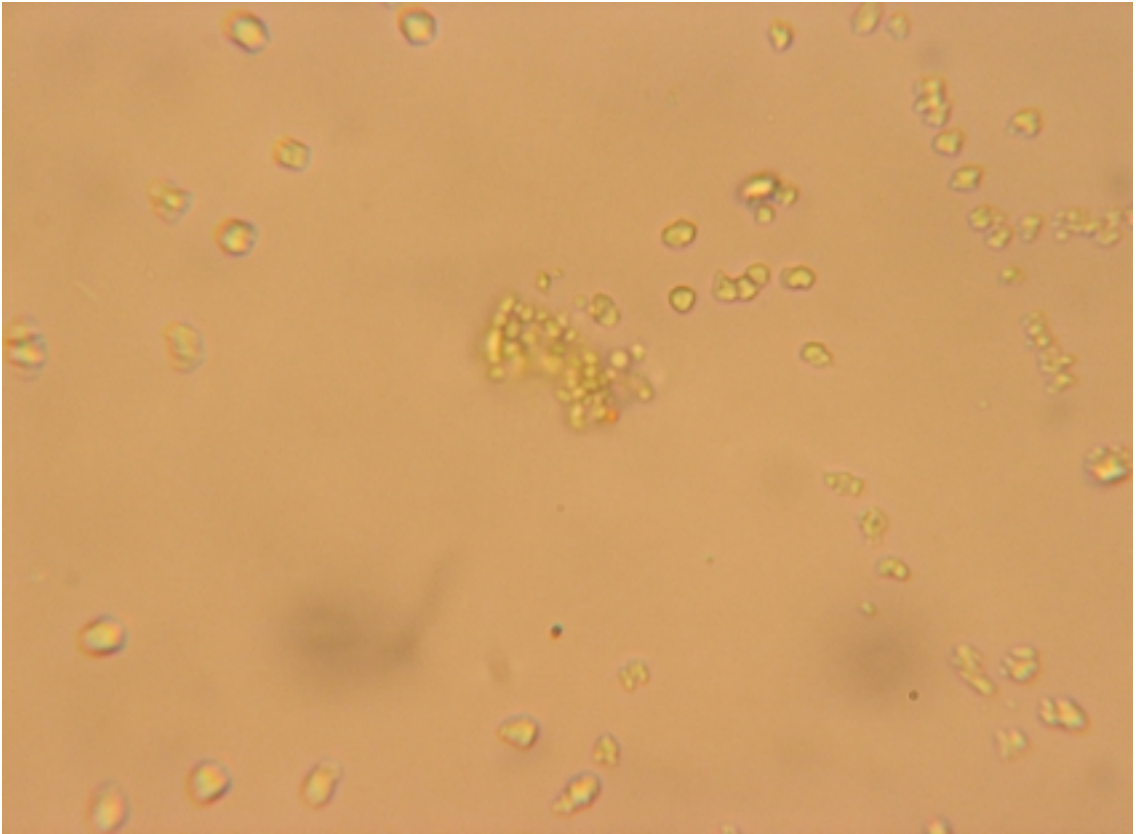
Yüzeye adsorbsiyon dışında metali kendisine bağlayacak genel adı metallothionein olan proteinler sentezlemektedirler. Phytocelatin (sekonder metabolit) bu protein sınıfına girmektedir. Bu sayede hücre içine metal girişi kısıtlanmaktadır (Torres ve diğerleri, 2000). Bu durum 5 mg/L'lik bakır konsantrasyonunda

inhibisyonun %25 oranında, daha yüksek bakır metali konsantrasyonlarında ise %0 olmasının sebebini ortaya koymaktadır.

Düşük bakır konsantrasyonlarında (0,05-0,25-0,50-1-1,50 mg/L) *D.tertiolecta*' da yüksek BCF değerleri, metabolizmanın aktif alım sürecinde ve hücre yüzeyinde de meydana gelen adsorbsiyonun bir sonucudur. Buna karşın, yüksek bakır konsantrasyonunda (5-10-20-30-50 mg/L) BCF değerlerindeki düşüş, yalnız hücre yüzeyine adsorbsiyonun sonucudur. Yüksek konsantrasyonda eklenen bakır gereğinden fazla hücresel ligand üretimini uyararak hücre içi metal birikimini önlemektedir (Ercan, 1994).



Resim 4.1. Sağlıklı *D. tertiolecta* Hücreleri

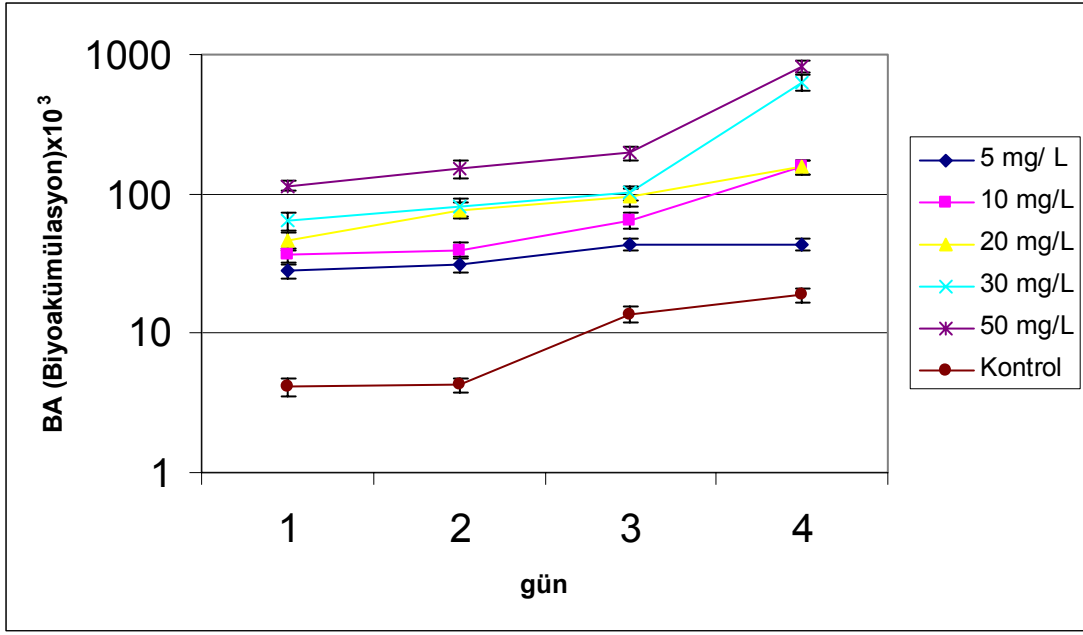


Resim 4.2. Metale Maruz Kalmış *D. tertiolecta* Hücreleri

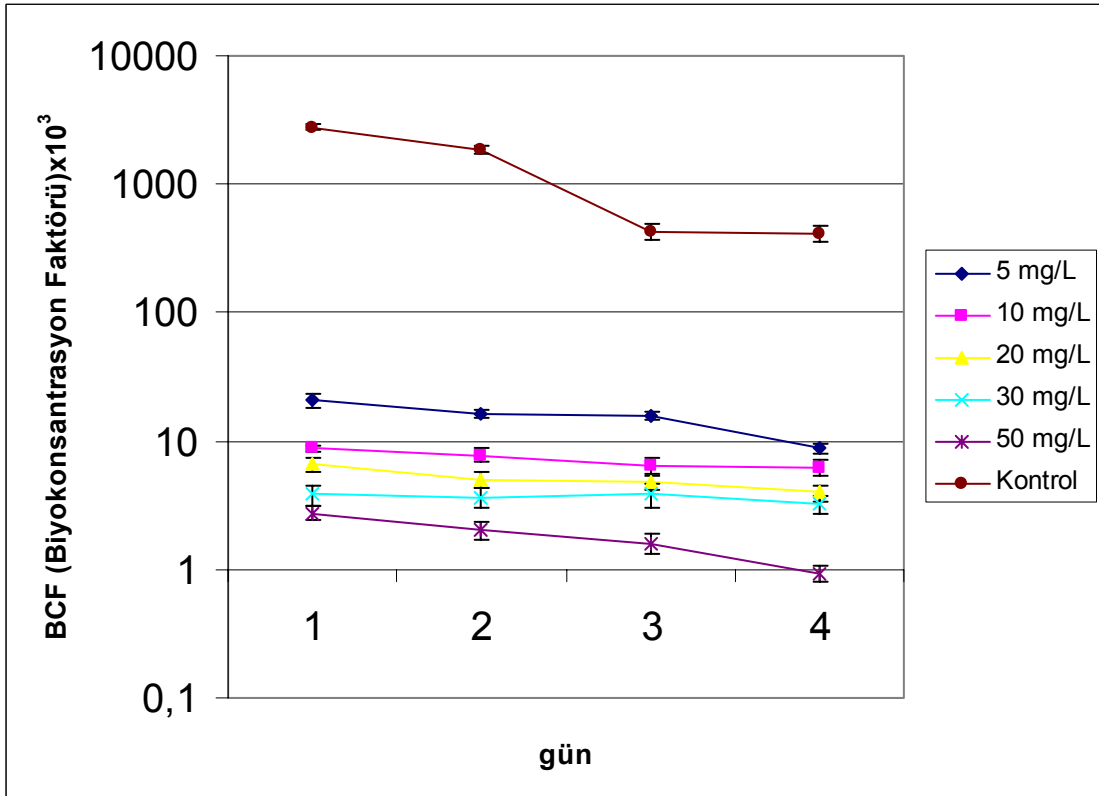
Tablo 4.3. 2. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı (Hücre/ml) x 10 ⁴	Deney Sonu Hücre Sayısı (Hücre/ml) x 10 ⁴	BA ** (µg/g) x 10 ³	BCF x 10 ³	Klorofil (mg/m ³)
1. Gün	5	20	8	27,71±3,23	20,93±2,52	0,55±0,01
2.Gün			8	30,89±3,58	16,40±1,22	0,29±0,008
3.Gün			8	43,53±4,86	15,52±1,15	0,19±0,007
4.Gün			4	43,83±4,72	8,76±0,83	0,12±0,005
1. Gün	10	20	10	36,45±4,22	8,70±0,52	0,47±0,01
2.Gün			5	39,81±4,62	7,78±0,92	0,47±0,01
3.Gün			5	65,23±8,7515	6,52±0,90	0,28±0,01
4.Gün			4	5,28±16,12	6,17±0,89	0,12±0,005
1. Gün	20	8	4	46,17±6,38	6,53±0,81	0,28±0,010
2.Gün			5	76,32±10,23	5,00±0,66	0,21±0,020
3.Gün			7	94,85±13,67	4,74±0,63	0,11±0,012
4.Gün			5	155,63±18,20	3,98±0,57	0,06±0,009
1. Gün	30	9	3	64,69±9,33	3,81±0,65	0,31±0,020
2.Gün			4	80,47±11,20	3,64±0,61	0,08±0,009
3.Gün			3	101,49±12,25	3,81±0,80	0,05±0,009
4.Gün			3	627,97±80,20	3,23±0,53	0,05±0,009
1. Gün	50	5	1	114,53±10,38	2,74±0,34	0,03±0,0055
2.Gün			3	150,17±20,70	2,03±0,30	0,03±0,0062
3.Gün			3	196,18±22,62	1,61±0,28	0,01±0,0016
4.Gün			1	820,05±85,30	0,92±0,13	0,02±0,004
1. Gün	Kontrol	14	9	4,12±0,65	2771,46±150,80	0,18±0,012
2.Gün			8	4,26±0,52	1872,48±122,36	0,17±0,012
3.Gün			8	13,71±1,71	426,62±57,23	0,12±0,010
4.Gün			7	18,72±2,06	412,17±58,12	0,12±0,013

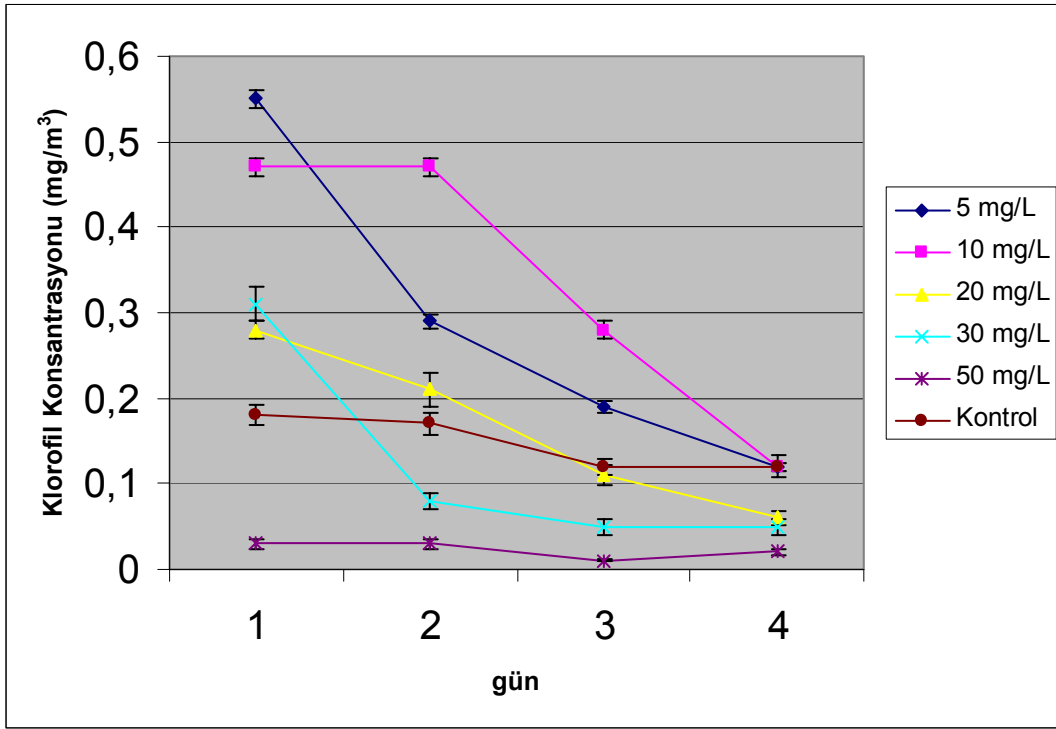
BA ** : (µg Cu /g organizma)



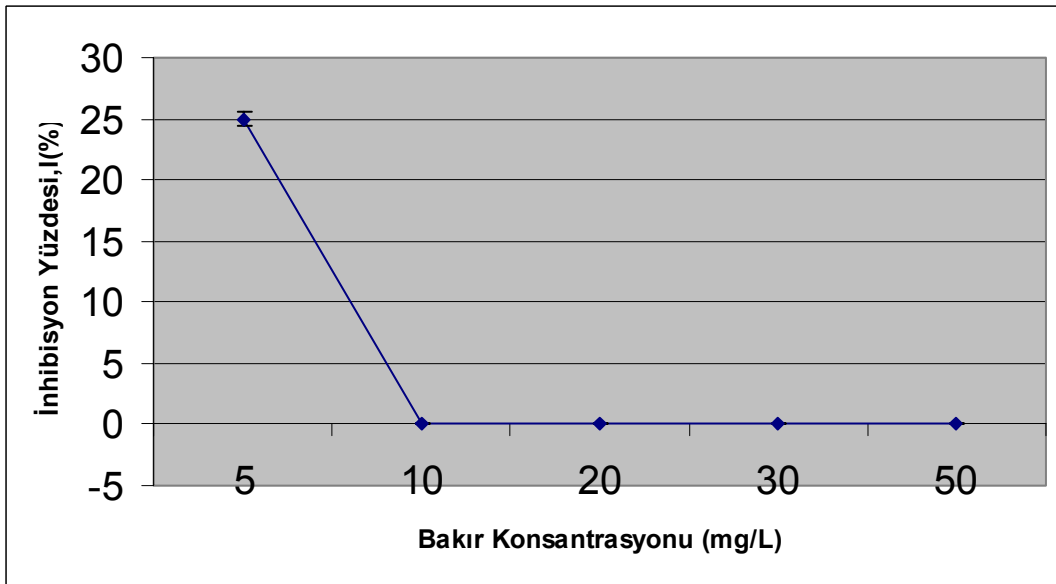
Şekil 4.5. 2. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BA Değerleri



Şekil 4.6. 2. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BCF Değerleri



Şekil 4.7. 2. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Klorofil Değerleri



Şekil 4.8. 2. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen İnhibisyon Değerleri

Tablo 4.4. 2. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Değerleri

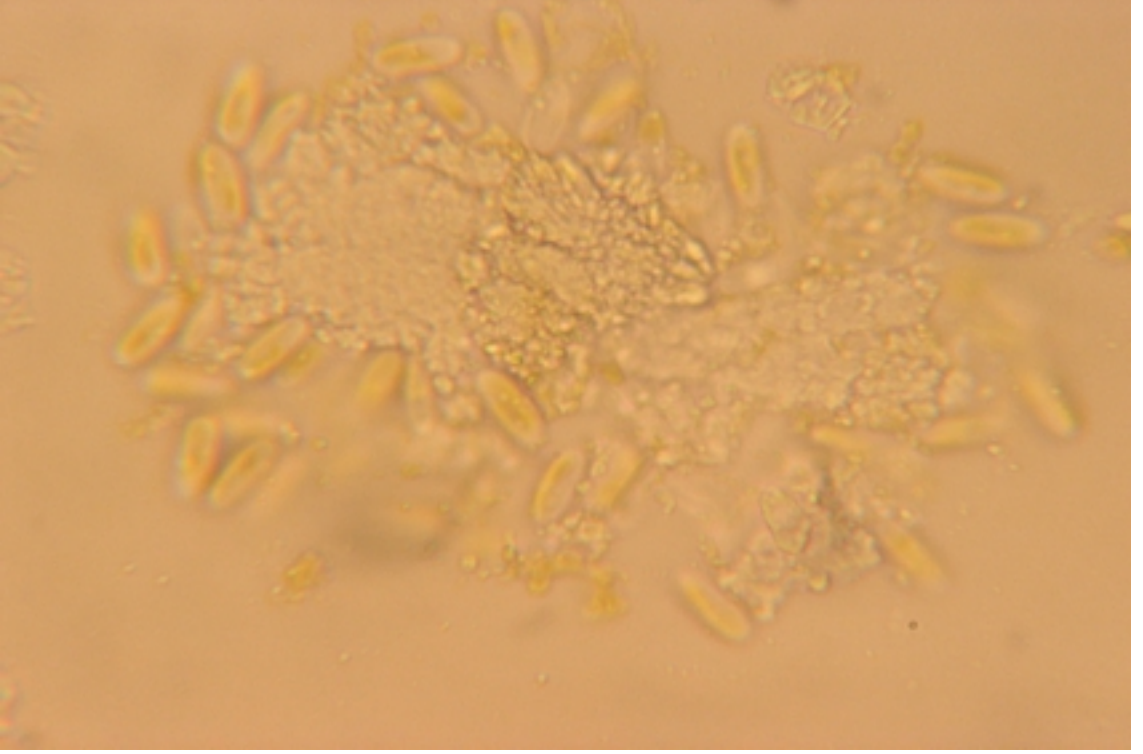
Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat ⁻¹	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün 2.Gün 3.Gün 4.Gün	5	-0,0382 $\pm$ 0,0001 -0,0010 $\pm$ 0,0001 0,0000 $\pm$ 0,0001 -0,016 $\pm$ 0,002	25 $\pm$ 0,62
1. Gün 2.Gün 3.Gün 4.Gün	10	-0,029 $\pm$ 0,0001 -0,028 $\pm$ 0,0035 -0,019 $\pm$ 0,0032 -0,016 $\pm$ 0,0030	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,001
1. Gün 2.Gün 3.Gün 4.Gün	20	-0,028 $\pm$ 0,0032 -0,009 $\pm$ 0,0012 -0,002 $\pm$ 0,0003 -0,005 $\pm$ 0,0009	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 001
1. Gün 2.Gün 3.Gün 4.Gün	30	-0,045 $\pm$ 0,008 -0,016 $\pm$ 0,003 -0,015 $\pm$ 0,002 -0,011 $\pm$ 0,001	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,001
1. Gün 2.Gün 3.Gün 4.Gün	50	-0,067 $\pm$ 0,010 -0,010 $\pm$ 0,0018 -0,007 $\pm$ 0,0010 -0,016 $\pm$ 0,003	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,001
Kontrol	-	-0,018 $\pm$ 0,002 -0,012 $\pm$ 0,002 -0,007 $\pm$ 0,0010 -0,007 $\pm$ 0,0010	Metal uygulanmadı

4.3. 3. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti

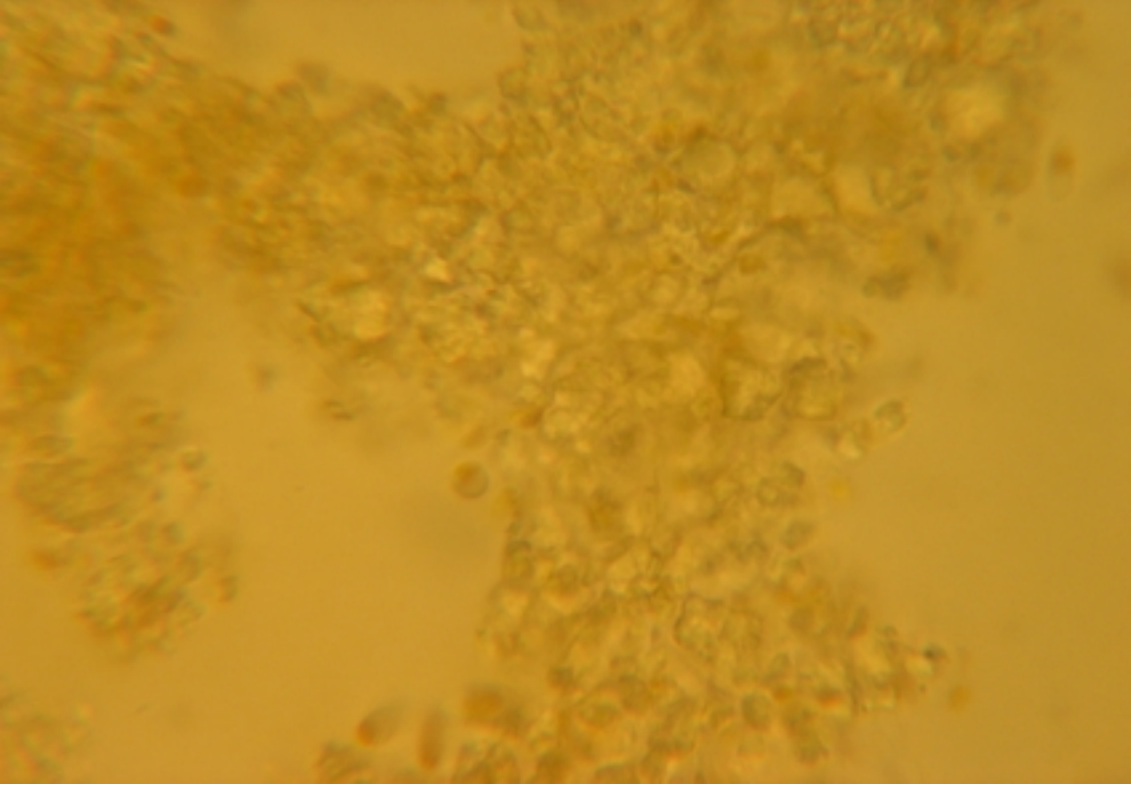
Zamanla organizmaların BA'larında artışlar, BCF'lerinde, hücre sayılarında ve klorofil konsantrasyonlarında ise azalışlar görülmektedir (Tablo 4.5.; Şekil 4.9., Şekil 4.10.) En yüksek BA %83 oranında 10 mg/L'lik konsantrasyonda, en düşük BA ise %28 oranında kontrol grubunda meydana gelmiştir. En yüksek BCF oranı %83 oranında 10 mg/L'lik çinko konsantrasyonda meydana gelmiştir. İnhibisyon oranlarına bakıldığında en yüksek inhibisyona % 20 oranında 5 mg/L'lik çinko konsantrasyonunda rastlanmıştır. Resim 4.3 ve Resim 4.4'te sırasıyla sağlıklı ve metale maruz kalmış *P. tricornutum* hücreleri görülmektedir. 50 mg/L çinko konsantrasyonunda meydana gelen %2'lik inhibisyon oranı ihmal edilebilecek düzeydedir. Dolayısı ile yüksek çinko konsantrasyonlarında inhibisyona rastlanmamıştır.

P.tricornutum organizmasıyla 5, 10, 20, 30, 50 mg/L'lik çinko (3.Set) çalışıldığı durumda organizmanın BA - BCF değerleri (Tablo 4.5); 1.setteki bakır metalinin BA – BCF değerleri ile kıyaslandığında (Tablo 4.1.) yaklaşık 10^3 kat daha fazla çıkmıştır. Bu da *P. tricornutum* organizmasının bünyesine çinkoyu bakırdan daha fazla aldığını göstermiştir.

Schmitt ve diğerleri, 2001, tatlı su yeşil algi *Scenedesmus subspicatus*, az tuzlu ortamda yaşayan diatom *Cyclotella cryptica*, deniz diatomu *P. tricornutum*, tatlı su kırmızı algi *Porphyridium purpureum* 'da çinko, bakır, alüminyum, kadminyum, kurşun, civa metallerinin biyoakümülyasyon ve adsorbsiyonunu çalışmışlardır. *P.tricornutum* tarafından alınan bakır metal miktarı 1,67 mg/g kuru ağırlık, çinko miktarı ise 14,52 mg/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre *P.tricornutum*'un çinko alımı, bakır alımından daha yüksek çıkmıştır (Schmitt ve diğerleri, 2001).



Resim 4.3. Sağlıklı *P. tricornutum* Hücreleri

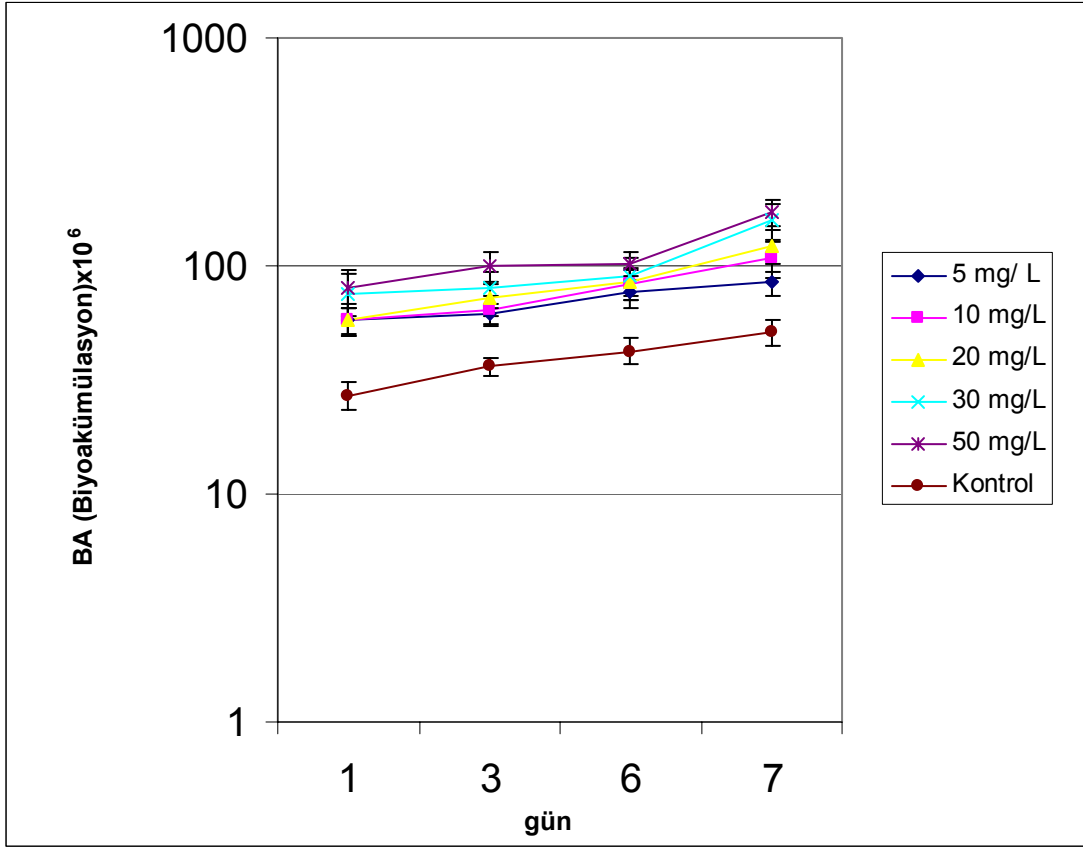


Resim 4.4. Metale Maruz Kalmış *P. tricornutum* Hücreleri

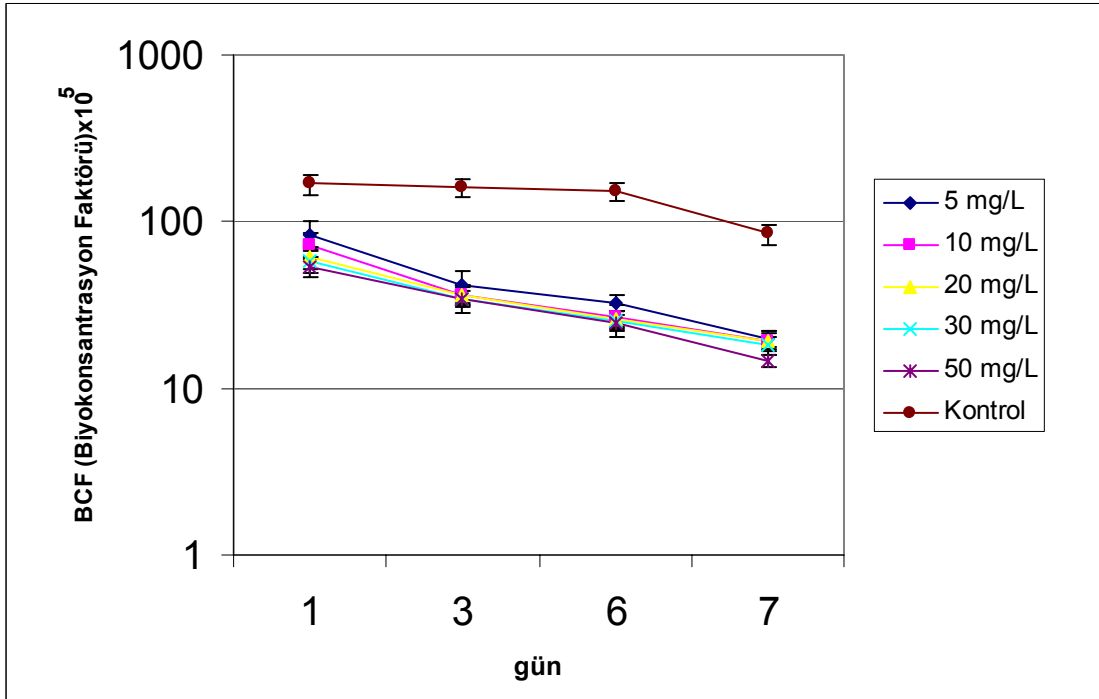
Tablo 4.5. 3. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı (Hücre/ml) $\times 10^4$	Deney Sonu Hücre Sayısı (Hücre/ml) $\times 10^4$	BA ** ($\mu\text{gZn/g}$) $\times 10^6$	BCF $\times 10^5$	Klorofil (mg/m^3)
1. Gün	5	30	21	57,69 $\pm$ 7,12	84,27 $\pm$ 16,23	0,93 $\pm$ 0,13
3.Gün			18	61,12 $\pm$ 6,82	41,44 $\pm$ 9,22	0,57 $\pm$ 0,08
6.Gün			4	76,20 $\pm$ 10,52	32,14 $\pm$ 4,56	0,52 $\pm$ 0,09
7.Gün			4	84,31 $\pm$ 10,38	19,97 2,28	0,48 $\pm$ 0,07
1. Gün	10	26	12	57,76 $\pm$ 8,22	72,26 $\pm$ 12,26	0,76 $\pm$ 0,10
3.Gün			9	64,28 $\pm$ 9,10	36,71 $\pm$ 5,23	0,42 $\pm$ 0,05
6.Gün			10	82,89 $\pm$ 12,36	27,01 $\pm$ 4,38	0,37 $\pm$ 0,03
7.Gün			3	108,13 $\pm$ 20,32	19,47 $\pm$ 2,35	0,02 $\pm$ 0,001
1. Gün	20	29	13	58,42 $\pm$ 9,05	61,12 $\pm$ 9,81	0,57 $\pm$ 0,07
3.Gün			4	72,62 $\pm$ 12,15	36,35 $\pm$ 4,87	0,35 $\pm$ 0,03
6.Gün			4	84,27 $\pm$ 13,62	26,22 $\pm$ 3,18	0,08 $\pm$ 0,01
7.Gün			2	122,99 $\pm$ 20,70	19,25 $\pm$ 2,38	0,04 $\pm$ 0,005
1. Gün	30	31	12	75,87 $\pm$ 15,75	57,96 $\pm$ 8,88	0,58 $\pm$ 0,09
3.Gün			11	79,97 $\pm$ 14,81	34,48 $\pm$ 4,13	0,56 $\pm$ 0,09
6.Gün			11	90,43 $\pm$ 17,28	25,56 $\pm$ 3,20	0,47 $\pm$ 0,08
7.Gün			11	159,48 $\pm$ 28,78	18,08 $\pm$ 2,26	0,13 $\pm$ 0,02
1. Gün	50	28	17	80,76 $\pm$ 15,59	54,06 $\pm$ 7,58	0,59 $\pm$ 0,08
3.Gün			17	99,85 $\pm$ 15,92	34,24 $\pm$ 6,20	0,56 $\pm$ 0,09
6.Gün			10	102,72 $\pm$ 13,22	24,59 $\pm$ 4,25	0,20 $\pm$ 0,03
7.Gün			7	173,89 $\pm$ 22,65	14,52 $\pm$ 1,25	0,20 $\pm$ 0,02
1. Gün	Kontrol	57	48	27,01 $\pm$ 3,68	168,63 $\pm$ 23,78	0,83 $\pm$ 0,105
3.Gün			12	36,13 $\pm$ 3,26	159,48 $\pm$ 20,75	0,56 $\pm$ 0,08
6.Gün			7	42,35 $\pm$ 5,52	152,40 $\pm$ 19,28	0,06 $\pm$ 0,009
7.Gün			4	51,13 $\pm$ 6,51	84,71 $\pm$ 11,88	0,05 $\pm$ 0,008

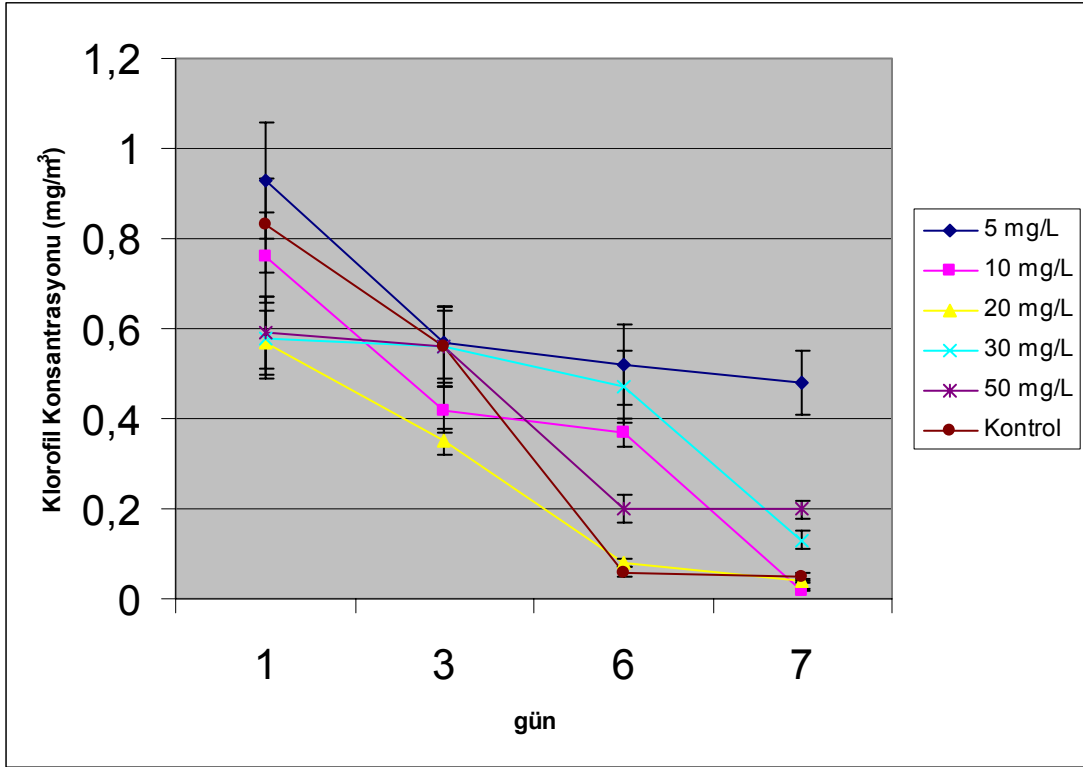
BA ** : ($\mu\text{g Zn /g organizma}$)



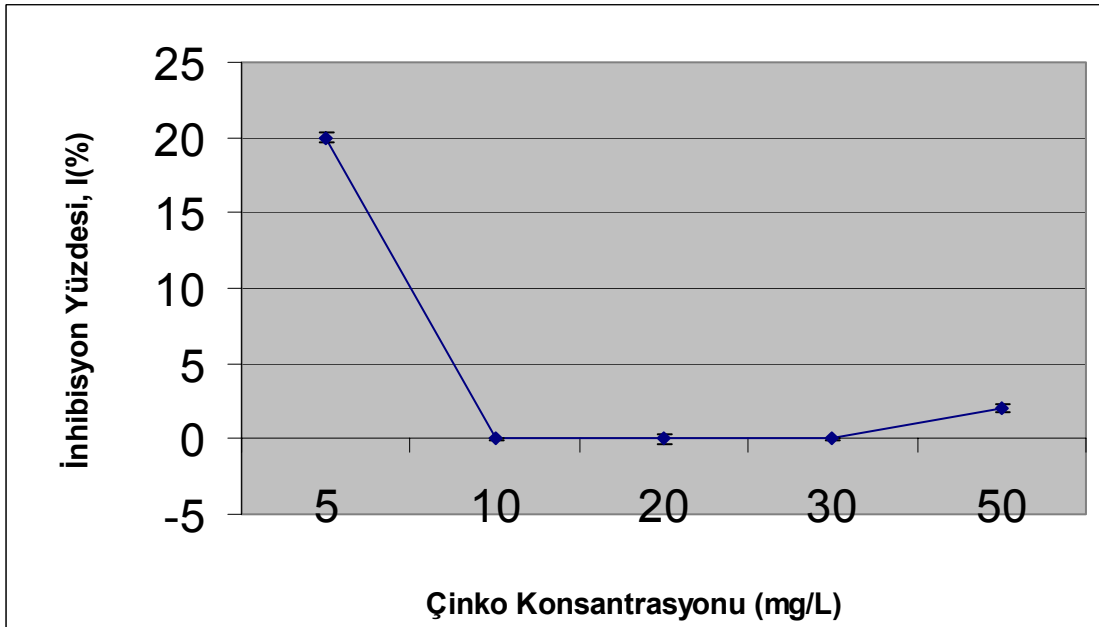
Şekil 4.9. 3. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko İle Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BA Değerleri



Şekil 4.10. 3. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko İle Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BCF Değerleri



Şekil 4.11. 3. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko İle Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Klorofil Değerleri



Şekil 4.12. 3. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko İle Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen İnhibisyon Değerleri

Tablo 4.6. 3.Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Yüksek Konsantrasyonda Çinko İle Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Değerleri

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat ⁻¹	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	5	-0,0147 $\pm$ 0,0010 -0,0070 $\pm$ 0,0009 -0,0130 $\pm$ 0,0020 -0,0120 $\pm$ 0,0020	20 $\pm$ 0,35
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	10	-0,0320 $\pm$ 0,0050 -0,0146 $\pm$ 0,0020 -0,0065 $\pm$ 0,0009 -0,0120 $\pm$ 0,0020	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,097
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	20	-0,0330 $\pm$ 0,005 -0,0270 $\pm$ 0,003 -0,0137 $\pm$ 0,002 -0,0158 $\pm$ 0,002	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,33
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	30	-0,0390 $\pm$ 0,0040 -0,0143 $\pm$ 0,0020 -0,0070 $\pm$ 0,0010 -0,0060 $\pm$ 0,0010	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,11
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	50	-0,0200 $\pm$ 0,0020 -0,0060 $\pm$ 0,0008 -0,0230 $\pm$ 0,003 -0,0080 $\pm$ 0,001	2 $\pm$ 0,24
Kontrol	-	-0,0070 $\pm$ 0,001 -0,0210 $\pm$ 0,003 -0,0140 $\pm$ 0,002 -0,0160 $\pm$ 0,003	Metal uygulanmadı

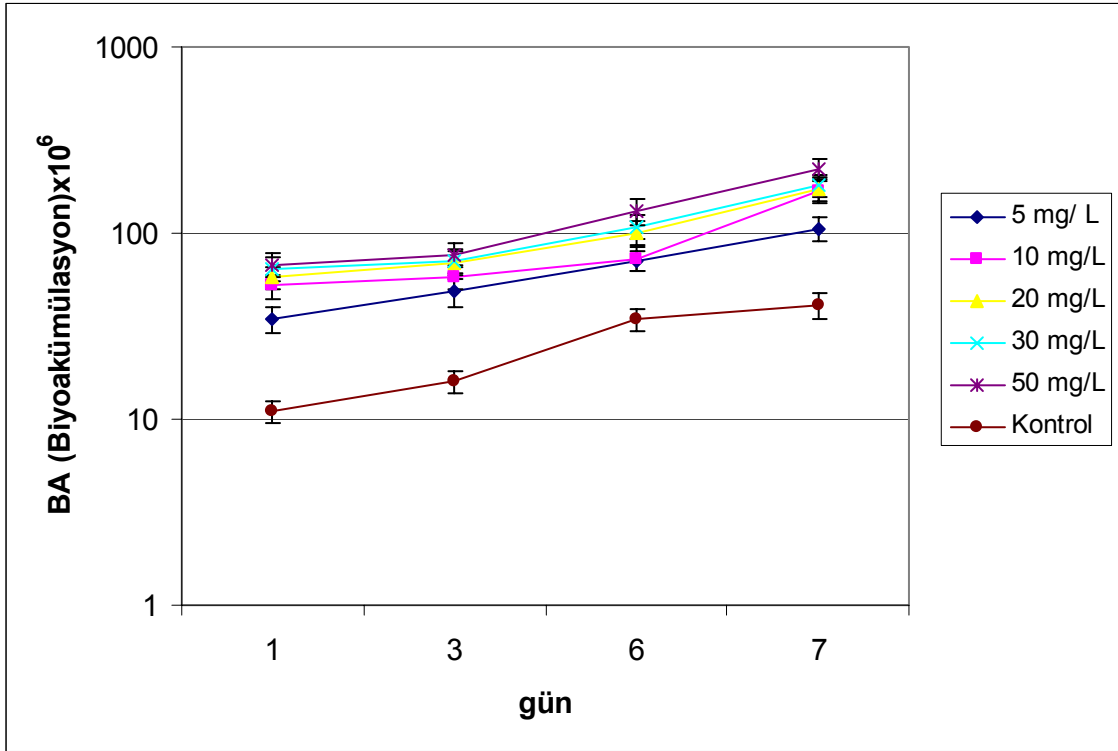
4.4. 4.Set Sentetik Deniz Suyunda *D.tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti

D. tertiolecta organizması ile 5, 10, 20, 30, 50 mg/L konsantrasyonunda çalışılan çinko toksisite seti, 2. Set teki bakır toksisite seti ile kıyaslandığında hücre sayısındaki azalmalar nispeten daha azdır (Tablo 4.7.) Bu sonuç *D.tertiolecta* organizması üzerinde bakırın çinkodan daha toksik olduğunu göstermektedir. Ayrıca BA ve BCF değerleri 2. setteki aynı değişkenlerin yaklaşık 10^3 katıdır. Bu sonuç da *D. Tertiolecta*'nın bakırdan çok çinkoya gereksinim duyduğunu göstermektedir (Tablo 4.7, Tablo 4.3.). 2.sette yalnız 5 mg/L'lik bakır konsantrasyonunda %25 oranında inhibisyon olmasına karşın, 4. Sette aynı organizma için çinko metalinin hiçbir konsantrasyonunda inhibisyona rastlanmamıştır (Tablo 4.8.). 5 mg/L'lik çinko konsantrasyonunda inhibisyonun olup, diğer yüksek konsantrasyonlarda inhibisyonun olmaması, organizmaların düşük metal konsantrasyonlarında hücre içine alındığı, yüksek metal konsantrasyonunda ise hücre yüzeyindeki protein gruplarının metal ile kompleks yaparak hücre yüzeyinde adsorbsiyonlarının daha aktif olduğunu göstermiştir. Çözünmeyen metal kompleksler alg hücrelerine serbest metal girişini azalttıklarından metalin toksisitesini de azaltırlar (Wong ve diğerleri, 2001). Türker Saçan ve Akmehmet Balcıoğlu, 2001, yeşil alg *D. tertiolecta*'ya alüminyum metalinin biyoakümüülasyonu çalışmasında pH 8'de , ortamda meydana gelebilecek çökelme ve hücre yüzeyindeki adsorbsiyonun metalin davranışında önemli olduğunu bildirmişlerdir. Hücre yüzeyindeki adsorbsiyon ve çökelme hücre membranının permeabilitesini azaltarak, metalin hücre membranından içeri alımını azaltabilmektedir (Saçan ve Balcıoğlu, 2001).

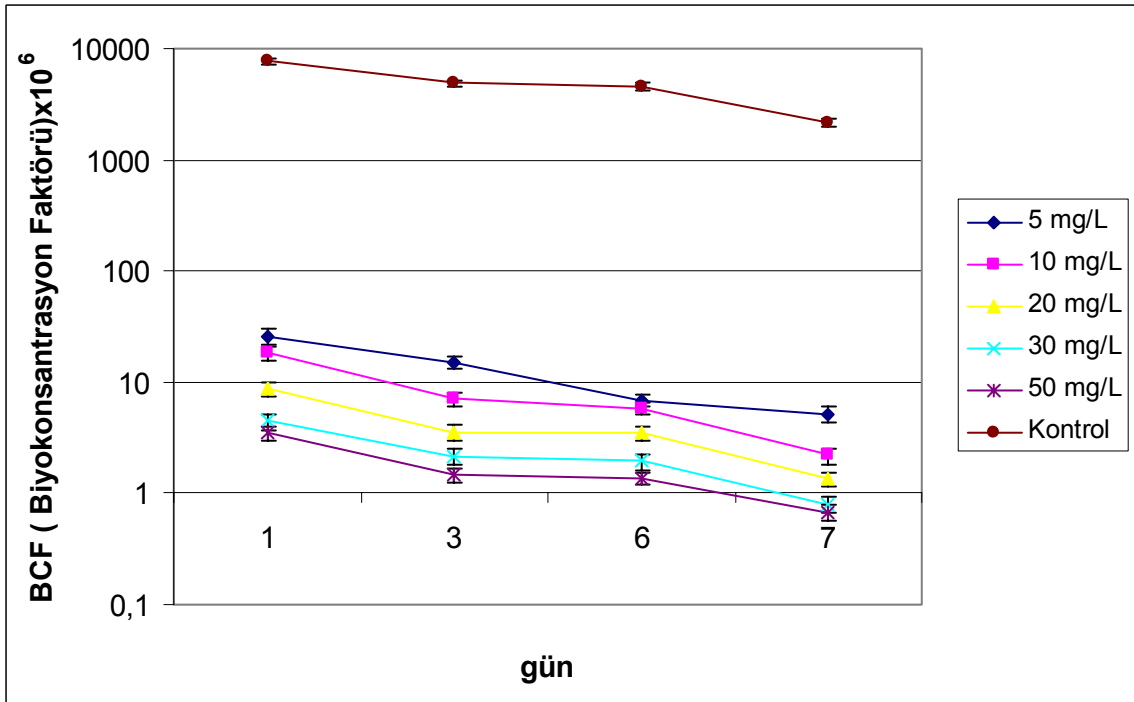
Tablo 4.7. 4. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı Hücre/ml $\times 10^4$	Deney Sonu Hücre Sayısı Hücre/ml $\times 10^4$	BA** ($\mu\text{gZn/g}$) $\times 10^6$	BCF $\times 10^6$	Klorofil (mg/m^3)
1. Gün	5	6	2	34,56 $\pm$ 5,23	26,11 $\pm$ 4,48	1,74 $\pm$ 0,10
3.Gün			3	48,32 $\pm$ 8,40	15,26 $\pm$ 1,95	1,04 $\pm$ 0,10
6.Gün			2	71,29 $\pm$ 8,12	6,91 $\pm$ 0,94	0,73 $\pm$ 0,10
7.Gün			3	106,06 $\pm$ 15,28	5,19 $\pm$ 0,88	0,63 $\pm$ 0,09
1. Gün	10	7	4	51,90 $\pm$ 7,35	18,12 $\pm$ 2,36	1,73 $\pm$ 0,15
3.Gün			4	58,53 $\pm$ 8,16	7,12 $\pm$ 0,98	1,68 $\pm$ 0,16
6.Gün			3	72,65 $\pm$ 10,82	5,85 $\pm$ 0,83	1,13 $\pm$ 0,15
7.Gün			2	169,51 $\pm$ 25,88	2,20 $\pm$ 0,37	1,01 $\pm$ 0,14
1. Gün	20	8	6	58,01 $\pm$ 8,05	8,68 $\pm$ 1,15	1,38 $\pm$ 0,14
3.Gün			3	69,10 $\pm$ 10,38	3,56 $\pm$ 0,64	1,36 $\pm$ 0,14
6.Gün			3	100,51 $\pm$ 15,20	3,45 $\pm$ 0,53	1,20 $\pm$ 0,15
7.Gün			2	173,68 $\pm$ 26,50	1,36 $\pm$ 0,20	0,61 $\pm$ 0,08
1. Gün	30	5	2	64,57 $\pm$ 9,25	4,43 $\pm$ 0,75	2,21 $\pm$ 0,25
3.Gün			2	71,36 $\pm$ 10,29	2,15 $\pm$ 0,36	1,01 $\pm$ 0,15
6.Gün			2	107,86 $\pm$ 15,72	1,93 $\pm$ 0,34	0,76 $\pm$ 0,10
7.Gün			1	181,25 $\pm$ 25,25	0.80 $\pm$ 0,13	0,57 $\pm$ 0,08
1. Gün	50	5	2	68,097 $\pm$ 9,58	3,53 $\pm$ 0,50	1,24 $\pm$ 0,20
3.Gün			2	76,30 $\pm$ 11,25	1,45 $\pm$ 0,20	1,20 $\pm$ 0,17
6.Gün			2	130,59 $\pm$ 20,16	1,36 $\pm$ 0,17	1,02 $\pm$ 0,18
7.Gün			1	221,71 $\pm$ 30,13	0,68 $\pm$ 0,10	0,54 $\pm$ 0,08
1. Gün	Kontrol	4	5	11,00 $\pm$ 1,47	7705,09 $\pm$ 520,13	1,37 $\pm$ 0,15
3.Gün			3	16,01 $\pm$ 2,15	4902,90 $\pm$ 312,27	1,04 $\pm$ 0,15
6.Gün			5	34,07 $\pm$ 4,58	4568,93 $\pm$ 363,67	0,98 $\pm$ 0,18
7.Gün			7	40,96 $\pm$ 6,21	2196,48 $\pm$ 174,56	0,88 $\pm$ 0,15

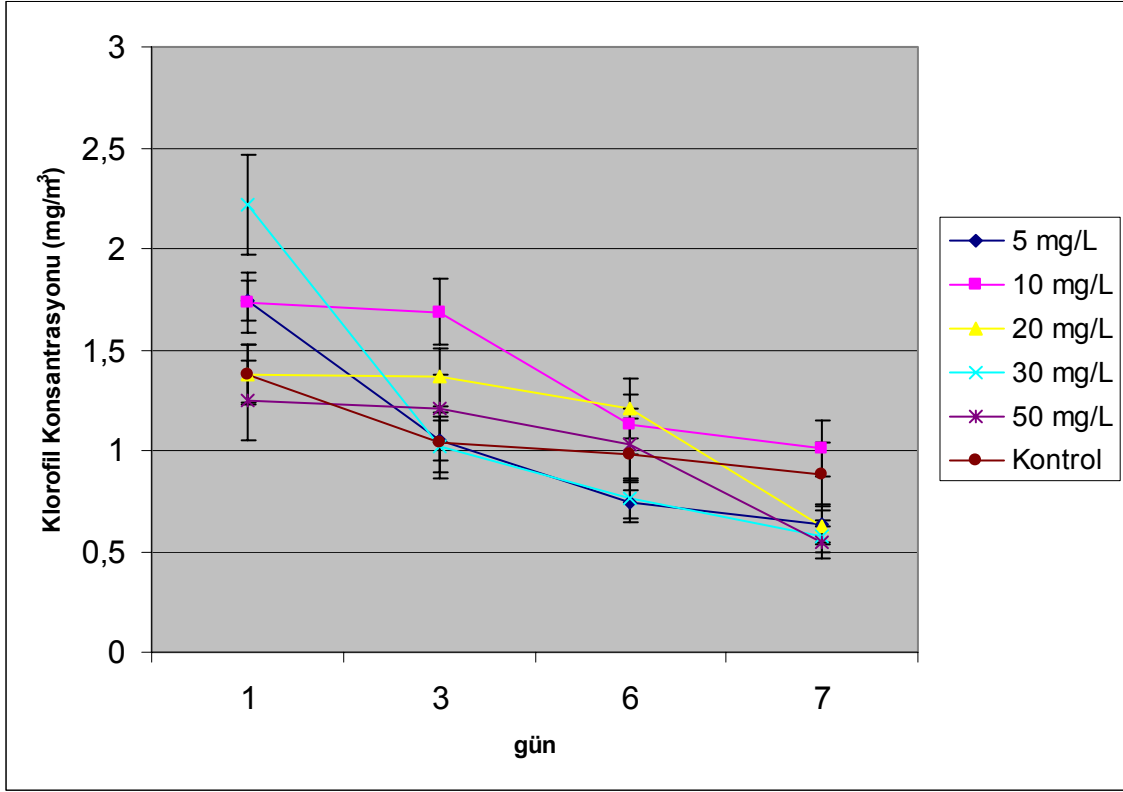
BA** : ($\mu\text{g Zn /g organizma}$)



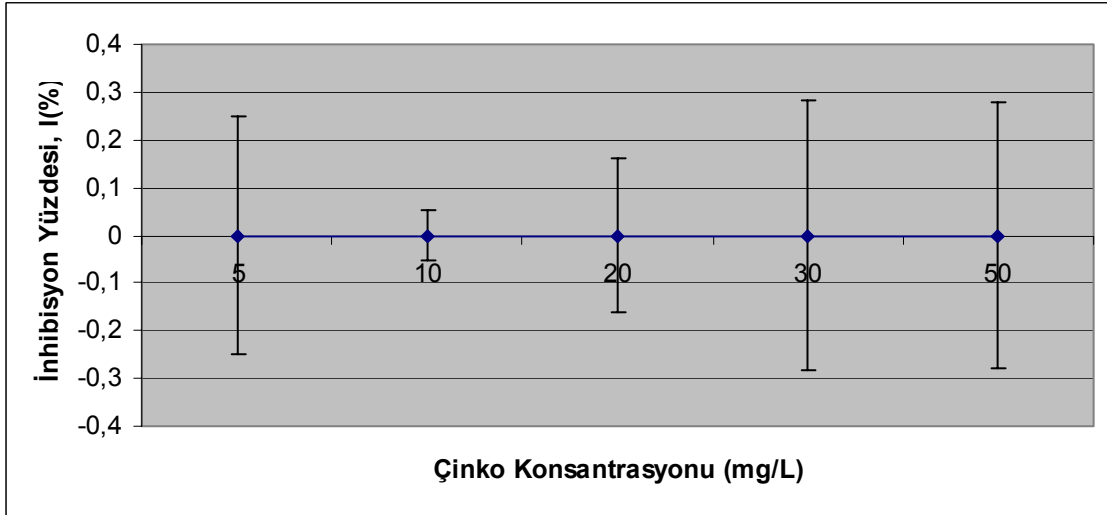
Şekil 4.13. 4. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen BA Değerleri



Şekil 4.14. 4. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen BCF Değerleri



Şekil 4.15. 4. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen Klorofil Değerleri



Şekil 4.16. 4. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen İnhibisyon Yüzdeleri

Tablo 4.8. 4.Set Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Yüksek Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat ⁻¹	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	5	-0,0450±0,0070 -0,0095±0,0015 -0,0003±0,00005 -0,0041±0,0008	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,25
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	10	-0,0230±0,004 -0,0076±0,001 -0,0058±0,001 -0,0074±0,001	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,054
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	20	-0,0115±0,0020 -0,0134±0,0020 -0,0067±0,0010 -0,0082±0,0012	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,162
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	30	-0,0380± 0,005 -0,0130 ±0,002 -0,0063± 0,0010 -0,0095 ±0,0015	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,283
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	50	-0,0380± 0,005 -0,0130± 0,002 -0,0063± 0,0010 -0,0095 ±0,0015	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,283
Kontrol	-	-0,0095± 0,0015 -0,0039± 0,005 -0,0016 ±0,0003 -0,0033 ±0,0006	Metal uygulanmadı

4.5. 5. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

BA değerleri maruziyet süresi ve uygulanan metal konsantrasyonu arttıkça artışlar göstermiştir. En yüksek BA değerleri kontrol grubu organizmalarda gerçekleşmiştir. Zamanla BCF ve Klorofil konsantrasyonu değerlerinde azalmalar olmuştur.

0,05 mg/L'lik bakır konsantrasyonunda 3-6-7.'ci günler ve kontrol grubu organizmalardaki 6-7.'ci günler sudaki bakır konsantrasyonu 0 mg/L olduğundan BCF değerleri bulunamamıştır. 0,05 mg/L'lik bakır konsantrasyonunda en yüksek inhibisyon değeri %58 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.10.). Uygulanan en düşük bakır konsantrasyonunda meydana gelen bu inhibisyon, düşük konsantrasyonda organizmaların metali hücre yüzeyine adsorblamaktan çok hücre içine alma eğilimlerinin yüksek olduğunu göstermektedir. Hücre içine alınan metalin toksisitesi, hücre yüzeyine adsorblanan metalin toksisitesinden daha fazla olduğundan 0,05 mg/L'lik bakır konsantrasyonunda meydana gelen hücre ölümleri sebebiyle canlının hücre içinde bulunduğu su ortamından metal alımı söz konusu olamayacağından metali biyokonsantre etme faktörü (BCF) de olmayacaktır. Kontrol grubu organizmalardaki 6-7.'ci günler BCF 'nün olmayışı ise deney süresince ortamda besin maddelerinin kullanılarak hızla azalması ve bu sebeple meydana gelen hücre ölümleriyle açıklanabilir. Resim 4.5'de katı f/2 besi ortamında metal öncesi ve metal sonrası *P. tricornutum* kahverengi alg kültürü görülmektedir.

5. set ile 1. seti kıyasladığımızda ise yüksek konsantrasyonlarda ve düşük konsantrasyonlardaki bakır metalinin BA ve BCF değerleri arasında önemli bir fark bulunmamıştır. İnhibisyon yüzdesi olarak kıyaslandığında ise bu sette özellikle 0,05 mg/L 'de %58 oranında ve 1. Sette ise 50 mg/L'deki %30 oranında inhibisyon dikkati çekmektedir. Düşük konsantrasyonda hücre içine metal alımı daha baskın olduğundan inhibisyon oranı da yüksek çıkmıştır.

Torres ve diğerleri, 1998, *P.tricornutum*'da kadminyum metalinin alımı ile ilgili yaptıkları çalışmada 75 mg/L ve 100 mg/L'lik yüksek kadminyum konsantrasyonunda metalin sürekli hücre yüzeyine adsorblandığını, zamanla hücre ölümlerinde meydana gelen artışlar sebebiyle hücre içi metalin zamanla azalma gösterdiğini belirlemişlerdir. Buna karşın, hücre yüzeyine adsorblanan metalde artışlar görülmüştür. 25 mg/L'den düşük konsantrasyonlarda hücre içine alınan kadminyum konsantrasyonu, adsorblanan kadminyum konsantrasyonundan daha yüksek çıkmıştır. Bu demektir ki, düşük konsantrasyonlarda sudan metal alımı “hücre içine” şeklinde olmaktadır. Düşük

kadminyum konsantrasyonlarında *P.tricornutum*'da lineer metal alımı, hücrelerin metabolik yönden aktif olduklarını gösterir. Bu sebeple de düşük metal konsantrasyonlarında hücre üreme ve büyüme oranı daha büyük çıkmıştır (Torres ve diğerleri, 1998).

Alglerin büyüme periyotları esnasında bakır metali, alglere tutunmuş ince kolloidal biyolojik partiküllerin üzerine yapışır. Alglerin bakırın toksisitesini giderme yeteneği sonucu bakır doğal ligandlar ile kompleks oluşturur. Doğal ligandlar, ya bakır metali ile kompleks yaparak hücre dışına atılacak ürünleri meydana getirir; ya da hücre duvarına bakır ile kompleks yaparak adsorblanır. Böylece hücre içine bakır alımı yani toksisite engellenir. (Farrell ve diğerleri, 2002). Bu sebeple düşük metal konsantrasyonlarındaki inhibisyon değerleri, yüksek metal konsantrasyonundaki değerlerden daha fazla çıkmıştır.

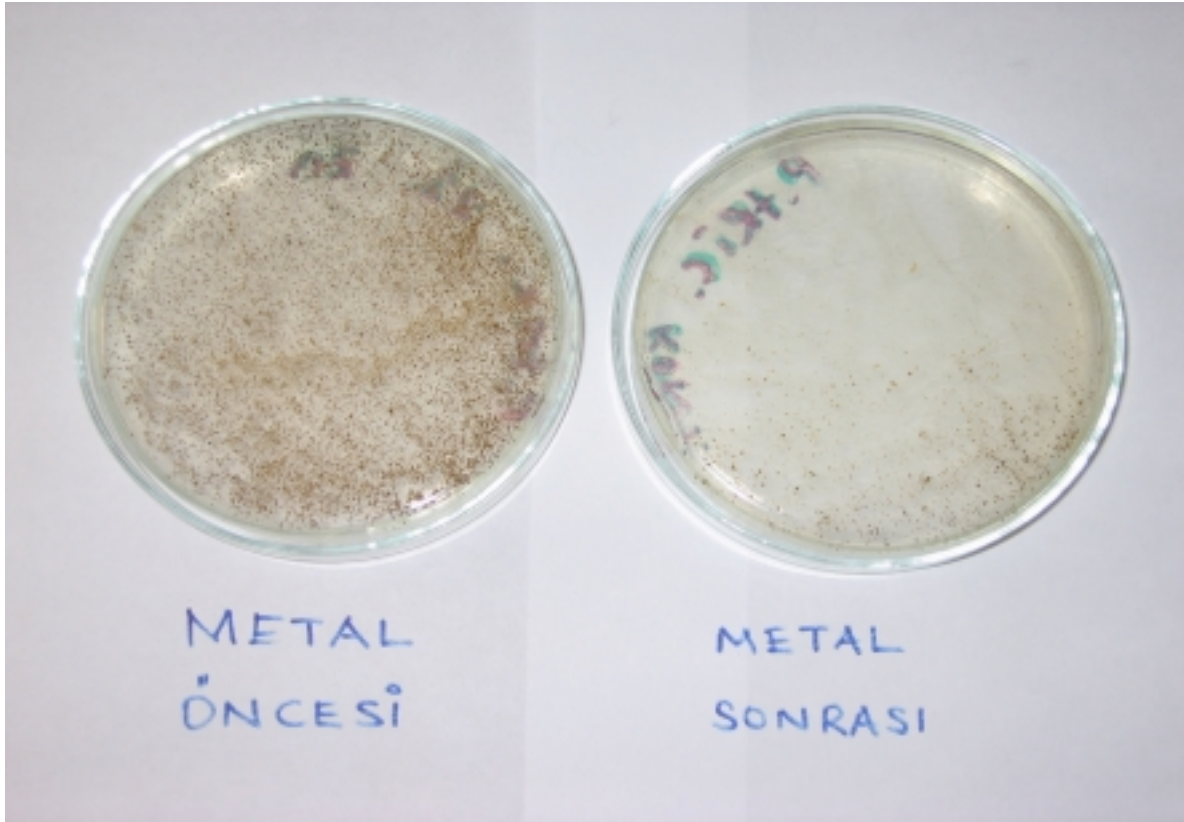
Cid ve diğerleri, 1995, *P. tricornutum*'da bakır metalinin hücre büyüme oranı ve klorofil-a'daki toksisitesini incelemiştir. 0,1 mg/L 'lik bakır konsantrasyonunda klorofil-a içeriğinde artış, büyüme oranında ise %50 azalma; 0,1 mg/L'den yüksek bakır konsantrasyonlarında ise klorofil-a içeriğinde azalma kaydetmişlerdir. 1 mg/L bakır konsantrasyonunda büyüme tamamen durmuş, canlı inhibe olmuştur. Bakır metali hücre membranındaki moleküllerin yerini alarak membranın permeabilitesini bozmaktadır. Hücre içine taşınan metal sitosollere ulaşmakta ve SH enzim gruplarının aktif bölgelerine bağlanarak enzimleri inhibe etmektedirler. 0.5 mg/L'lik bakır konsantrasyonunda ise organizmanın fotosentez hızı %50 oranında düşmüştür. 0,05 mg/L'lik bakır konsantrasyonunda büyüme oranı değişmemiştir. 0,5 ve 1 mg/L'lik bakır konsantrasyonunda organizma tamamen inhibe olmuştur (Cid ve diğerleri, 1995). 0,05 mg/L, 0,25 mg/L'lik bakır konsantrasyonlarında %100'lük; 0,50 mg/L, 1 mg/L ve 1,5 mg/L'lik bakır konsantrasyonlarında ise sırasıyla %99,80, %98,48 ve %89,93'lük metal giderimi olmuştur (Tablo 4.9.).

4.5. 5. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Aynı setin EDTA kompleks çözeltisi ile muamele edilmesi durumunda, EDTA'nın uygulanmadığı koşula göre hücre sayılarında azalış göze çarpmaktadır. EDTA, organizmanın bulunduğu ortamda serbest formdaki metal iyonları ile kompleks yaparak sudaki serbest metal iyonu konsantrasyonunu azaltmaktadır. Bu durumda hücre içine metal alımını, BCF'nü ve dolayısıyla da metalin toksisitesini arttırıcı etki göstermiştir (Tablo 4.11.). İnhibisyon oranlarının yüksek oluşu da bu sonucu desteklemektedir (Tablo 4.12.).

En yüksek inhibisyon, %73 oranında 0,05 mg/L 'lık bakır konsantrasyonunda meydana gelmiştir.

Filtre kağıdı üzerinde tutulan alg örneklerinin EDTA kompleks çözeltisi ile muamele amacı materyal metodta açıklanmıştı. EDTA'sız koşulda alg örnekleri tarafından tutulan metali Toplam Metal, EDTA'lı koşulda tutulan metali ise Hücre İçine Alınan Metal olarak ifade ettiğimizde ikisi arasındaki fark Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metali vermektedir (Tablo 4.13.). Tablo 4.13'e bakıldığında maruziyet süresi boyunca hücre içine alınan metal miktarında zamanla azalmalar, adsorblanan miktarda ise artışlar görülmektedir. Şekil 4.25'de ise örnek olarak 1 mg/L bakır konsantrasyonundaki adsorblanan ve hücre içine alınan bakır değerleri görülmektedir. Hücre içine alınan metal miktarları hücre yüzeyine adsorblanan metal miktarları ile kıyaslandığında önemli düşüşler göstermiştir (Tablo 4.13.). Resim 4.5, EDTA'sız koşulda *P. tricornutum* organizmasının bakır metali öncesi ve sonrasında f/2 besi ortamındaki üreme durumunu göstermektedir. En düşük giderim 0,05 mg/L'lık bakır konsantrasyonunda %72, en yüksek giderim ise 0,50 mg/L'lık bakır konsantrasyonunda meydana gelmiştir (Tablo 4.11.).

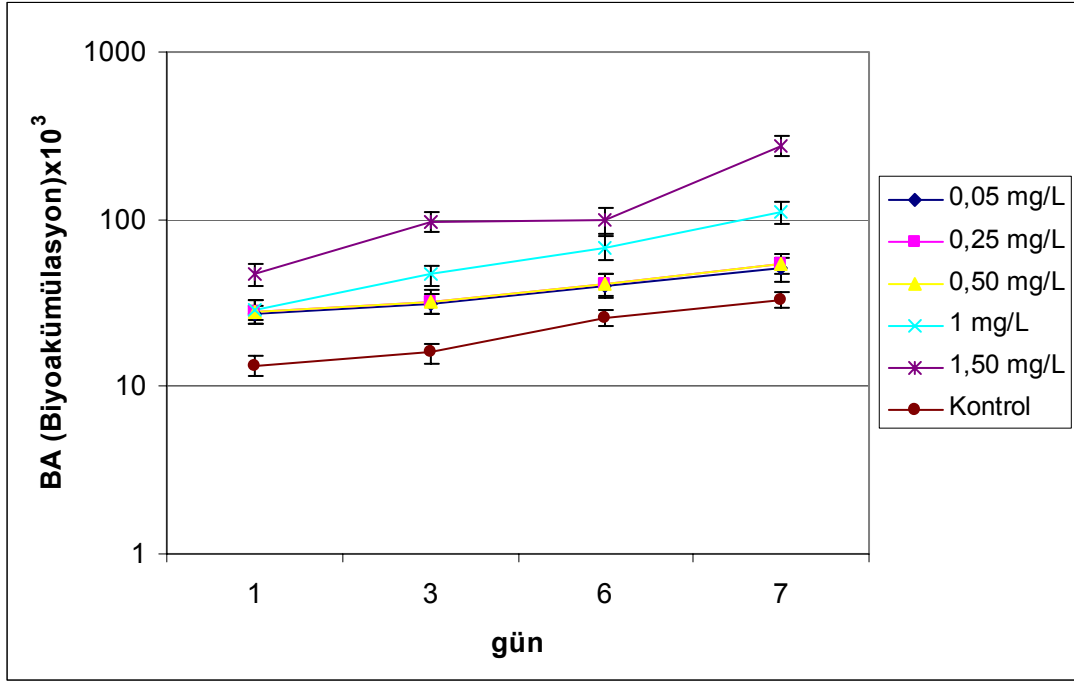


Resim 4.5. Metal Öncesi ve Metal Maruziyeti Sonrası Kahverengi Alg *P. tricornutum* Organizmasının f/2 Besi Ortamındaki Üreme Durumu

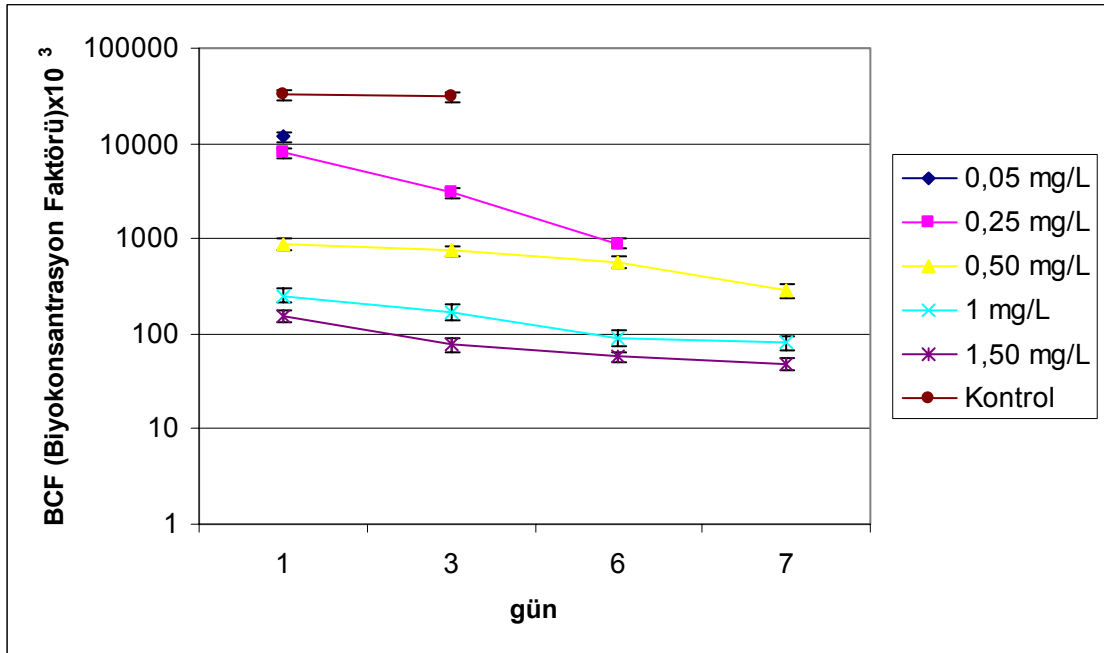
Tablo 4.9. 5. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucu Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

Süre	Verilen Metal Kons. (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı Hücre/ml $\times 10^4$	Deney Sonrası Hücre Sayısı Hücre/ml $\times 10^4$	BA ^{**} ($\mu\text{gCu/g}$) $\times 10^3$	BCF $\times 10^3$	Suda Kalan Metal (mg/L)	% Giderim	Klorofil (mg/m^3)
1. Gün	0,05	24	21	27,00 $\pm$ 3,50	11822,79 $\pm$ 1410,20	0,063 $\pm$ 0,007	100	1,18 $\pm$ 0,18
3.Gün			17	31,17 $\pm$ 4,16	-	-		0,93 $\pm$ 0,15
6.Gün			9	40,50 $\pm$ 7,06	-	-		0,85 $\pm$ 0,13
7.Gün			8	51,00 $\pm$ 8,37	-	-		0,13 $\pm$ 0,02
1. Gün	0,25	24	13	27,77 $\pm$ 3,94	7987,50 $\pm$ 950,37	0,063 $\pm$ 0,0060	100	1,20 $\pm$ 0,20
3.Gün			12	31,95 $\pm$ 4,37	3000,00 $\pm$ 380,10	0,010 $\pm$ 0,0015		0,33 $\pm$ 0,05
6.Gün			9	40,87 $\pm$ 7,10	889,58 $\pm$ 115,19	0,003 $\pm$ 0,0004		0,24 $\pm$ 0,04
7.Gün			8	53,37 $\pm$ 8,61	-	-		0,03 $\pm$ 0,005
1. Gün	0,50	19	11	28,17 $\pm$ 4,52	883,02 $\pm$ 112,37	0,093 $\pm$ 0,0180	99,80	0,63 $\pm$ 0,10
3.Gün			10	32,32 $\pm$ 5,26	742,06 $\pm$ 95,57	0,045 $\pm$ 0,0090		0,43 $\pm$ 0,08
6.Gün			9	41,25 $\pm$ 6,15	571,98 $\pm$ 76,40	0,003 $\pm$ 0,0004		0,25 $\pm$ 0,05
7.Gün			8	54,00 $\pm$ 7,50	281,89 $\pm$ 43,23	0,001 $\pm$ 0,0002		0,18 $\pm$ 0,03
1. Gün	1,00	24	12	29,00 $\pm$ 3,70	253,96 $\pm$ 42,74	0,500 $\pm$ 0,09	98,48	0,67 $\pm$ 0,10
3.Gün			9	46,50 $\pm$ 6,80	170,88 $\pm$ 28,97	0,267 $\pm$ 0,040		0,59 $\pm$ 0,10
6.Gün			6	68,00 $\pm$ 11,20	90,00 $\pm$ 17,36	0,110 $\pm$ 0,018		0,23 $\pm$ 0,03
7.Gün			5	110,00 $\pm$ 15,60	79,91 $\pm$ 14,25	0,015 $\pm$ 0,002		0,13 $\pm$ 0,02
1. Gün	1,50	21	14	46,75 $\pm$ 6,84	152,81 $\pm$ 23,31	1,11 $\pm$ 0,17	89,93	1,86 $\pm$ 0,18
3.Gün			12	96,25 $\pm$ 13,03	76,72 $\pm$ 12,52	0,50 $\pm$ 0,09		0,71 $\pm$ 0,12
6.Gün			8	100,25 $\pm$ 18,20	57,38 $\pm$ 8,23	0,36 $\pm$ 0,08		0,37 $\pm$ 0,05
7.Gün			4	276,87 $\pm$ 38,60	48,32 $\pm$ 7,39	0,15 $\pm$ 0,02		0,21 $\pm$ 0,03
1. Gün	Kontrol	26	12	13,42 $\pm$ 1,87	32325,00 $\pm$ 4120,20	0,001 $\pm$ 0,0002	-	1,17 $\pm$ 0,15
3.Gün			12	16,00 $\pm$ 2,20	30763,88 $\pm$ 3650,47	0,001 $\pm$ 0,0002		0,49 $\pm$ 0,08
6.Gün			11	25,82 $\pm$ 2,75	-	-		0,04 $\pm$ 0,006
7.Gün			9	33,17 $\pm$ 3,30	-	-		0,04 $\pm$ 0,006

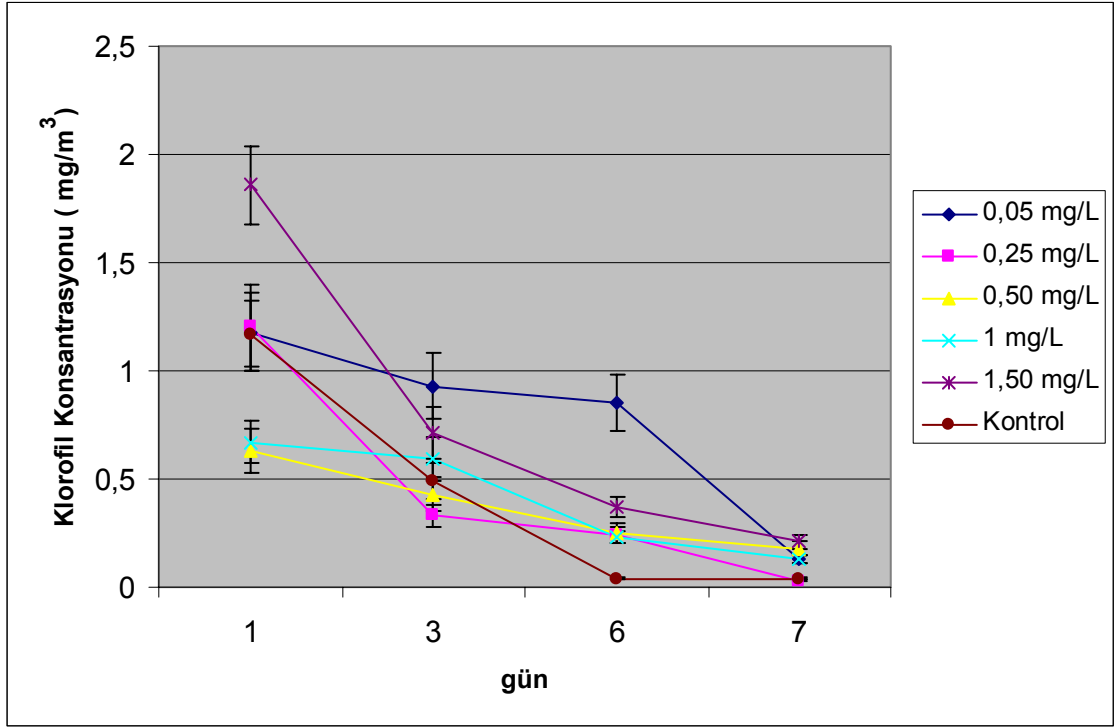
BA^{**} : ($\mu\text{g Cu /g organizma}$)



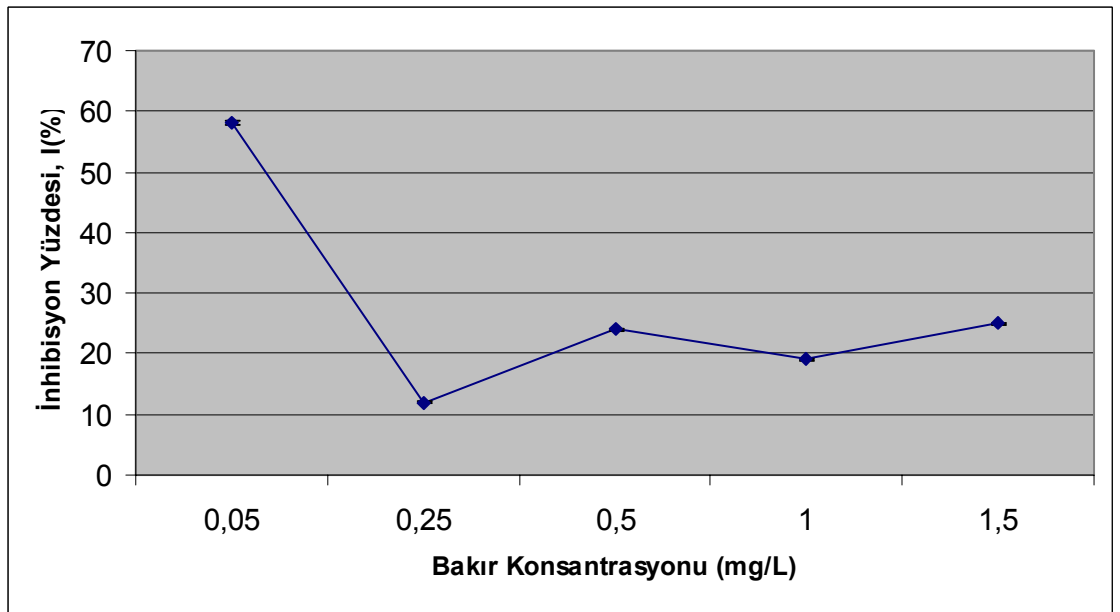
Şekil 4.17. 5. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BA Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.18. 5.Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BCF Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.19. 5.Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.20. 5.Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen İnhibisyon Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

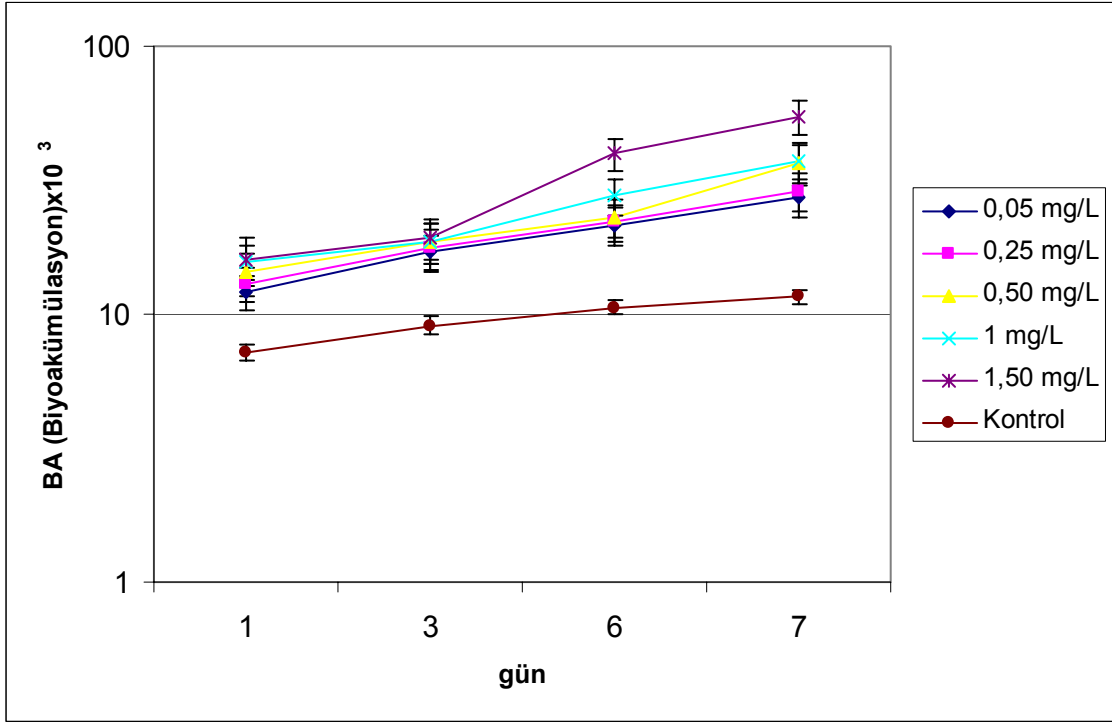
Tablo 4.10. . 5. SET Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat^{-1}	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün	0,05	-0,0052 $\pm$ 0,008	58 $\pm$ 0,370
3.Gün		-0,0046 $\pm$ 0,0008	
6.Gün		-0,0067 $\pm$ 0,0010	
7.Gün		-0,0064 $\pm$ 0,0010	
1. Gün	0,25	-0,025 $\pm$ 0,0050	12 $\pm$ 0,120
3.Gün		-0,0095 $\pm$ 0,0019	
6.Gün		-0,0067 $\pm$ 0,0010	
7.Gün		-0,0065 $\pm$ 0,0010	
1. Gün	0,50	-0,0225 $\pm$ 0,0037	24 $\pm$ 0,075
3.Gün		-0,0088 $\pm$ 0,0017	
6.Gün		-0,0051 $\pm$ 0,0009	
7.Gün		-0,0051 $\pm$ 0,0010	
1. Gün	1	-0,0100 $\pm$ 0,0018	19 $\pm$ 0,063
3.Gün		-0,0090 $\pm$ 0,0016	
6.Gün		-0,0120 $\pm$ 0,0020	
7.Gün		-0,0130 $\pm$ 0,0020	
1. Gün	1,50	-0,0166 $\pm$ 0,0030	25 $\pm$ 0,14
3.Gün		-0,0077 $\pm$ 0,0010	
6.Gün		-0,0066 $\pm$ 0,0010	
7.Gün		-0,0098 $\pm$ 0,0018	
Kontrol	-	-0,0318 $\pm$ 0,0042 -0,0106 $\pm$ 0,0017 -0,0059 $\pm$ 0,0010 -0,0062 $\pm$ 0,0010	Metal Uygulanmadı

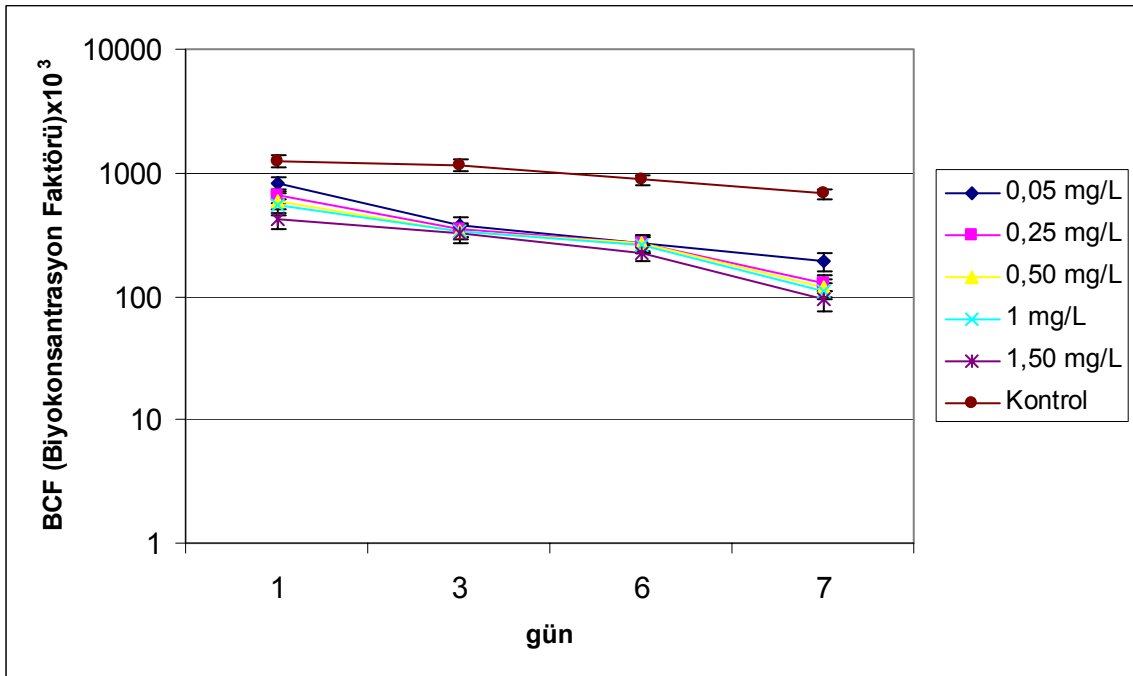
Tablo 4.11. 5. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Süre	Verilen Metal Kons. (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı (Hücre/ml) $\times 10^4$	Deney Sonu Hücre Sayısı (Hücre/ml) $\times 10^4$	BA** ($\mu\text{gCu/g}$) $\times 10^3$	BCF $\times 10^3$	Suda Kalan Metal (mg/L)	% Giderim	Klorofil (mg/m^3)
1. Gün	0.05	24	22	12,12 $\pm$ 1,80	815,65 $\pm$ 120,15	0,036 $\pm$ 0,006	72	1,10 $\pm$ 0,10
3.Gün			21	17,15 $\pm$ 2,60	382,06 $\pm$ 48,22	0,027 $\pm$ 0,004		1,35 $\pm$ 0,14
6.Gün			21	21,43 $\pm$ 3,50	272,03 $\pm$ 44,20	0,024 $\pm$ 0,004		0,90 $\pm$ 0,13
7.Gün			15	27,36 $\pm$ 4,30	192,10 $\pm$ 30,01	0,014 $\pm$ 0,002		0,15 $\pm$ 0,015
1. Gün	0.25	24	18	13,06 $\pm$ 1,90	654,59 $\pm$ 90,28	0,065 $\pm$ 0,010	84,40	1,45 $\pm$ 0,13
3.Gün			17	17,66 $\pm$ 3,20	343,59 $\pm$ 45,87	0,058 $\pm$ 0,010		0,40 $\pm$ 0,07
6.Gün			15	22,022 $\pm$ 3,52	268,29 $\pm$ 43,36	0,046 $\pm$ 0,008		0,38 $\pm$ 0,06
7.Gün			13	28,80 $\pm$ 4,70	129,28 $\pm$ 20,16	0,039 $\pm$ 0,0058		0,10 $\pm$ 0,015
1. Gün	0.50	19	15	14,29 $\pm$ 2,62	595,69 $\pm$ 84,45	0,082 $\pm$ 0,015	100	0,68 $\pm$ 0,10
3.Gün			14	18,56 $\pm$ 3,23	338,91 $\pm$ 42,37	0,056 $\pm$ 0,009		0,45 $\pm$ 0,07
6.Gün			13	23,00 $\pm$ 3,85	263,87 $\pm$ 40,75	0,024 $\pm$ 0,004		0,35 $\pm$ 0,05
7.Gün			12	36,76 $\pm$ 6,23	117,89 $\pm$ 18,25	-		0,25 $\pm$ 0,04
1. Gün	1.00	24	16	15,71 $\pm$ 2,37	536,14 $\pm$ 80,10	0,107 $\pm$ 0,018	91,50	0,80 $\pm$ 0,13
3.Gün			13	18,63 $\pm$ 3,22	338,17 $\pm$ 43,71	0,102 $\pm$ 0,015		0,65 $\pm$ 0,12
6.Gün			10	27,73 $\pm$ 4,25	263,53 $\pm$ 38,45	0,097 $\pm$ 0,014		0,28 $\pm$ 0,04
7.Gün			8	37,28 $\pm$ 6,60	110,86 $\pm$ 14,80	0,085 $\pm$ 0,015		0,20 $\pm$ 0,03
1. Gün	1.50	21	15	16,03 $\pm$ 3,18	414,25 $\pm$ 60,81	0,136 $\pm$ 0,021	95,80	1,95 $\pm$ 0,15
3.Gün			10	19,30 $\pm$ 3,45	320,16 $\pm$ 50,20	0,104 $\pm$ 0,018		0,80 $\pm$ 0,09
6.Gün			9	39,73 $\pm$ 5,69	226,48 $\pm$ 35,16	0,082 $\pm$ 0,015		0,45 $\pm$ 0,05
7.Gün			7	54,87 $\pm$ 7,98	93,33 $\pm$ 16,34	0,063 $\pm$ 0,010		0,28 $\pm$ 0,03
1. Gün	Kontrol	26	17	7,24 $\pm$ 0,50	1261,09 $\pm$ 140,35	0,078 $\pm$ 0,012	-	1,25 $\pm$ 0,12
3.Gün			16	9,09 $\pm$ 0,68	1163,40 $\pm$ 120,21	0,034 $\pm$ 0,005		0,60 $\pm$ 0,08
6.Gün			14	10,60 $\pm$ 0,65	870,95 $\pm$ 68,53	0,017 $\pm$ 0,003		0,10 $\pm$ 0,015
7.Gün			13	11,63 $\pm$ 0,70	676,63 $\pm$ 55,78	0,010 $\pm$ 0,0016		0,08 $\pm$ 0,013

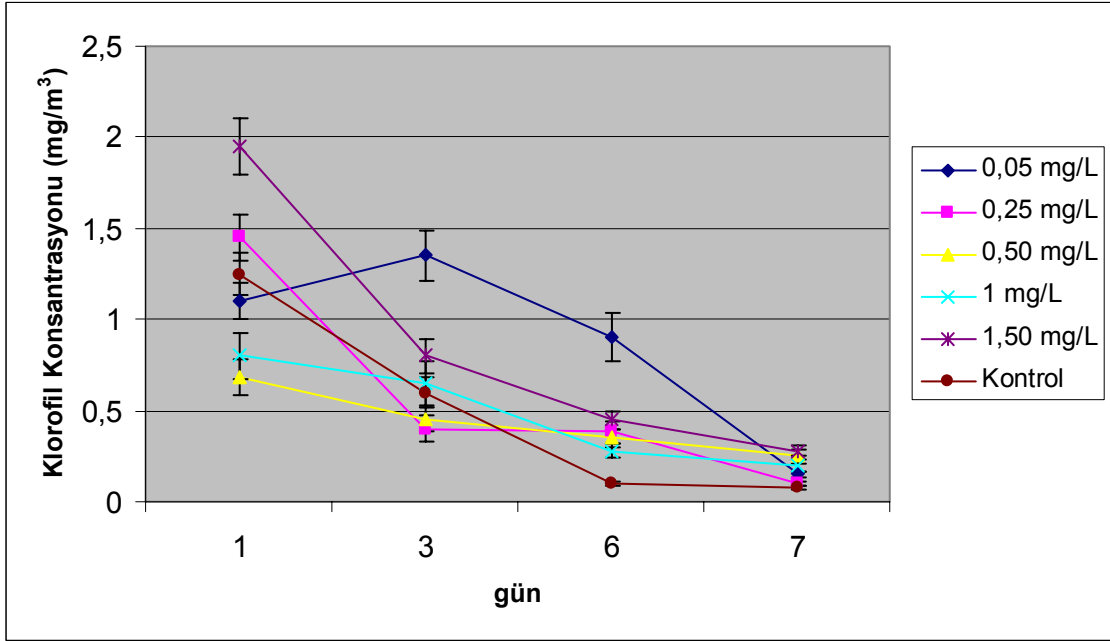
BA** : ($\mu\text{g Cu /g organizma}$)



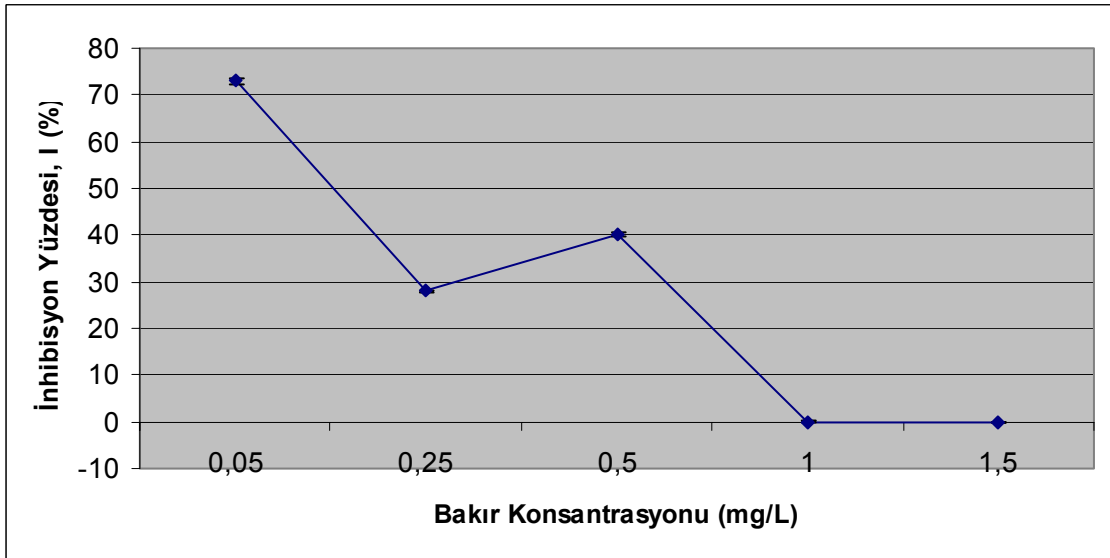
Şekil 4.21. 5. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BA Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



Şekil 4.22. 5. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen BCF Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



Şekil 4.23. 5.Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



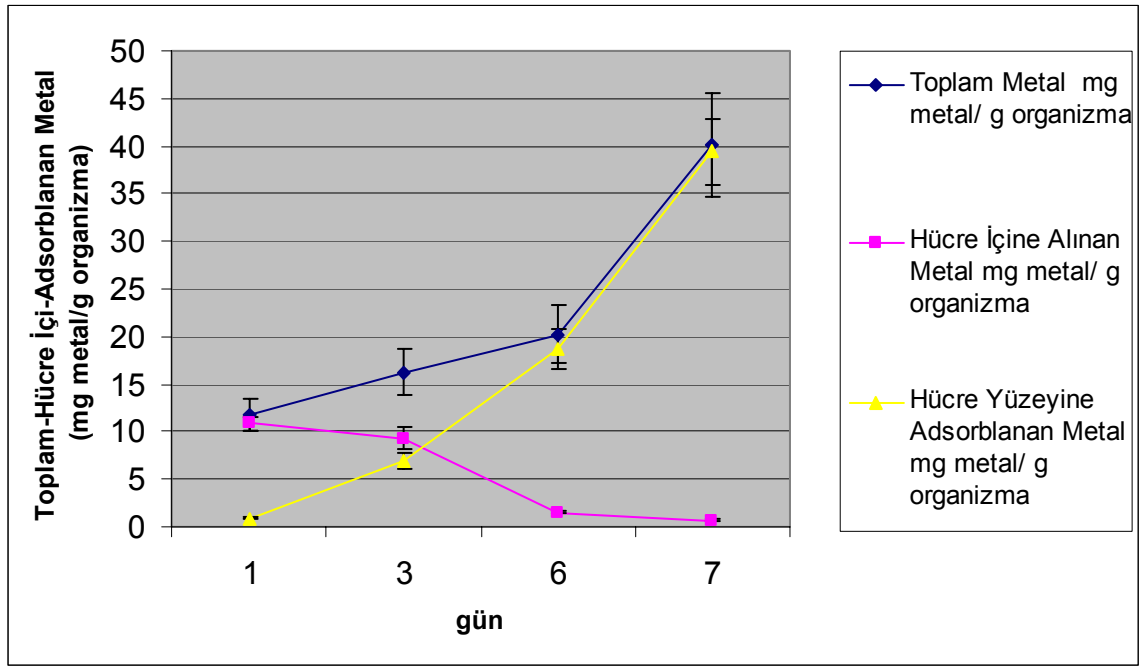
Şekil 4.24. 5.Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana Karşı Değişen İnhibisyon Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Tablo 4.12. 5. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat ⁻¹	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,05	-0,00320±0,00060 -0,00170±0,00030 -0,00086±0,00012 -0,00270±0,00050	73±0,72
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,25	-0,01160±0,0020 -0,00460±0,00080 -0,00320±0,0006 -0,00360±0,0006	28±0,28
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,50	-0,00960±0,0018 -0,00410±0,0008 -0,00260±0,0004 -0,00270±0,0005	40±0,37
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1	-0,01650±0,003 -0,00840±0,0015 -0,00600±0,0010 -0,00650±0,0010	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,16
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1,50	-0,01380±0,0025 -0,01020±0,0015 -0,00580±0,0010 -0,00650±0,0010	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,071
Kontrol	-	-0,01730±0,0030 -0,00660±0,0010 -0,00420±0,00080 -0,00400±0,00080	Metal Uygulanmadı

Tablo 4.13. 5. SET Hücre İçine Alınan ve Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal Miktarları

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Toplam Metal (mg metal/ g organizma)	Hücre İçine Alınan Metal (mg metal/ g organizma)	Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal (mg metal/ g organizma)
1. Gün	0,05	10,40±1,78	10,18±1,20	0,22±0,02
3.Gün		12,78±2,00	7,93±0,70	4,85±0,70
6.Gün		18,60±2,47	1,17±0,10	17,43±2,12
7.Gün		22,11±3,53	0,17±0,02	21,94±2,51
1. Gün	0,25	10,80±1,67	10,72±1,20	0,08±0,009
3.Gün		15,37±2,20	11,84±1,16	3,53±0,35
6.Gün		18,70±2,67	3,85±0,32	14,85±1,10
7.Gün		24,35±3,45	3,37±0,36	20,98±2,10
1. Gün	0,50	11,08±1,35	10,27±0,98	0,81±0,10
3.Gün		15,56±2,39	8,89±1,12	6,67±0,81
6.Gün		19,83±2,85	1,27±0,10	18,56±2,12
7.Gün		31,24±4,35	0,65±0,08	30,59±3,63
1. Gün	1	11,77±1,59	10,85±0,80	0,92±0,10
3.Gün		16,22±2,45	9,30±1,10	6,92±0,85
6.Gün		20,20±3,05	1,52±0,10	18,68±2,10
7.Gün		40,10±5,45	0,68±0,07	39,42±3,50
1. Gün	1,50	13,27±2,00	7,72±0,95	5,55±0,95
3.Gün		16,33±2,26	7,68±1,05	8,65±1,25
6.Gün		20,40±2,83	6,86±0,85	13,54±2,12
7.Gün		44,00±6,10	0,43±0,08	43,57±4,16
1. Gün	Kontrol	1,29±0,18	0,67±0,09	0,62±0,09
3.Gün		1,72±0,26	0,65±0,09	1,07±0,10
6.Gün		1,65±0,23	0,43±0,08	1,22±0,10
7.Gün		1,07±0,15	0,15±0,01	0,92±0,09



Şekil 4.25. 5. Setteki 1 mg/L'lik Bakır Konsantrasyonunda *P.tricornutum* Organizmasının Toplam Aldığı, Adsorbe Ettiği ve Hücre İçine Aldığı Metal Miktarı

4.6. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

Bu sette organizmanın metal alımı oldukça yüksek çıkmıştır. BA değerleri 10^8 ve BCF değerleri ise 10^{10} mertebesindedir. 4. sette aynı organizmanın yüksek konsantrasyonlu çinko değerleri ile kıyaslandığında BA 10^2 kat, BCF ise 10^4 kat artmıştır. Bu sonuç düşük konsantrasyonda *D.tertiolecta*'nın çinko alımının daha yüksek olduğunu göstermektedir. Özellikle 0,05-0,25 ve 0,50 mg/L'lik çinko konsantrasyonlarında suda çinko metali olmadığından BCF değerleri hesaplanamamıştır. Suda metalin bulunmayışı organizma tarafından sudan çinko alımın yüksek olduğunu göstermektedir. Organizmanın sudan metali alması sonucu özellikle BA değerlerinde büyük oranda artışlar meydana getirmiştir (Tablo 4.14.). Organizmaya alınan metal (BA ve BCF değerlerine bakıldığında) fazla olmasına karşın, toksik etki göstermemiştir (Tablo 4.15.). Bu da metalin organizma tarafından kullanıldığının göstergesidir. Genel olarak tüm çinko konsantrasyonlarında yüksek oranda metal giderimi gerçekleşmiştir (Tablo 4.14.).

4.6. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

EDTA'nın olduğu koşulda ise BA ve BCF değerleri incelendiğinde EDTA'nın olmadığı koşula göre organizmaya metal alımının azaldığı gözlemlenmiştir. BA ve BCF değerleri 10^7 mertebesinde. Aynı setin EDTA'sız koşulu ile kıyaslandığında BA'da 10, BCF'de 10^3 kat azalma gözlemlenmiştir. Organizmaya metal alımı azaldığından klorofil konsantrasyonundaki azalmalar, EDTA'sız koşuldakinden daha küçüktür (Tablo 4.16). Uygulanan konsantrasyonlarda inhibisyona rastlanmamıştır (Tablo 4.17.).

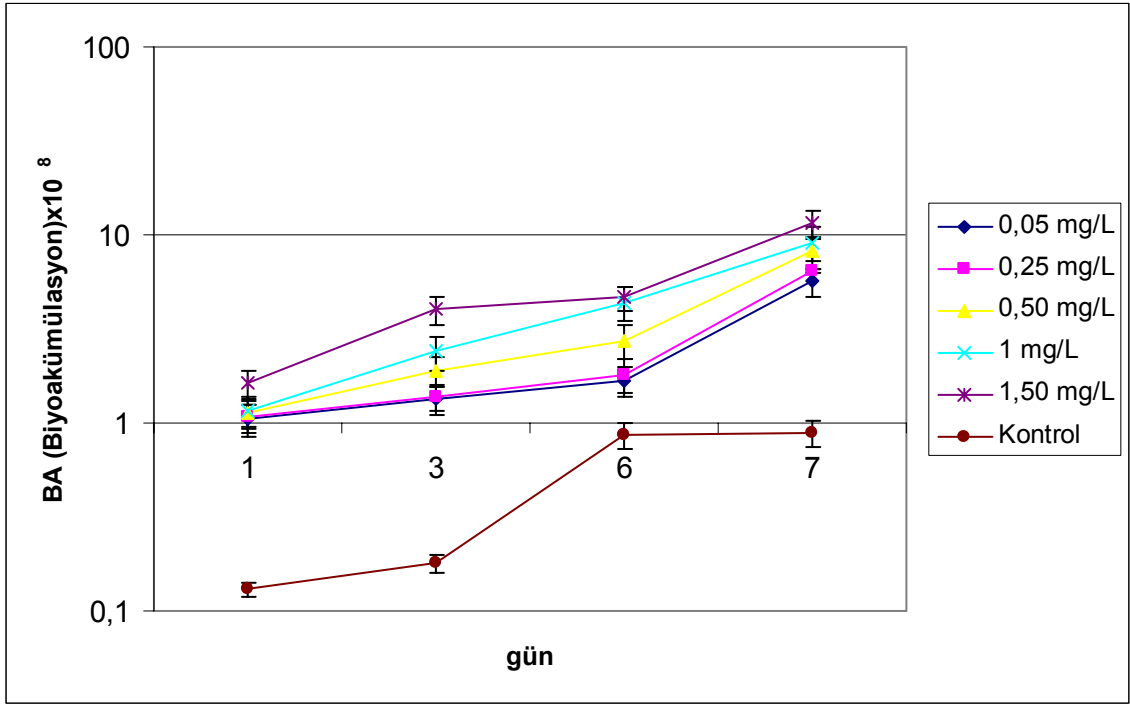
Hücre içine alınan ve hücre yüzeyine adsorblanan metal miktarları (Tablo 4.18.)'de gösterilmiştir. hücre içine alınan metal miktarında azalmalar olurken, hücre yüzeyine adsorblanan metal miktarında ise artışlar olmuştur. Örnek olarak 0,25 mg/L'lik Zn konsantrasyonu için hücre içi ve adsorblanan Zn grafiği çizilmiştir (Şekil 4.34.)

Torres ve diğerleri, 1998, alglerde kadminyumun toksisitesini incelemişlerdir. Kadminyumun hücre içine alımı enerjiye bağımlı bir prosestir. Çünkü kadminyum, hücre metabolizmasında yaptığı toksisite ile hücreyi kadminyum alımında azalmaya zorlar. Bu sebeple adsorblanan ve hücre içine alınan metal arası fark, maruziyet konsantrasyonu ve süresi arttıkça artar. Genel olarak tüm çinko konsantrasyonlarında yüksek oranda metal giderimi gerçekleşmiştir (Tablo 4.16.).

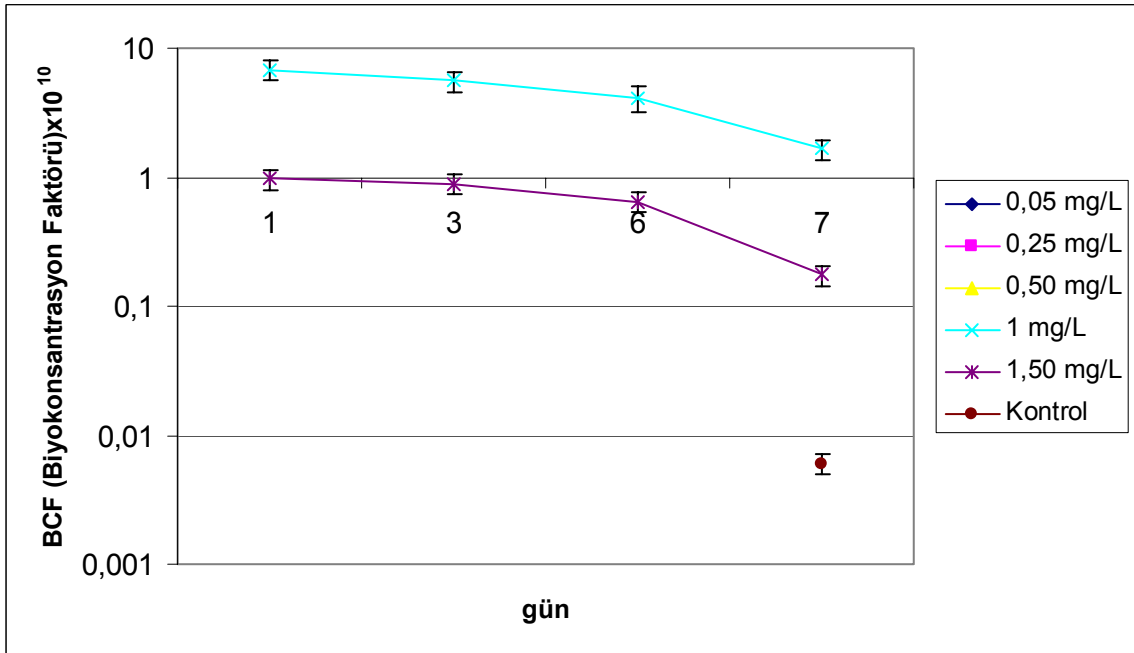
Tablo 4.14. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

Süre	Verilen Metal Kons. (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı Hücre /ml $\times 10^4$	Deney Sonrası Hücre Sayısı Hücre /ml $\times 10^4$	BA ** ($\mu\text{gZn/g}$) $\times 10^8$	BCF $\times 10^{10}$	Suda Kalan Metal (mg/L)	% Giderim	Klorofil (mg/m^3)
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,05	16	5 3 3 2	1,04 $\pm$ 0,20 1,33 $\pm$ 0,22 1,67 $\pm$ 0,31 5,64 $\pm$ 0,95	- - - -	- - - -	100	1,35 $\pm$ 0,20 1,10 $\pm$ 0,18 0,97 $\pm$ 0,16 0,56 $\pm$ 0,10
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,25	5	5 2 1 1	1,06 $\pm$ 0,19 1,39 $\pm$ 0,22 1,82 $\pm$ 0,36 6,44 $\pm$ 1,22	- - - -	- - - -	100	0,94 $\pm$ 0,16 0,92 $\pm$ 0,15 0,70 $\pm$ 0,10 0,11 $\pm$ 0,017
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,50	3	6 5 4 2	1,12 $\pm$ 0,20 1,89 $\pm$ 0,35 2,75 $\pm$ 0,56 8,16 $\pm$ 1,50	- - - -	- - - -	100	3,72 $\pm$ 0,35 2,67 $\pm$ 0,22 1,08 $\pm$ 0,16 0,21 $\pm$ 0,40
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1,00	10	8 6 2 1	1,16 $\pm$ 0,20 2,40 $\pm$ 0,50 4,36 $\pm$ 0,90 9,10 $\pm$ 1,80	6,80 $\pm$ 1,20 5,60 $\pm$ 1,00 4,13 $\pm$ 0,90 1,67 $\pm$ 0,30	0,058 $\pm$ 0,010 0,016 $\pm$ 0,003 0,012 $\pm$ 0,002 0,002 $\pm$ 0,0003	99,8	2,76 $\pm$ 0,30 1,57 $\pm$ 0,19 0,16 $\pm$ 0,03 0,03 $\pm$ 0,006
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1,50	6	4 3 3 1	1,63 $\pm$ 0,28 4,02 $\pm$ 0,70 4,63 $\pm$ 0,70 11,58 $\pm$ 1,980	0,97 $\pm$ 0,18 0,88 $\pm$ 0,15 0,65 $\pm$ 0,12 0,17 $\pm$ 0,03	0,066 $\pm$ 0,010 0,024 $\pm$ 0,004 0,022 $\pm$ 0,004 0,012 $\pm$ 0,002	99,2	1,87 $\pm$ 0,24 1,69 $\pm$ 0,28 0,84 $\pm$ 0,16 0,002 $\pm$ 0,0003
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	Kontrol	4	5 3 1 1	0,13 $\pm$ 0,01 0,18 $\pm$ 0,02 0,87 $\pm$ 0,14 0,88 $\pm$ 0,14	- - - 0,006 $\pm$ 0,001	- - - 0,001 $\pm$ 0,0002	-	1,18 $\pm$ 0,210 1,102 $\pm$ 0,170 1,1200,19 0,96 $\pm$ 0,16

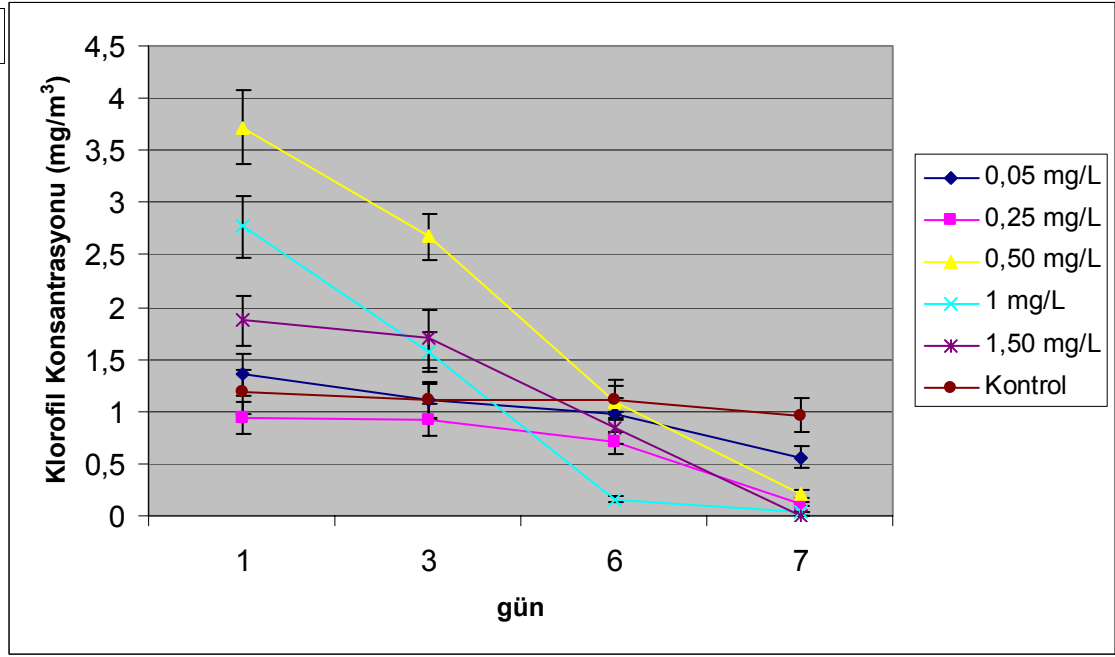
BA ** : ($\mu\text{g Zn /g organizma}$)



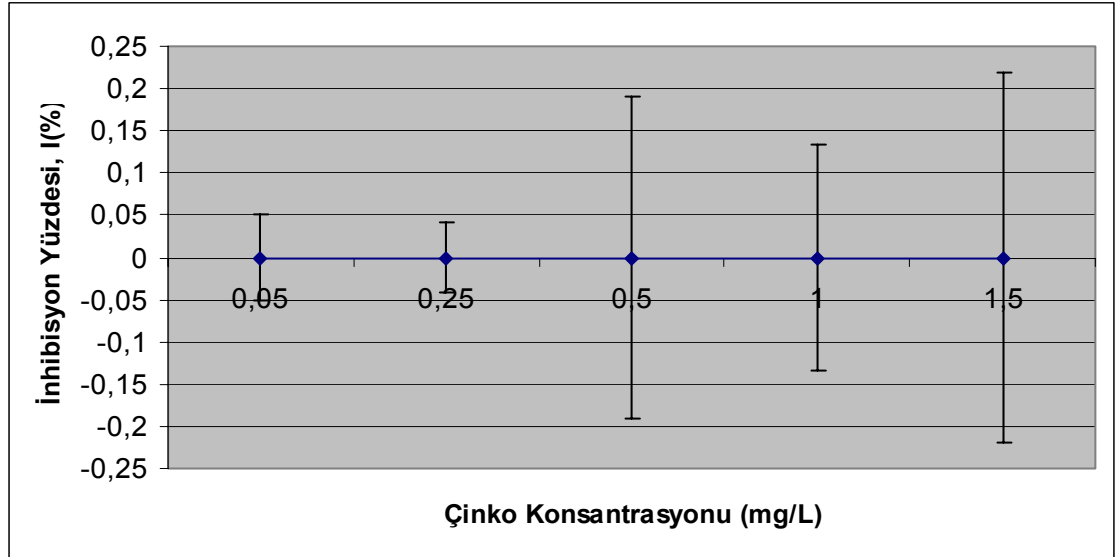
Şekil 4.26. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucu Zamanla BA'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.27. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucu Zamanla BCF 'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.28. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucu Zamanla Klorofilin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.29. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

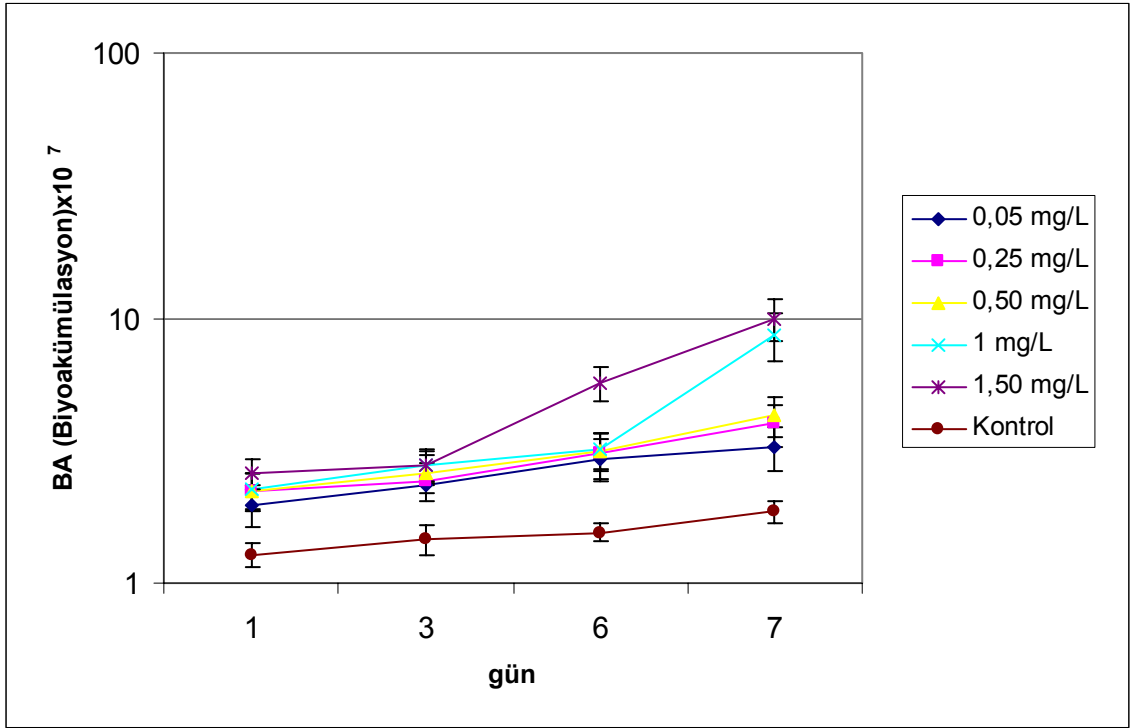
Tablo 4.15. 6. SET Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamana karşı Değişen Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat ⁻¹	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,05	-0,0480±0,010 -0,0230±0,004 -0,0116±0,0020 -0,0123±0,0020	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,050
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,25	0,000±0,0001 -0,0125±0,002 -0,0111±0,0016 -0,0095±0,0017	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,042
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,50	+0,0290±0,0050 +0,00720,0010 +0,0020±0,0004 -0,0023±0,00035	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,191
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1,00	-0,00917±0,0018 -0,00705±0,0010 -0,01110±0,0016 -0,0136±0,0020	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,134
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1,50	-0,01680±0,0030 -0,00959±0,0015 -0,00470±0,00070 -0,01060±0,0017	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,219
Kontrol	-	-0,00950±0,0016 -0,00390±0,00065 -0,00950±0,0019 -0,00820±0,0015	Metal Uygulanmadı

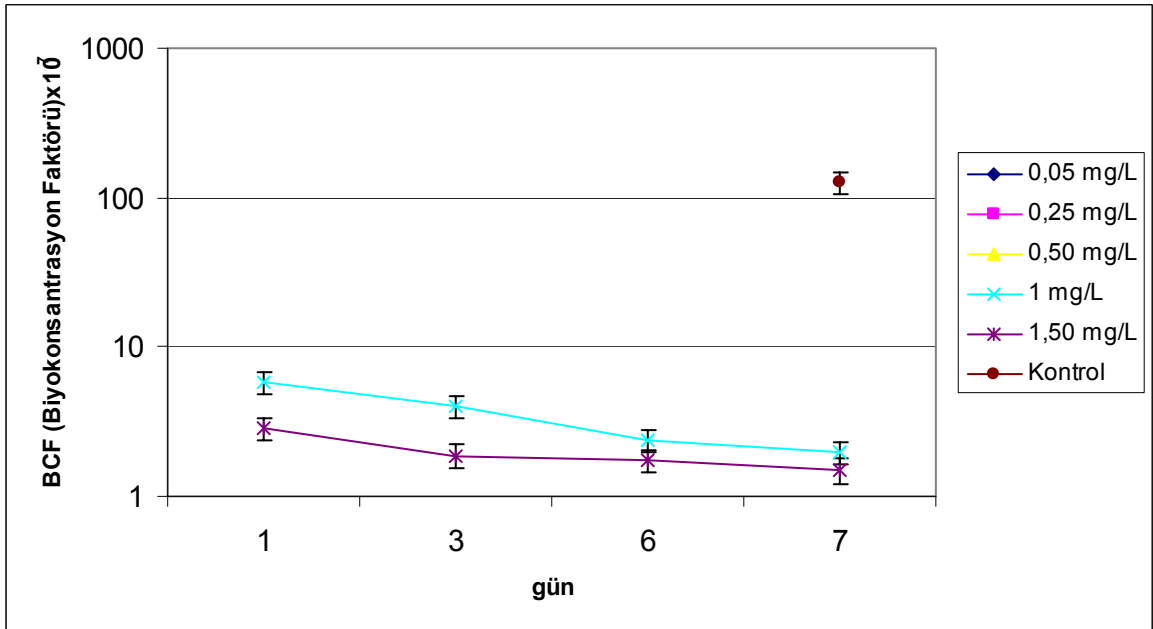
Tablo 4.16. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Süre	Verilen Metal Kons. (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı Hücre/ml $\times 10^4$	Deney Sonrası Hücre Sayısı Hücre/ml $\times 10^4$	BA** ($\mu\text{g Zn/g}$) $\times 10^7$	BCF $\times 10^7$	Suda Kalan Metal (mg/L)	% Giderim	Klorofil (mg/m^3)
1. Gün	0,05	16	8	1,98 $\pm$ 0,35	-	-	100	1,50 $\pm$ 0,20
3. Gün			6	2,36 $\pm$ 0,017	-	-		1,35 $\pm$ 0,22
6. Gün			5	2,96 $\pm$ 0,53	-	-		1,02 $\pm$ 0,18
7. Gün			5	3,27 $\pm$ 0,62	-	-		0,80 $\pm$ 0,12
1. Gün	0,25	5	5	2,23 $\pm$ 0,36	-	-	100	1,06 $\pm$ 0,18
3. Gün			4	2,43 $\pm$ 0,40	-	-		0,50 $\pm$ 0,09
6. Gün			3	3,08 $\pm$ 0,60	-	-		0,80 $\pm$ 0,12
7. Gün			2	4,00 $\pm$ 0,72	-	-		0,55 $\pm$ 0,09
1. Gün	0,50	3	4	2,23 $\pm$ 0,36	-	-	100	3,50 $\pm$ 0,30
3. Gün			4	2,62 $\pm$ 0,42	-	-		3,25 $\pm$ 0,32
6. Gün			3	3,17 $\pm$ 0,51	-	-		1,50 $\pm$ 0,20
7. Gün			2	4,29 $\pm$ 0,76	-	-		0,85 $\pm$ 0,10
1. Gün	1	10	9	2,26 $\pm$ 0,36	5,75 $\pm$ 0,97	0,025 $\pm$ 0,004	98	2,55 $\pm$ 0,28
3. Gün			8	2,77 $\pm$ 0,40	4,00 $\pm$ 0,70	0,021 $\pm$ 0,004		2,05 $\pm$ 0,20
6. Gün			5	3,18 $\pm$ 0,50	2,36 $\pm$ 0,38	0,020 $\pm$ 0,004		0,90 $\pm$ 0,16
7. Gün			4	8,63 $\pm$ 1,76	1,980 $\pm$ 0,34	0,020 $\pm$ 0,004		0,08 $\pm$ 0,015
1. Gün	1,50	6	4	2,60 $\pm$ 0,33	2,86 $\pm$ 0,52	0,023 $\pm$ 0,003	98,80	2,05 $\pm$ 0,31
3. Gün			4	2,81 $\pm$ 0,38	1,86 $\pm$ 0,34	0,020 $\pm$ 0,004		1,80 $\pm$ 0,30
6. Gün			3	5,73 $\pm$ 0,84	1,74 $\pm$ 0,29	0,019 $\pm$ 0,003		1,00 $\pm$ 0,18
7. Gün			3	10,00 $\pm$ 1,80	1,50 $\pm$ 0,28	0,018 $\pm$ 0,003		0,05 $\pm$ 0,009
1. Gün	Kontrol	4	4	1,28 $\pm$ 0,14	-	-	-	1,05 $\pm$ 0,20
3. Gün			4	1,46 $\pm$ 0,19	-	-		0,90 $\pm$ 0,16
6. Gün			3	1,55 $\pm$ 0,12	-	-		0,95 $\pm$ 0,17
7. Gün			1	1,86 $\pm$ 0,19	128,00 $\pm$ 21,43	0,010 $\pm$ 0,001		0,85 $\pm$ 0,10

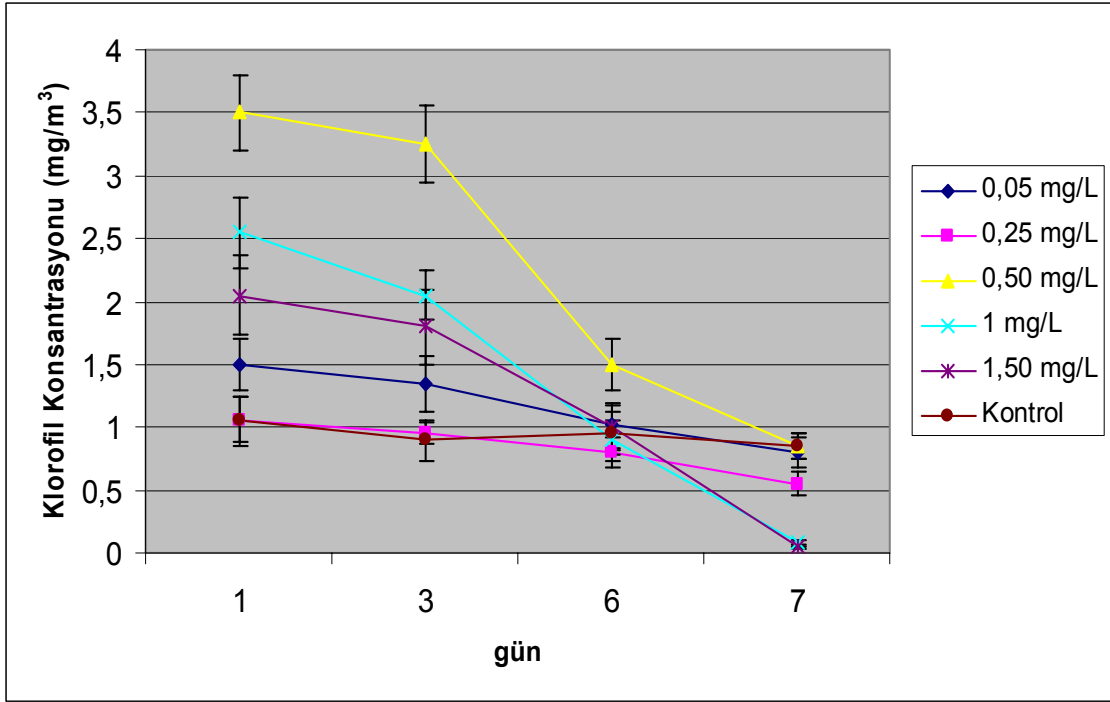
BA** : ($\mu\text{g Zn /g organizma}$)



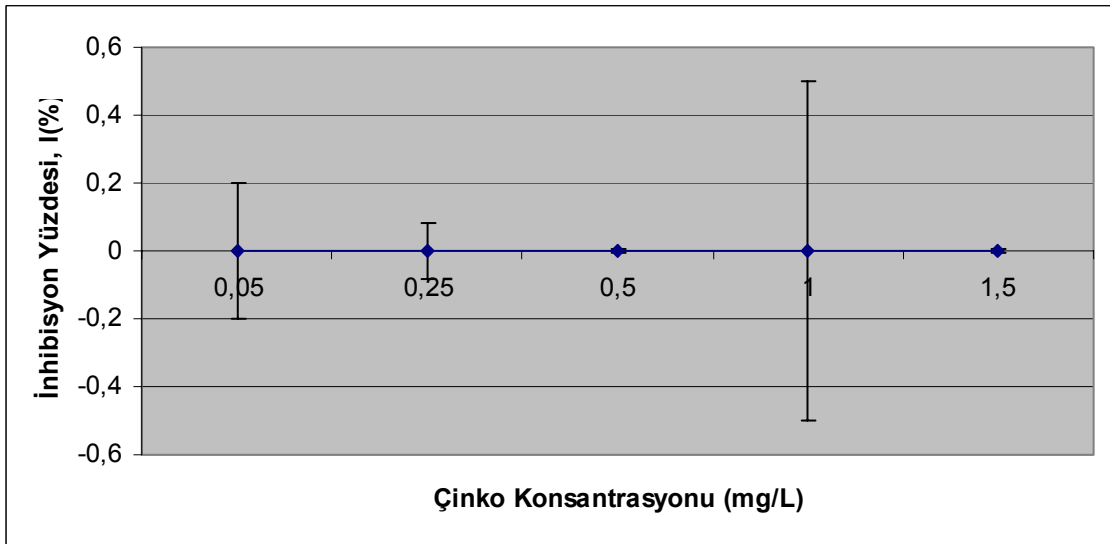
Şekil 4.30. 6.Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BA'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



Şekil 4.31. 6.Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BCF'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



Şekil 4.32. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla Zamanla Klorofilin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



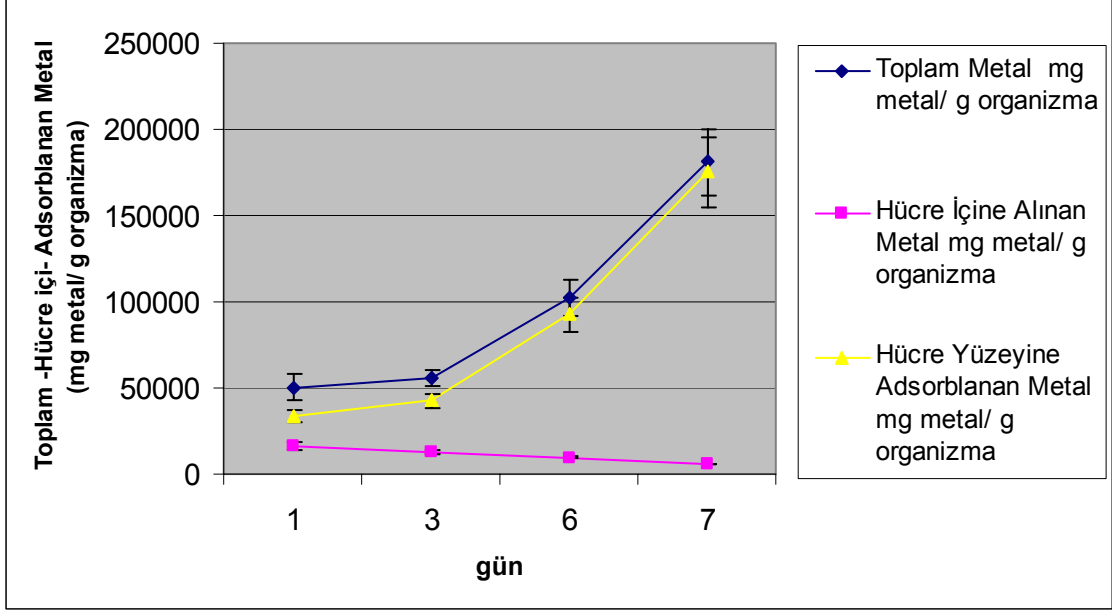
Şekil 4.33. 6. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Çinko Konsantrasyonuna karşı İnhibisyon Yüzdesi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Tablo 4.17. 6. SET Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Çinko Konsantrasyonuna karşı İnhibisyon Yüzdesi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat ⁻¹	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,05	-0,0280±0,0040 -0,0130±0,0020 -0,0080±0,0015 -0,0069±0,0010	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,20
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,25	0,0000±0,0001 -0,0029±0,00050 -0,0034±0,00067 -0,0054±0,00090	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,080
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,50	-0,0123±0,0020 -0,0041±0,0080 -0,0020±0,00040 0,0000±0,0001	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,005
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1	-0,00420±0,0008 -0,00300±0,0005 -0,00479±0,0008 -0,00543±0,0009	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,50
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1,50	-0,01680±0,0035 -0,00560±0,0010 -0,00479±0,0007 -0,00411±0,0008	I<1, inhibisyon yok 0 ± 0,003
Kontrol	-	0,0000±0,0001 0,0000±0,0001 -0,0019±0,0003 -0,0082±0,0015	Metal Uygulanmadı

Tablo 4.18. 6. SET Hücre İçine Alınan ve Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal Miktarları

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Toplam Metal (mg metal/ g organizma)	Hücre İçine Alınan Metal (mg metal/ g organizma)	Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal (mg metal/ g organizma)
1. Gün	0,05	43143±5450	12333±1350	30810±3050
3.Gün		53458±6520	10433±1262	43025±4551
6.Gün		101614±12650	11107±1050	90507±7800
7.Gün		178388±22200	5115±551	173273±15120
1. Gün	0,25	50128±7550	16389±2010	33739±3653
3.Gün		55854±5082	13095±1105	42759±3980
6.Gün		102365±10500	9741±981	92624±10230
7.Gün		180999±19420	5839±420	175160±20160
1. Gün	0,50	56070±6152,57	15695±1200	40375±4050
3.Gün		65987±15120,38	12690±1105	53297±4622
6.Gün		180946±20151,40	9464±782	171482±10800
7.Gün		223242±24180,65	6188±550	217054±12900
1. Gün	1	67064±7650,13	34555±3500	32509±3112
3.Gün		74412±8505	12750±1120	61662±3950
6.Gün		223509±23500	8906±782	214603±14214
7.Gün		327853±37160	7228±795	320628±18250
1. Gün	1,50	90670±9950,57	79688±9560	10982±750
3.Gün		126750±10500	17167±2620	109583±5784
6.Gün		454922±47150	8917±1151	446005±23600
7.Gün		500862±51120	7949±550	492913±27551
1. Gün	Kontrol	11840±1215	11259±1210	581±73
3.Gün		35385±3210	10483±937	24902±1445
6.Gün		38061±4520	7464±826	30597±1810
7.Gün		38120±4280	5115±585	33005±1950



Şekil 4.34. 6 SET 0,25 mg/L'lik Çinko Konsantrasyonunda *D. tertiolecta*'nın Organizmasının Toplam Aldığı, Adsorbe Ettiği ve Hücre İçine Aldığı Metal Miktarı

4.7. 7. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

Bu çalışmada 6.setten (EDTA'sız durum) farklı olarak ortama azot ve fosfor kaynağı eklenmiş ve metal alımına etkisi incelenmiştir. Azot-fosfor, organizmanın metal alımını uyararak arttırmıştır. Organizma, sudan azot ve fosfor temin ederken, organik madde ile beraber çinko metalini de almıştır. Özellikle de 0,25 mg/L, 0,50 mg/L'lik çinko konsantrasyonlarında 3-6-7.'ci günler ile 0,05 mg/L ve 1 mg/L'nin 1-3-6-7. 'ci günleri suda metal iyonu olmadığından BCF hesaplanamamıştır (Tablo 4.19.). Organizma sayısının azalmasına karşın, klorofil miktarında artışlar gözlemlenmiştir. Bu artışlar metal ile birlikte alınan azot ve fosfor nedeniyledir. 0,05 mg/L-0,25 mg/L çinko konsantrasyonunda hücre artışı olduğu durumda organizmanın klorofil içeriğinde de artışlar gözlemlenmiştir.

Metallerin toksisitesi ve biyokullanımı genel olarak organik şelatlarla (humik asit, EDTA..v.b.) bağlanma yolu ile azalmaktadır (Petersen ve Kusk, 2000)

İnhibisyon oranlarına baktığımızda 1 mg/L ve 1,50 mg/L çinko değerinde en yüksek değer olan %66'ya ulaşılmıştır. 6. Setin EDTA'sız durumu ile kıyaslandığında inhibisyonun yüksek oluşu organizmaya metal alımının yüksek olduğunu göstermektedir.

Okay ve diğerleri, 1996, İzmit körfezinde yaptıkları kısa süreli algal toksisite çalışmalarında, alglerin bulundukları ortamdan besin tuzu alım hızlarının, toksik madde alım hızlarından daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Pek çok organik ve inorganik kirletici içeren kompleks atık suların algal büyümeyi hem inhibe edici hem de uyarıcı yönde etkileyebileceği sonucuna ulaşmışlardır. Ancak, ortama nutrient eklemesi hücre gelişimini daima pozitif yönde etkilemeyeceği gibi, ortama metal girişi de her zaman inhibisyona sebep olmayabilir. Gübre ve petrokimya endüstrisinden gelen yüksek konsantrasyonda azot ve fosfor içerikli atıksular ile seyreltilmiş *P.tricornutum* ve *D.tertiolecta* alglerinin inhibisyonları; tekstil, kağıt, pestisit ve kompleks atık su seyrelmelerindeki inhibisyonlarına göre daha düşük çıkmıştır (Okay ve diğerleri, 1996). 1,50 mg/L'lik çinko konsantrasyonlarında %97,60; diğer çinko konsantrasyonlarında ise %100 oranlarında metal giderimi olmuştur (Tablo 4.19.).

4.7. 7. Set Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Organizmaların bulunduğu ortama azot ve fosfor eklemesi ile organizmanın metal alımı artmıştır. Ancak, EDTA çözeltisi ile alg örneklerinin yıkanması, algler tarafından tutulan metali filtre yüzeyinden yıkayarak canlı organizmanın adsorbladığı ve/veya hücre içine aldığı metal miktarında azalmalara sebep olmuştur (6. Setin son tablosu Tablo 4.18. ile 7. setin son tablosu Tablo 4.23. kıyaslandığında adsorblanan ve hücre içine alınan miktarlardan görülmektedir).

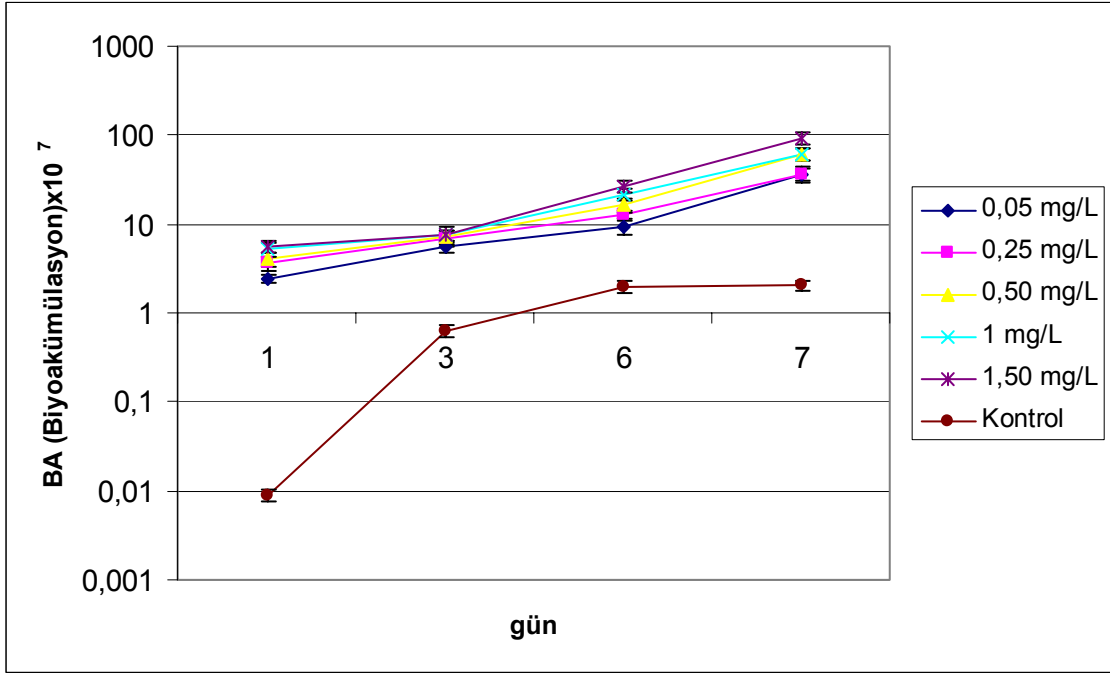
0,25 mg/L ve 1,5 mg/L'lik Zn konsantrasyonunda klorofil içeriğinde artış, diğerlerinde ise azalış gözlemlenmiştir. En düşük inhibisyon yüzdesi ise 0,25 mg/L'lik Zn konsantrasyonunda olmuştur.

Metallerin organizmalara toksik olma özelliği metalden metale ve canlıdan canlıya değişmektedir. EPA'nın akuatik yaşamı korumak için akut (kısa süreli) su kalite koşullarında çinko için belirlenen sınır değerleri 24-39 mg/L olarak verilmektedir (Pelletier, 1984). Yeşil alg *Selenastrum capricornutum* ise 30 µg/L'lik çinko konsantrasyonunda inhibe olurken, öte yandan diğer yeşil alglerde 4 günlük EC₅₀ değeri 200 µg/L'den büyük çıkmıştır (EPA, 2002; EPA- Quality Criteria for Water, 1986). 0,25 mg/L'lik çinko konsantrasyonunda %100 oranında, diğer konsantrasyonlarda ise %90-%100 oranları arasında arasında metal giderimi olmuştur (Tablo 4.21).

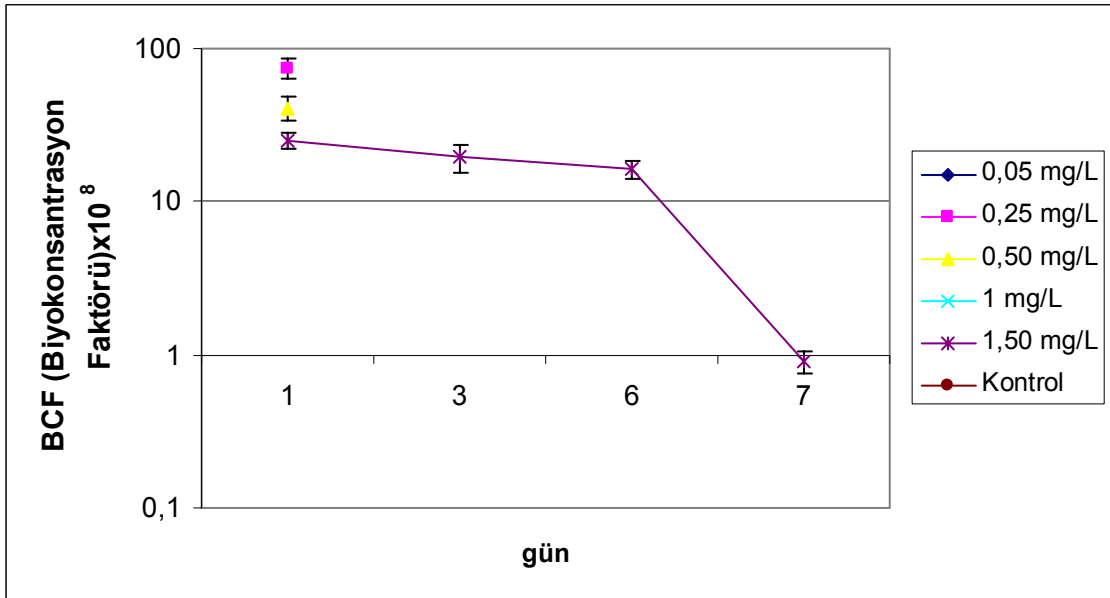
Tablo 4.19. 7. SET Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

Süre	Verilen Metal Kons. (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı Hücre/ml x 10 ⁴	Deney Sonu Hücre Sayısı Hücre /ml x 10 ⁴	BA ** (µg Zn /g) x 10 ⁷	BCF x 10 ⁸	Suda Kalan Metal (mg/L)	% Giderim	Klorofil (mg/m ³)
1.Gün	0,05	4	2	2,44±0,25	-	-	100	1.84±0,31
3.Gün			2	5,61±0,82	-	-		0.94±0,18
6.Gün			7	9,35±1,85	-	-		3.87±0,35
7.Gün			5	36,38±7,20	-	-		4.22±0,45
1.Gün	0,25	4	1	3,59±0,62	74,69±10,23	0,012±0,002	100	0.98±0,15
3.Gün			5	6,67±1,16	-	-		2.28±0,31
6.Gün			4	12,45±1,82	-	-		2.88±0,51
7.Gün			7	36,66±5,26	-	-		1.26±0,20
1.Gün	0,50	3	1	4,04±0,72	41,00±7,20	0,036±0,006	100	1.14±0,18
3.Gün			1	7,14±1,23	-	-		1.00±0,16
6.Gün			1	16,27±3,12	-	-		2.07±0,20
7.Gün			2	60,55±9,23	-	-		3.39±0,51
1.Gün	1,00	8	6	5,27±0,93	-	-	100	1.26±0,20
3.Gün			5	7,43±1,15	-	-		1.91±0,28
6.Gün			3	21,41±3,53	-	-		0.62±0,10
7.Gün			3	60,77±9,28	-	-		1.79±0,29
1.Gün	1,50	5	3	5,58±0,82	25,00±3,10	0,26±0,04	97,6	3.36±0,30
3.Gün			4	7,77±1,35	19,35±3,85	0,18±0,03		1.38±0,23
6.Gün			3	26,89±4,55	16,25±2,12	0,05±0,009		0.75±0,10
7.Gün			3	92,22±15,10	0,90±0,15	0,03±0,006		0.90±0,19
1.Gün	Kontrol	5	1	0,009±0,0015	-	-	-	2.79±0,30
3.Gün			1	0,63±0,10	-	-		2.12±0,35
6.Gün			4	1,95±0,30	-	-		0.37±0,05
7.Gün			5	2,05±0,32	-	-		2.95±0,30

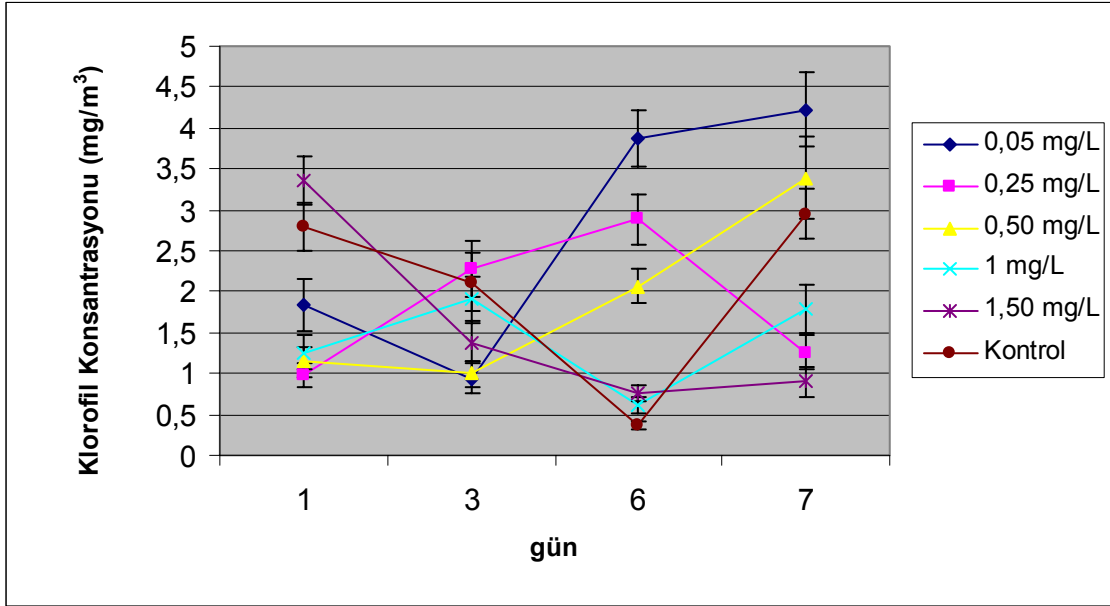
BA ** : (µg Zn /g organizma)



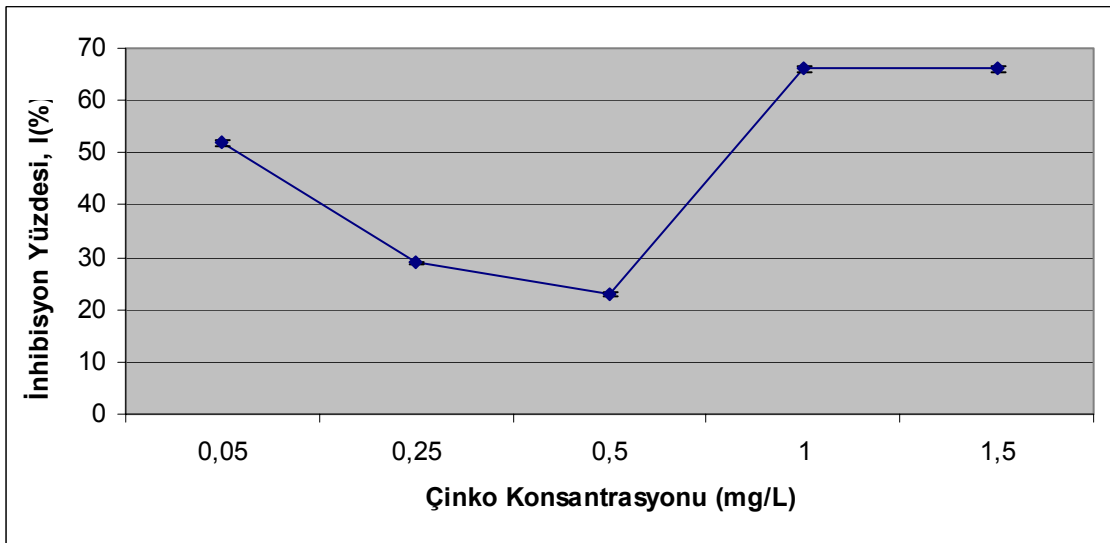
Şekil 4.35. 7.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BA'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.36. 7.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BCF'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.37. 7. Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla Klorofil Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.38. 7. Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko Konsantrasyonuna Karşı Değişen İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

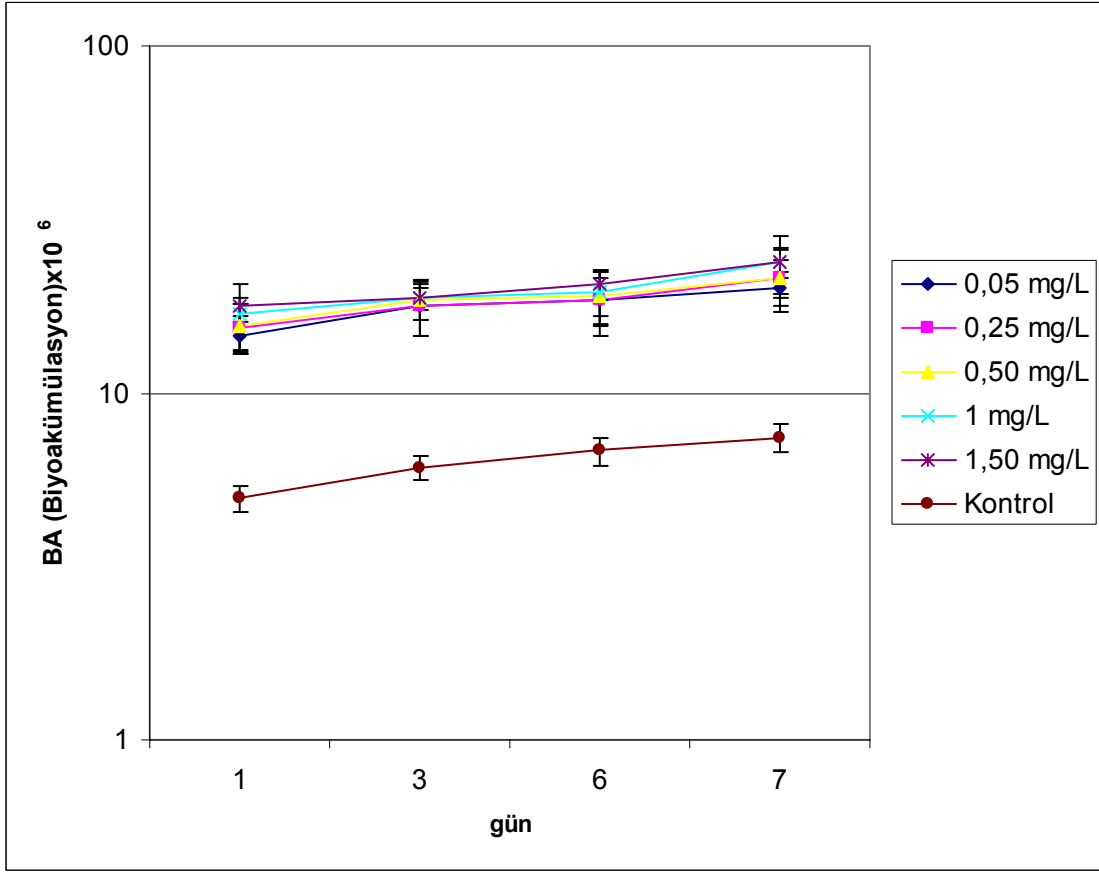
Tablo 4.20. 7. Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko Konsantrasyonuna karşı Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat ⁻¹	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,05	-0,0286 $\pm$ 0,0040 -0,0095 $\pm$ 0,0010 -0,0039 $\pm$ 0,006 -0,0013 $\pm$ 0,0002	52 $\pm$ 0,56
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,25	-0,05740 $\pm$ 0,0100 -0,00319 $\pm$ 0,0004 0,000 $\pm$ 0,0001 -0,00337 $\pm$ 0,0006	29 $\pm$ 0,16
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,50	-0,04500 $\pm$ 0,0080 -0,01500 $\pm$ 0,0020 -0,00750 $\pm$ 0,0012 -0,00236 $\pm$ 0,0003	23 $\pm$ 0,45
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1	-0,0115 $\pm$ 0,0014 -0,0064 $\pm$ 0,0011 -0,0067 $\pm$ 0,0012 -0,0057 $\pm$ 0,0010	66 $\pm$ 0,64
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1.50	-0,02080 $\pm$ 0,0030 -0,00290 $\pm$ 0,0004 -0,00347 $\pm$ 0,0006 -0,00298 $\pm$ 0,0005	66 $\pm$ 0,66
Kontrol	-	-0,06660 $\pm$ 0,0100 -0,02220 $\pm$ 0,0030 -0,00148 $\pm$ 0,0002 0,000 $\pm$ 0,0001	Metal Uygulanmadı

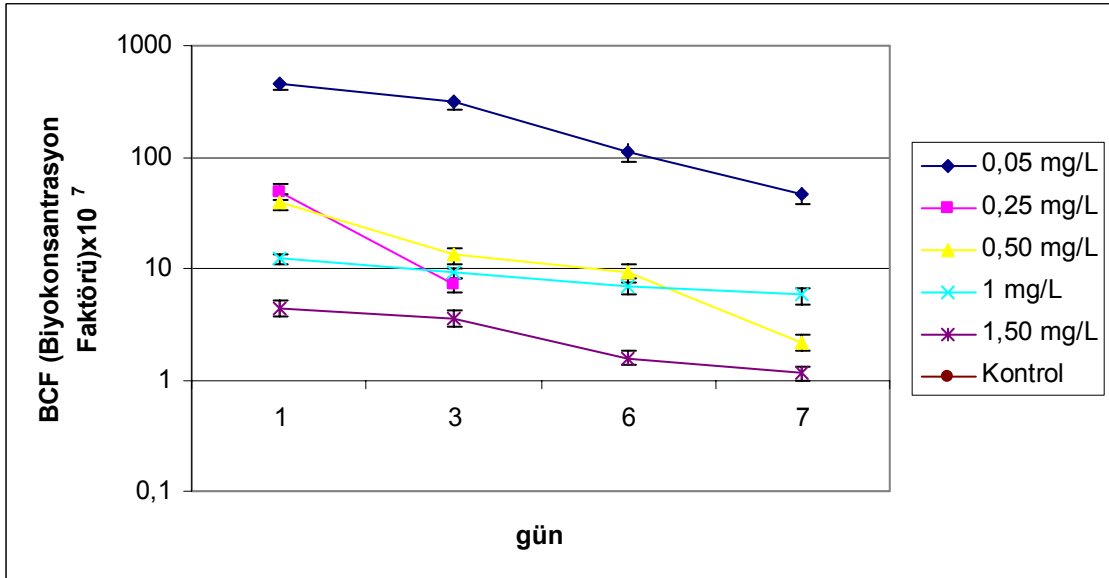
Tablo 4.21. 7. SET Sentetik Deniz Suyunda *D.tertiolecta*'nın Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Süre	Verilen Metal Kons. (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı Hücre /ml x 10 ⁴	Deney Sonu Hücre Sayısı Hücre /ml x 10 ⁴	BA** (µgZn /g) x10 ⁶	BCF x 10 ⁷	Suda Kalan Metal (mg/L)	% Giderim	Klorofil (mg/m ³)
1. Gün	0,05	4	3	14,60±1,52	462±60,10	0,030±0,004	96	1,103±0,19
3.Gün			3	17,77±3,16	307±40,20	0,004±0,0008		0,49±0,08
6.Gün			5	18,48±3,92	112±20	0,003±0,0005		0,48±0,08
7.Gün			6	20,12±2,32	45,82±7,60	0,002±0,0003		0,461±0,09
1. Gün	0,25	4	1	15,49±2,56	49±8,18	0,104±0,018	100	0,640±0,12
3.Gün			6	17,90±3,38	7,15±1,12	0,049±0,008		0,515±0,09
6.Gün			5	18,59±2,86	-	-		0,648±0,12
7.Gün			6	21,47±4,28	-	-		1,585±0,23
1. Gün	0,50	3	2	15,62±2,36	40±7	0,23±0,03	97,20	1,06±0,17
3.Gün			2	18,48±2,15	13,20±2,20	0,203±0,04		3,49±0,25
6.Gün			3	19,16±3,58	9,10±1,65	0,142±0,02		1,08±0,18
7.Gün			4	21,52±2,75	2,16±0,35	0,014±0,002		0,460±0,09
1. Gün	1,00	8	2	16,83±3,80	12,09±1,30	0,422±0,07	95,80	0,000±0,001
3.Gün			2	18,75±2,55	9,10±1,10	0,309±0,05		0,82±0,12
6.Gün			4	19,55±2,85	6,85±1,12	0,221±0,04		0,43±0,08
7.Gün			5	23,71±4,51	5,73±0,95	0,042±0,008		0,69±0,08
1. Gün	1,50	5	4	17,73±1,15	4,40±0,72	0,433±0,07	90,13	0,48±0,10
3.Gün			4	18,80±1,40	3,58±0,62	0,432±0,08		2,19±0,18
6.Gün			3	20,62±2,12	1,57±0,23	0,314±0,05		2,54±0,21
7.Gün			4	23,83±2,40	1,14±0,18	0,148±0,02		1,25±0,20
1. Gün	Kontrol	5	2	4,97±0,45	-	-	-	0,52±0,08
3.Gün			2	6,09±0,47	-	-		0,402±0,08
6.Gün			4	6,81±0,65	-	-		0,267±0,04
7.Gün			5	7,44±0,70	-	-		0,816±0,15

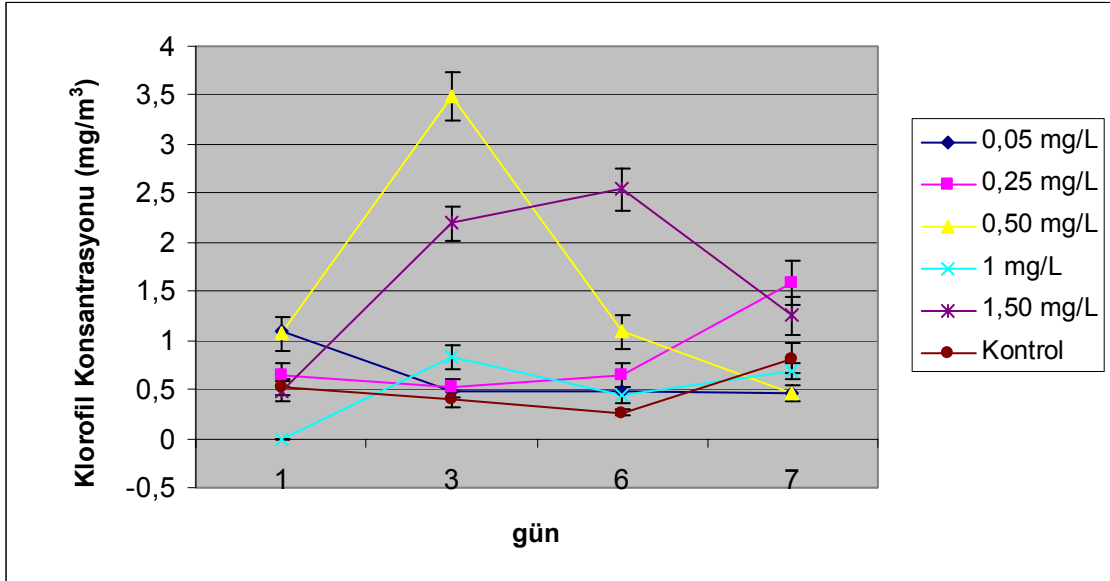
BA** : (µg Zn /g organizma)



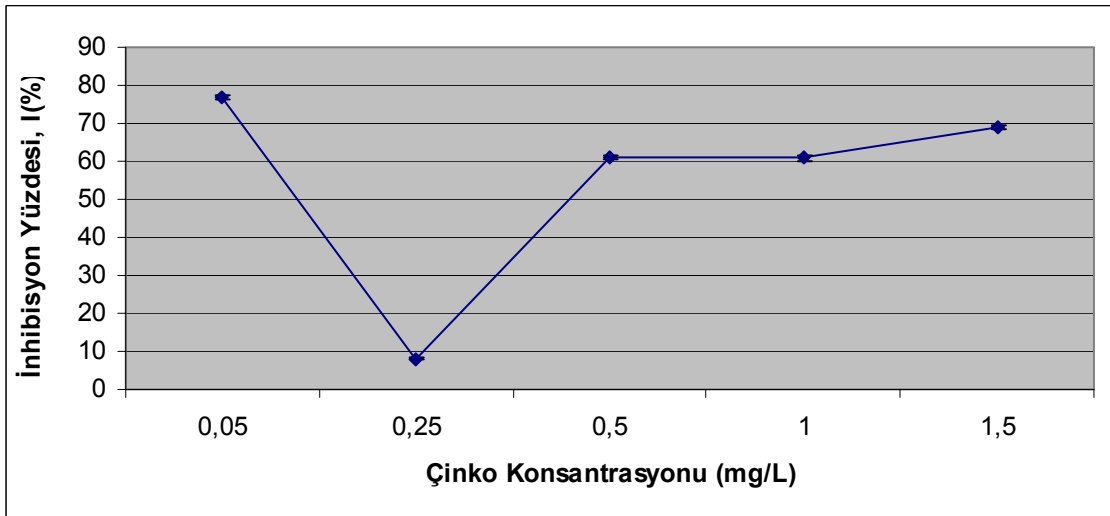
Şekil 4.39. 7. SET Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BA'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



Şekil 4.40. 7. SET Sentetik Deniz Suyunda *D. tertiolecta*'nın Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BCF'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



Şekil 4.41. 7.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla Klorofil Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



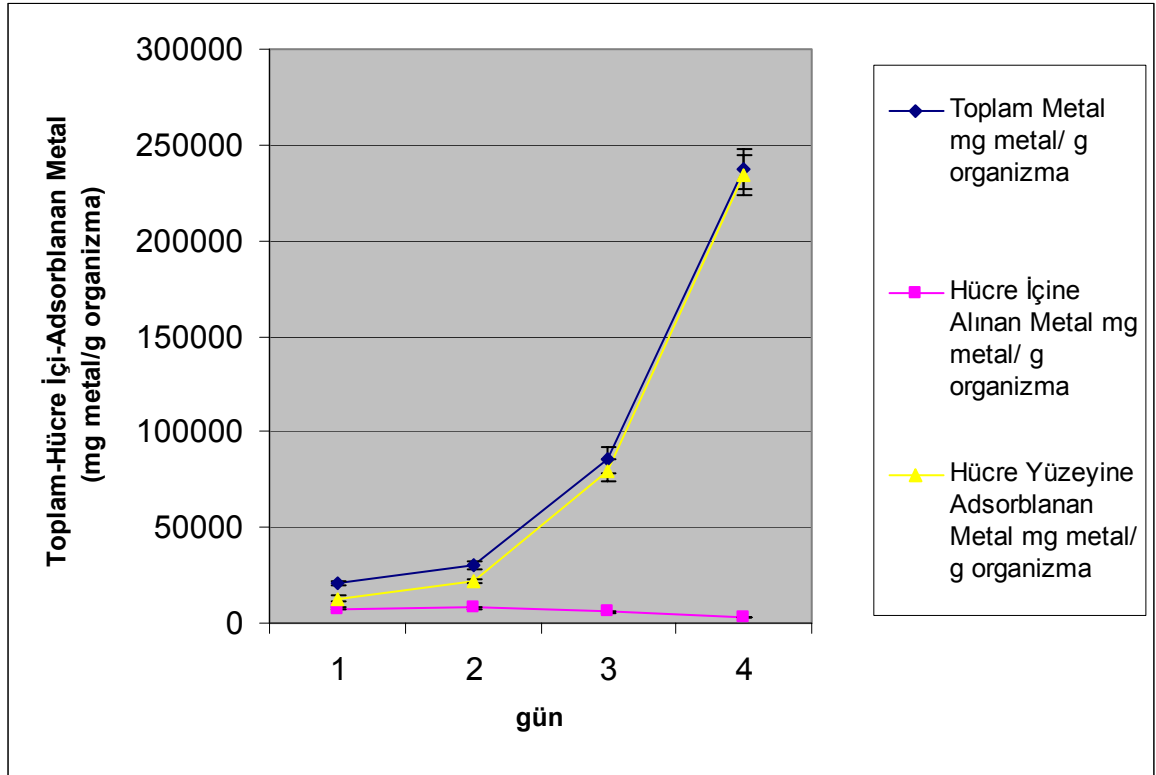
Şekil 4.42. 7.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko Konsantrasyonuna Karşı Değişen İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Tablo 4.22. 7. Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *D. tertiolecta*'nın Düşük Konsantrasyonda Çinko Konsantrasyonuna karşı Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat ⁻¹	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,05	-0,0117 $\pm$ 0,0017 -0,0040 $\pm$ 0,0008 +0,0015 $\pm$ 0,0002 +0,0024 $\pm$ 0,0004	77 $\pm$ 0,63
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,25	-0,0570 $\pm$ 0,0095 +0,0057 $\pm$ 0,0010 +0,0015 $\pm$ 0,0002 +0,0024 $\pm$ 0,0004	8 $\pm$ 0,33
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,50	-0,0165 $\pm$ 0,0030 -0,0055 $\pm$ 0,0010 0,0000 $\pm$ 0,0001 +0,0017 $\pm$ 0,0003	61 $\pm$ 0,45
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1	-0,0570 $\pm$ 0,010 -0,0190 $\pm$ 0,0035 -0,0047 $\pm$ 0,0009 -0,0027 $\pm$ 0,0005	61 $\pm$ 0,79
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1,50	-0,0088 $\pm$ 0,0012 -0,0029 $\pm$ 0,0004 -0,0034 $\pm$ 0,0006 -0,0012 $\pm$ 0,0002	69 $\pm$ 0,71
Kontrol	-	-0,0377 $\pm$ 0,006 -0,0125 $\pm$ 0,0020 -0,0014 $\pm$ 0,0002 0,000 $\pm$ 0,0001	Metal Uygulanmadı

Tablo 4.23. 7 SET Hücre İçine Alınan ve Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal Miktarları

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Toplam Metal (mg metal/ g organizma)	Hücre İçine Alınan Metal (mgmetal/ gorganizma)	Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal (mg metal/ g organizma)
1. Gün	0,05	14364±989	8588±550	5776±350
3.Gün		26255±2210	7667±522	18588±1105
6.Gün		77311±5528	7095±450	70216±4550
7.Gün		144039±12050	2975±177	141064±7968
1. Gün	0,25	20881±1400	7820±420	13061±1150
3.Gün		30482±2250	8250±576	22232±1250
6.Gün		85641±6789	5843±390	79798±5515
7.Gün		237118±10500	2975±205	234143±10120
1. Gün	0,50	22450±1550	7500±428	14950±1050
3.Gün		32100±3280	7395±413	24705±2138
6.Gün		97770±7550	7163±450	90607±7700
7.Gün		238613±18915	2975±203	235638±12120
1. Gün	1	22849±2200	8611±520	14238±890
3.Gün		52207±4200	7439±426	44768±5590
6.Gün		112050±6523	6250±323	105800±10200
7.Gün		365554±16120	2570±155	362984±25600
1. Gün	1,50	28571±1950	9486±561	19085±2512
3.Gün		66421±5560	8050±506	58371±4450
6.Gün		146667±11060	7111±396	139556±12580
7.Gün		372000±18700	2325±150	369675±38150
1. Gün	Kontrol	9576±457	6735±381	2841±280
3.Gün		11605±681	2525±149	9080±912
6.Gün		15111±856	2439±132	12672±1090
7.Gün		16173±9040	1991±116	14182±1250



Şekil 4.43. 7. SET 0,25 mg/L'lik Çinko Konsantrasyonunda *D. tertiolecta* Organizmasının Toplam Aldığı, Adsorbe Ettiği ve Hücre İçine Aldığı Metal Miktarı

4.8. 8. SET Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti

Ortama azot, fosfor eklenmesi organizmaların metal alımlarını ters yönde etkilemiştir. Azot ve fosfor ortamdaki bakır metali ile kompleks yaparak organizma tarafından hücre içine alımı azaltmıştır. Bunun sonucunda organizma sayıları deney sonunda başlangıçtaki miktardan daha yüksek çıkmıştır. Azot ve fosfor suda bakır metali ile kompleks yaparak serbest iyon konsantrasyonunu azalttığından suda metal iyonu belirlenememiş, BCF değerleri de okunamamıştır (Tablo 4.24.). Hücre üremesi ile beraber klorofil konsantrasyonunda da artışlar görülmektedir. Organizma üremesi söz konusu olduğundan inhibisyon da olmamıştır. (Tablo 4.25.). Wang ve Dei Robert, 2001, diatom *P.tricornutum*'da eklenen azot konsantrasyonundaki artış ile hücre büyüme oranlarında artış olduğunu bildirmişlerdir (Garcia ve diğerleri, 2004; Wang ve Dei Robert, 2001). Azot ve fosfor içerikli kompleks atık sular, algal büyümeyi sağlayan yüksek konsantrasyonda besin tuzları içerirler. Bu tür atık sular potansiyel ötrofikasyon kaynağıdır. Azot ve fosfor konsantrasyonundaki artışlar alglerin metal alımını etkileyebilirler (Okay ve diğerleri, 1998; Rijstenbil ve diğerleri, 1998).

Tablo 4.28., Tablo 4.13. ile kıyaslandığında hem hücre içine alınan hem de hücre yüzeyine adsorblanan metal miktarlarının daha az olduğu görülmektedir. Bu da azot ve fosforun organizmanın bulunduğu su ortamında bakır metali ile kompleks yaparak hücre içine metal alımını azalttığını göstermektedir. Fosfor, suda çözünmeyen fosfat bileşikleri oluşturduğundan ağır metallerin toksisitesini azaltır. *P.tricornutum*'un ağır metallere karşı toleranslı oluşu, ağır metal tarafından indirgenen metaloprotein sentezleyebilmesi sebebiyledir. Metallothionein, uzun zincirli polipeptidlere sahip bir moleküldür. Toksik metal polipeptid bağları tarafından tutulmakta ve hücre içindeki serbest formdan uzaklaştırılarak toksisitesi azaltılmaktadır (Torres ve diğerleri, 1997).

+2 değerlikli bakır, bakır formlarından en toksik olanıdır. Bakır metali, çinko, civa, kurşun, kadminyum, ve nikel gibi diğer ağır metaller ile kıyaslandığında organik ligandlar ile daha güçlü kompleksler oluşturur. Özellikle ortamda klor varlığında Cu-Cl kompleksleri oluşturarak tuzluluğun artmasına sebep olur. Tuzluluğun artması da bakırın toksisitesini ve biyoakümüleyasyonunu azaltır (Verslycke ve diğerleri, 2003). Goh ve Chou, 1997, bakır ve çinkonun mercan kayalarından izole edilen simbiyotik alg hücreleri *Zooxanthellae* üzerindeki toksik etkilerini araştırmışlardır. Silikatlar ve EDTA gibi metal bağlayıcı şelatların alg ve diğer tüm fitoplanktonlarda ağır metalin

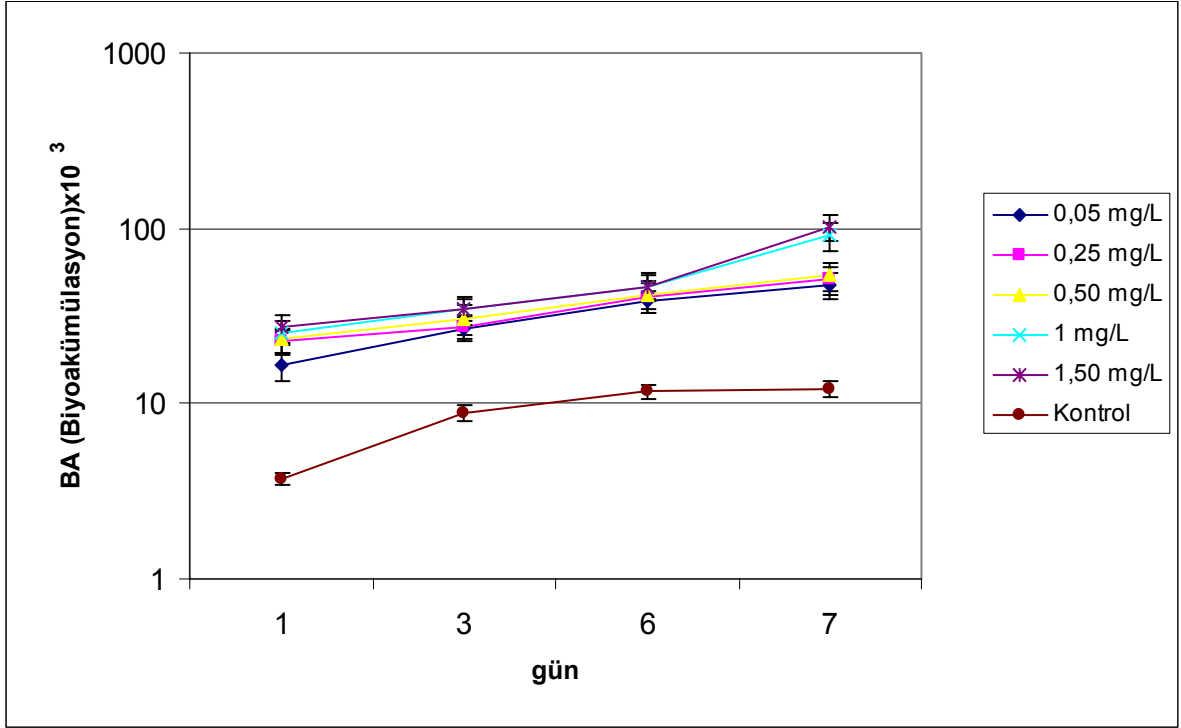
toksisitesini azalttığını bildirilmişlerdir. Silikatlar ve EDTA gibi metal kompleks şelatları içeren ortamların kullanımı *Nitzschia closterium* kültüründe çinkonun toksik etkisini 10-20 kat azalttığı belirlenmiştir. Şelatlar, hücrelere toksik etkisi olabilen metalleri bağlamakta ve bu sayede besi ortamlarındaki metal konsantrasyonunu da düzenlemektedirler. Hücrelerin yüzeyine adsorbsiyon, f/2 besi ortamında EDTA kullanıldığında gerçekleşmesi olası değildir. Çünkü EDTA hücre yüzeyini yıkamakta ve hem hücre bölünmesi hem de hücre büyümesi için gerekli olmaktadır (Goh ve Chou, 1997).

Algler, su ortamına metal eklendiğinde, metali hücre duvarına adsorblayıp sitoplazmadan uzaklaştırarak toksik etkisini azaltmaya çalışırlar (Rijstenbil ve diğerleri, 1998). Clarkson ve diğerleri, 1999, *P. tricornutum* organizması ile yaptıkları algal toksisite testlerinde ortama kompleks atık su (metal ve organik kirletici içerikli) vererek büyüme oranı ve klorofil-a konsantrasyonunda meydana gelen değişimleri belirlemişlerdir. Ortama %5-10 seyrelme oranında kompleks atık su verildiğinde 24 saat içerisinde büyüme oranında artış, 48 saat sonunda ise azalış görülmüştür. Ortama %22 seyrelme oranında kompleks atık su verildiğinde 48 saat sonunda hücre yoğunluğu, ilk hücre yoğunluğuna göre %30 oranında azalmıştır. Aynı şekilde klorofil konsantrasyonunda da 10.gün sonunda %20 ve 15. gün sonunda da %60 oranında azalma gözlemlenmiştir (Clarkson ve diğerleri, 1999). Metal giderim oranlarına bakıldığında, tüm bakır konsantrasyonlarında %100 oranında giderim meydana gelmiştir (Tablo 4.24.). EDTA kompleksi ile muamele edilmiş organizmaların metal giderim verimlilikleri ise %87,33 ile %100 arasında değişim göstermiştir (Tablo 4.26.).

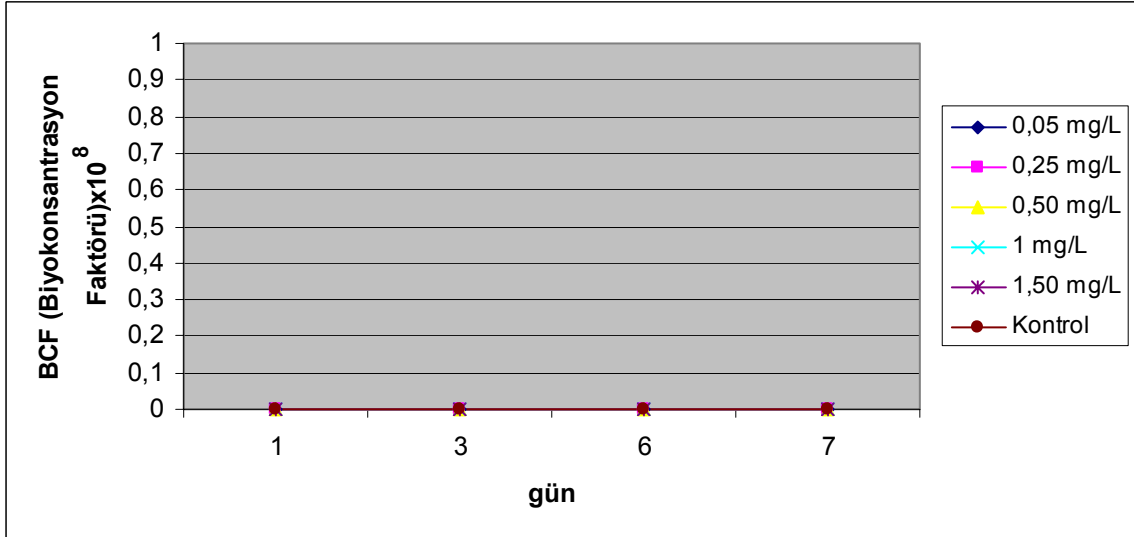
Tablo 4.24. 8. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

Süre	Verilen Metal Kons. (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı Hücre/ml x 10 ⁴	Deney Sonrası Hücre Sayısı Hücre/ml x 10 ⁴	BA** (µgCu /g) x 10 ³	BCF x 10 ⁸	Suda Kalan Metal (mg/L)	% Giderim	Klorofil (mg/m ³)
1. Gün	0,05	7	3	16,55±3,10	-	0	100	0,20±0,03
3.Gün			7	26,81±4,25	-	0		0,23±0,04
6.Gün			8	38,46±5,75	-	0		0,52±0,09
7.Gün			8	47,83±8,20	-	0		0,41±0,08
1. Gün	0,25	2	2	22,50±3,62	-	0	100	0,34±0,05
3.Gün			4	27,65±4,56	-	0		0,40±0,07
6.Gün			16	40,50±7,85	-	0		0,90±0,12
7.Gün			18	51,25±9,60	-	0		1,44±0,20
1. Gün	0,50	3	4	23,12±3,55	-	0	100	0,24±0,04
3.Gün			14	30,78±6,10	-	0		0,33±0,05
6.Gün			7	42,16±7,36	-	0		0,58±0,10
7.Gün			11	53,75±9,83	-	0		0,68±0,10
1. Gün	1	2	2	25,62±4,15	-	0	100	0,39±0,06
3.Gün			2	34,62±6,23	-	0		0,27±0,04
6.Gün			4	46,34±7,18	-	0		1,35±0,10
7.Gün			4	91,66±16,56	-	0		1,42±0,10
1. Gün	1,50	9	10	27,08±4,83	-	0	100	0,30±0,04
3.Gün			21	34,51±5,26	-	0		0,38±0,06
6.Gün			18	46,87±8,47	-	0		0,43±0,08
7.Gün			23	101,19±16,46	-	0		0,50±0,08
1. Gün	Kontrol	8	8	3,71±0,27	-	0	100	2,50±0,07
3.Gün			6	8,85±0,85	-	0		2,29±0,07
6.Gün			9	11,76±1,02	-	0		0,69±0,08
7.Gün			5	12,23±1,30	-	0		0,76±0,10

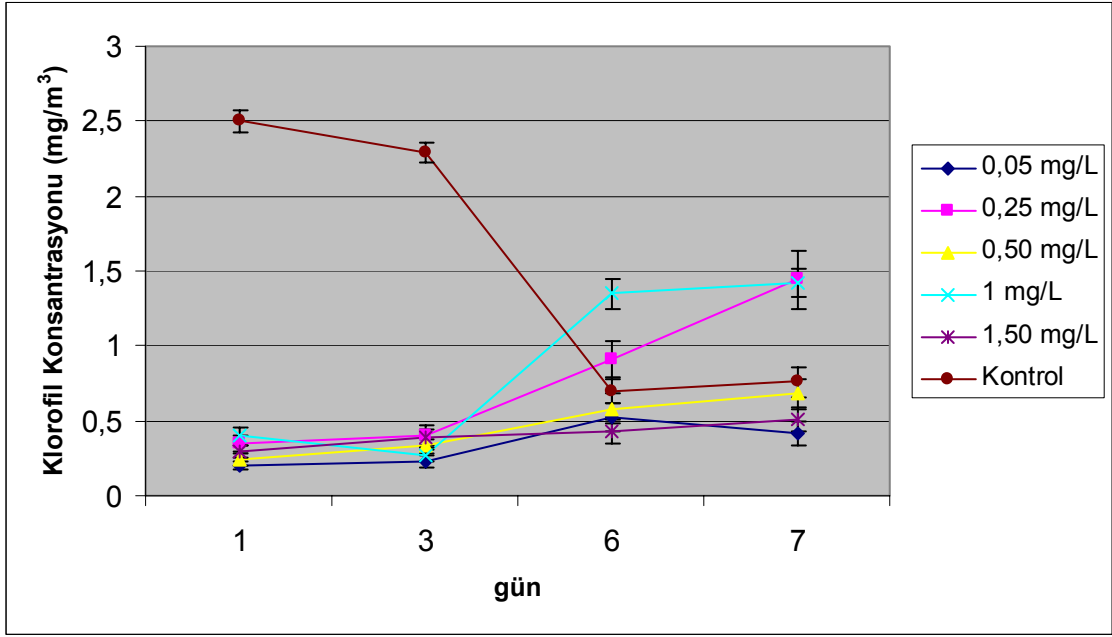
BA** : (µg Cu /g organizma)



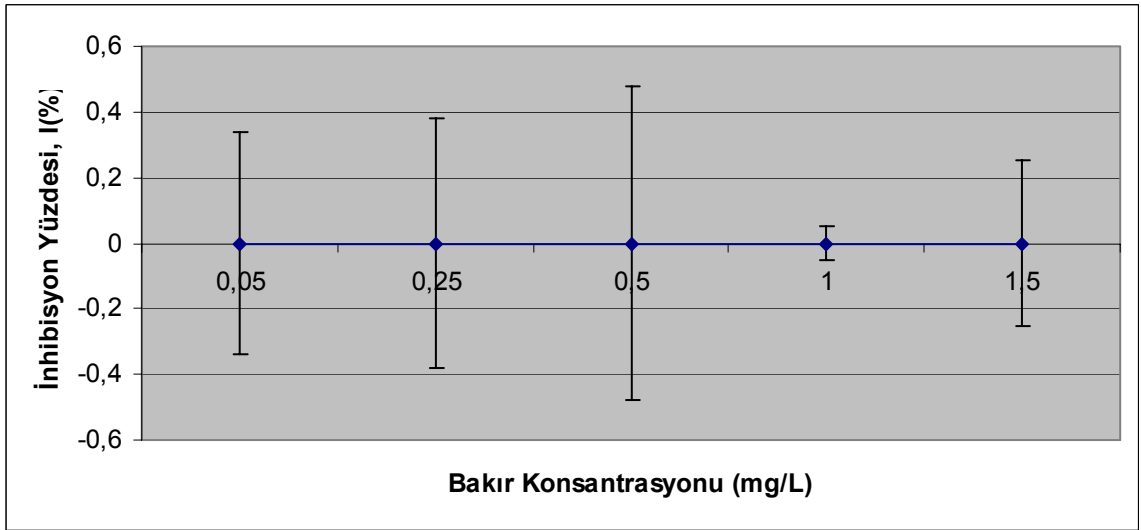
Şekil 4.44. 8. SET Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BA'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.45. 8. SET Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BCF 'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.46. 8. . SET Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla Klorofilin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)



Şekil 4.47. 8.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır Konsantrasyonuna Karşı Değişen İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

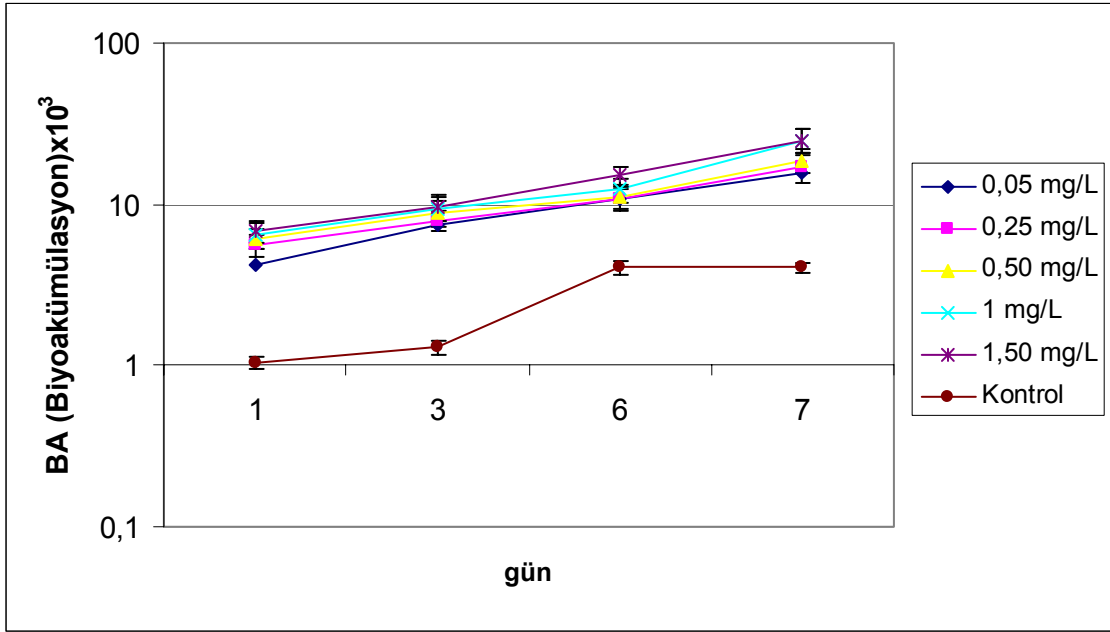
Tablo 4.25. 8. Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır Konsantrasyonuna karşı Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkama Yok)

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat ⁻¹	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,05	-0,0350±0,0050 0,0000±0,0001 +0,0009±0,0001 +0,0008±0,0001	I<1, inhibisyon yok 0±0,34
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,25	0,0000±0,0001 +0,0096±0,0015 +0,0144±0,0022 +0,0130±0,0020	I<1, inhibisyon yok 0±0,38
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,50	+0,0123±0,0020 +0,0215±0,0030 +0,0059±0,0010 +0,0077±0,0010	I<1, inhibisyon yok 0±0,48
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1	0,0000±0,0001 0,0000±0,0001 +0,0048±0,0009 +0,0041±0,0008	I<1, inhibisyon yok 0±0,05
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1,50	+0,0047±0,0008 +0,0118±0,0015 +0,0048±0,0010 +0,0056±0,0010	I<1, inhibisyon yok 0±0,25
Kontrol	-	0,0000±0,0001 -0,0038±0,0006 +0,0008±0,0001 -0,0027±0,0004	Metal Uygulanmadı

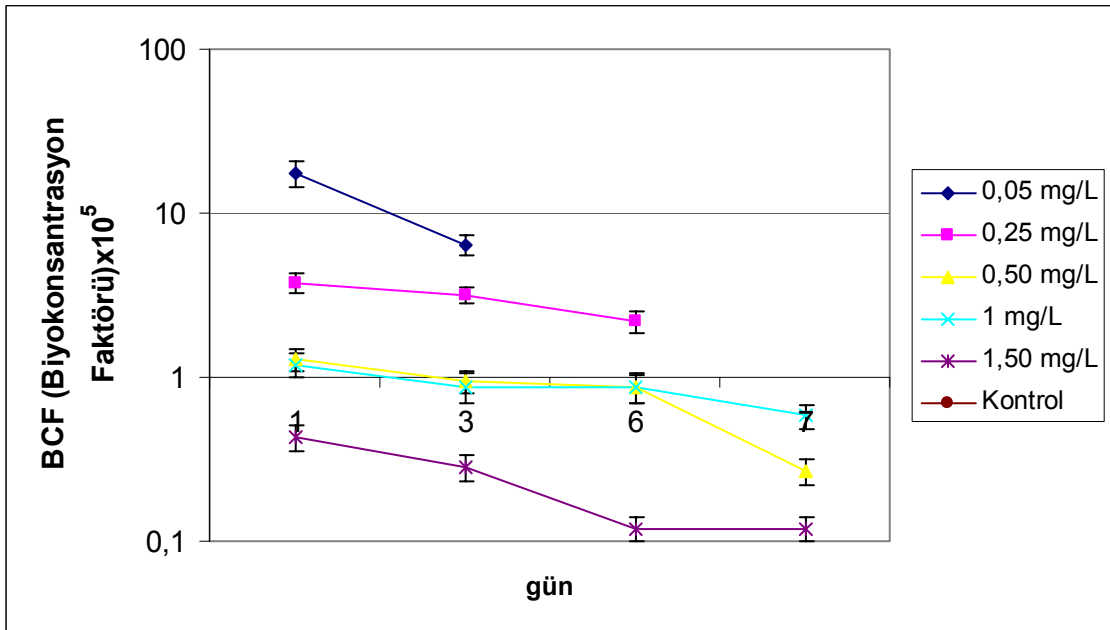
Tablo 4.26. 8. Set Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Elde Edilen BA, BCF, Hücre Sayısı ve Klorofil Değerleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Süre	Verilen Metal Kons. (mg/L)	Başlangıç Hücre Sayısı Hücre/ml x 10 ⁴	Deney Sonrası Hücre Sayısı Hücre/ml x 10 ⁴	BA ** (µgCu /g) x 10 ³	BCF x 10 ⁵	Suda Kalan Metal (mg/L)	% Giderim	Klorofil (mg/m ³)
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,05	7	5 6 8 9	4,24±0,75 7,54±1,20 10,71±1,56 15,68±1,93	17,56±3,20 6,46±0,93 - -	0,010±0,001 0,005±0,001 0,000±0,001 0,000±0,001	100	0,21±0,04 0,30±0,05 0,34±0,07 0,35±0,06
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,25	2	2 4 18 20	5,54±0,86 7,88±1,13 10,73±1,76 16,83±3,12	3,77±0,50 3,15±0,36 2,20±0,32 -	0,066±0,010 0,049±0,010 0,034±0,006 0,000±0,001	100	0,41±0,07 0,43±0,07 1,20±0,20 1,52±0,22
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,50	3	3 10 15 14	6,14±0,92 8,78±1,64 11,15±1,87 18,71±3,26	1,28±0,20 0,95±0,15 0,86±0,17 0,27±0,05	0,150±0,020 0,145±0,020 0,099±0,015 0,034±0,007	93,20	0,70±0,10 0,72±0,10 0,81±0,14 0,80±0,12
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1,00	2	2 3 5 7	6,47±1,12 9,44±1,51 12,35±2,13 24,74±4,22	1,20±0,20 0,88±0,18 0,88±0,18 0,58±0,10	0,254±0,050 0,165±0,030 0,091±0,015 0,079±0,010	92,10	0,40±0,08 0,42±0,08 1,40±0,20 1,50±0,20
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1,50	9	9 20 18 25	6,86±1,05 9,74±1,80 15,04±2,10 24,92±4,20	0,43±0,08 0,28±0,05 0,12±0,02 0,12±0,02	0,259±0,050 0,212±0,040 0,192±0,030 0,190±0,030	87,33	0,35±0,07 0,38±0,05 0,45±0,08 0,52±0,09
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	Kontrol	8	8 6 9 5	1,04±0,09 1,29±0,14 4,06±0,42 4,08±0,30	- - - -	0 0 0 0	-	2,50±0,12 2,29±0,09 0,39±0,06 0,50±0,08

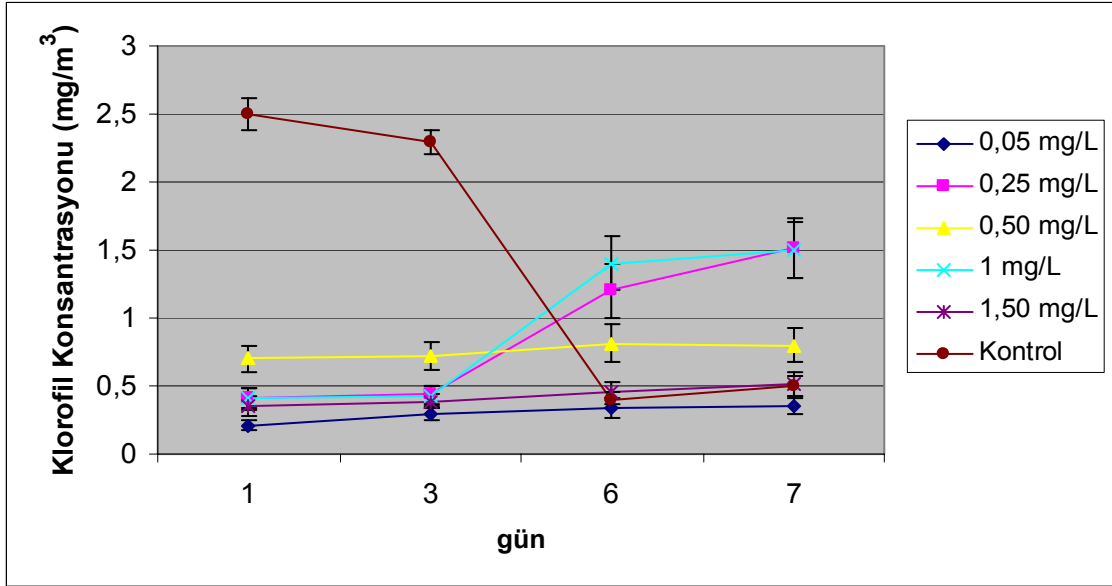
BA ** : (µg Cu /g organizma)



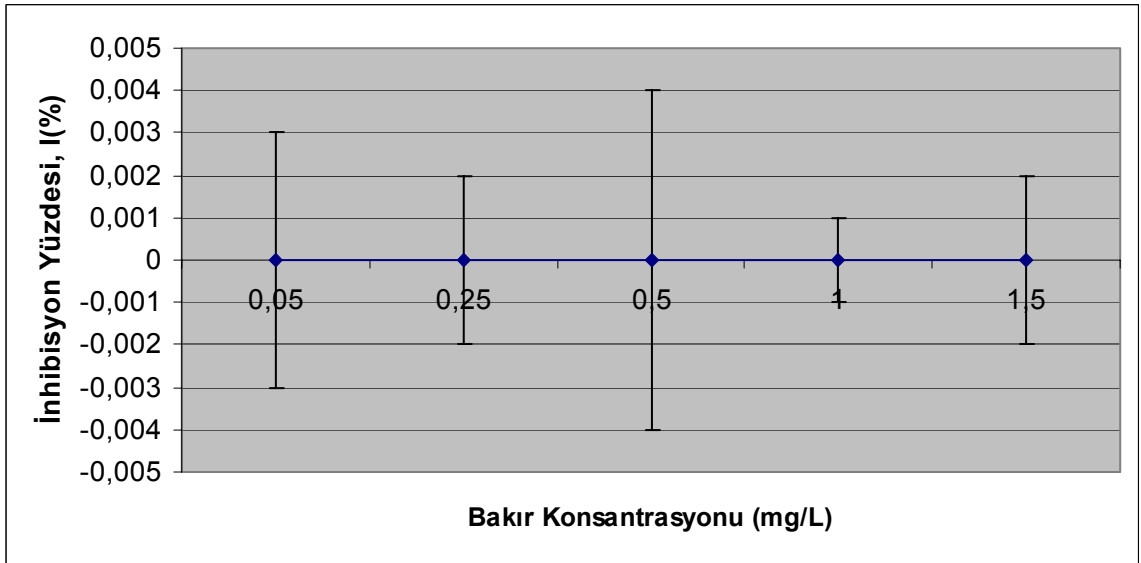
Şekil 4.48. 8. SET Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BA'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



Şekil 4.49. 8. SET Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla BCF'nin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



Şekil 4.50. 8. SET Sentetik Deniz Suyunda *P. tricornutum*'un Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında Düşük Konsantrasyonda Bakır ile Maruziyeti Sonucunda Zamanla Klorofilin Değişimi (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)



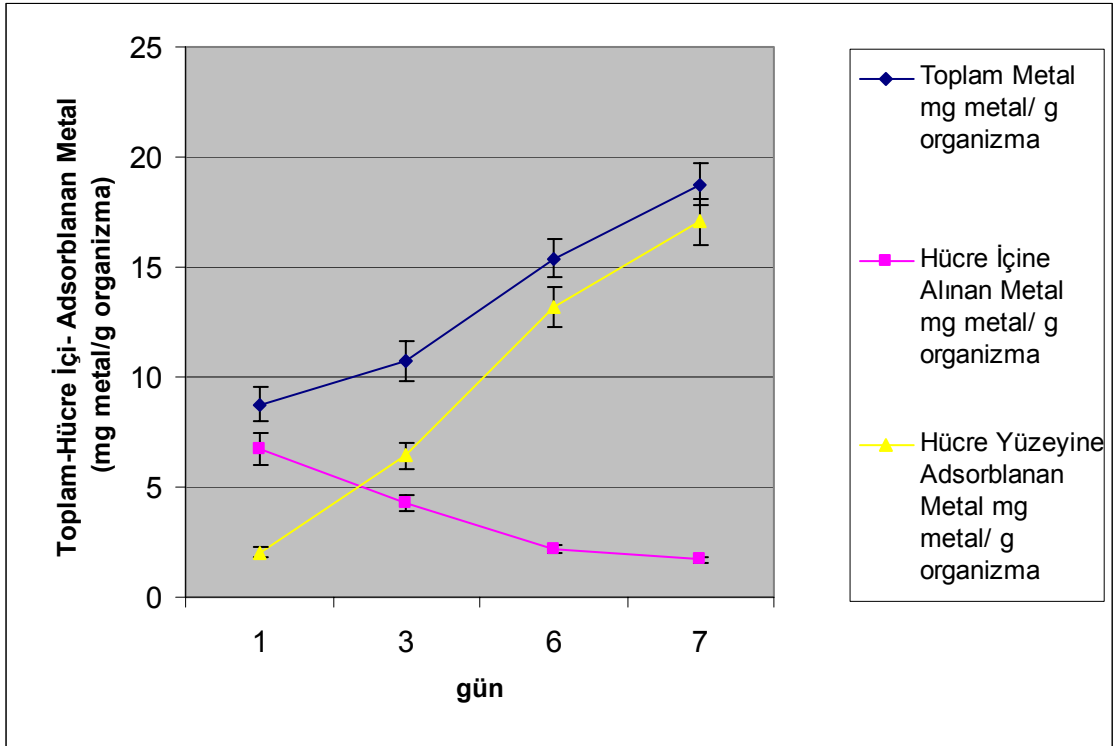
Şekil 4.51. 8.Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır Konsantrasyonuna Karşı Değişen İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Tablo 4.27. 8. Set Sentetik Deniz Suyunda Azot ve Fosfor Kaynağı Varlığında *P. tricornutum*'un Düşük Konsantrasyonda Bakır Konsantrasyonuna karşı Büyüme Oranları ve İnhibisyon Yüzdeleri (EDTA Kompleksi ile Yıkamalı)

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Büyüme Oranı (μ), saat ⁻¹	İnhibisyon Yüzdesi (I), %
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,05	-0,0137 $\pm$ 0,0002 -0,0020 $\pm$ 0,0004 +0,0009 $\pm$ 0,0001 +0,0015 $\pm$ 0,0002	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,003
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,25	0,000 $\pm$ 0,00010 +0,0096 $\pm$ 0,0017 +0,00152 $\pm$ 0,0002 +0,01370 $\pm$ 0,0023	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,002
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	0,50	0,000 $\pm$ 0,0001 +0,0168 $\pm$ 0,0026 +0,0112 $\pm$ 0,0020 +0,0092 $\pm$ 0,0018	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,004
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1	0,000 $\pm$ 0,0001 +0,0056 $\pm$ 0,001 +0,0063 $\pm$ 0,0010 +0,0074 $\pm$ 0,0010	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,001
1. Gün 3.Gün 6.Gün 7.Gün	1,50	0,000 $\pm$ 0,0001 +0,0111 $\pm$ 0,0020 +0,0048 $\pm$ 0,0009 +0,0061 $\pm$ 0,0010	I<1, inhibisyon yok 0 $\pm$ 0,002
Kontrol	-	0,000 $\pm$ 0,0001 -0,0038 $\pm$ 0,0006 0,000 $\pm$ 0,0001 -0,0027 $\pm$ 0,0005	Metal Uygulanmadı

Tablo 4.28. 8 . SET Hücre İçine Alınan ve Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal Miktarları

Süre	Verilen Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Toplam Metal (mg metal/ g organizma)	Hücre İçine Alınan Metal (mg metal/ g organizma)	Hücre Yüzeyine Adsorblanan Metal (mg metal/ g organizma)
1. Gün	0,05	6,66±0,52	3,51±0,05	3,15±0,22
3.Gün		10,30±0,98	3,31±0,30	6,99±0,76
6.Gün		12,07±1,28	2,18±0,25	9,89±1,03
7.Gün		13,80±1,36	0,41±0,04	13,39±1,30
1. Gün	0,25	8,76±0,80	6,73±0,76	2,03±0,22
3.Gün		10,73±0,87	4,29±0,37	6,44±0,60
6.Gün		15,38±0,85	2,21±0,19	13,17±0,92
7.Gün		18,75±0,96	1,69±0,17	17,06±1,02
1. Gün	0,50	9,00±1,05	6,01±0,60	2,99±0,40
3.Gün		10,83±1,22	4,46±0,40	6,37±0,82
6.Gün		16,86±1,98	4,28±0,51	12,58±1,30
7.Gün		19,13±2,10	2,45±0,22	16,68±1,60
1. Gün	1	9,25±0,98	3,89±0,36	5,36±0,62
3.Gün		11,06±1,20	3,15±0,30	7,91±0,90
6.Gün		18,53±1,58	1,62±0,12	16,91±1,30
7.Gün		20,50±2,30	0,51±0,03	19,99±2,05
1. Gün	1,50	9,97±1,10	4,89±0,36	5,08±0,74
3.Gün		13,78±1,16	3,58±0,22	10,20±0,94
6.Gün		21,50±1,35	1,74±0,26	19,76±1,09
7.Gün		40,47±4,12	1,48±0,11	38,99±4,00
1. Gün	Kontrol	3,54±0,06	2,89±0,20	0,65±0,10
3.Gün		4,94±0,06	2,82±0,20	2,12±0,20
6.Gün		6,27±0,26	1,57±0,15	4,70±0,302
7.Gün		6,62±0,29	0,03±0,002	6,59±0,421



Şekil 4.52. 8 Set 0,25 mg/L'lik Bakır Konsantrasyonunda *P. tricornutum* Organizmasının Toplam Aldığı, Adsorbe Ettiği ve Hücre İçine Aldığı Metal Miktarı

5. SONUÇLAR

Toksisite testlerinde alglerde meydana gelen değişimlerin ölçümünde en sık kullanılan parametreler; organizmaların üreme kabiliyetleri, hücre inhibisyon oranları, klorofil içerikleri, kirletici biriktirebilme ve konsantrere edebilme özellikleri, enzim aktiviteleri, hücrelerindeki azot ve fosfor içerikleri, karbon-14 asimilasyonu, ATP miktarı, metalleri bağlama özelliği bulunan metallothionein-fotoşelatin-metaloprotein gibi kompleks bileşiklerin miktarı, oksijen üretim hızları, fotosentetik aktiviteleri ..vb gibi değişimlerdir (MacRury ve diğerleri, 2002, Heraud ve Beardall, 2002, Petersen ve Kusk, 2000, Terzaghi ve diğerleri, 1998, Zhou ve diğerleri, 1998, Okay ve diğerleri, 1996).

Toksisite deneyleri süresince bu değişkenlerden organizmaların üreme kabiliyetleri, hücre inhibisyon oranları, klorofil içerikleri, kirletici biriktirebilme ve konsantrere edebilme özellikleri ölçülerek değerlendirilmiştir.

Uygulanan akut toksisite deneyleri ISO 1995 standardına göre yapılmıştır. Deney süresi olarak 4-7 gün seçilmiştir.

Çalışmalarda metal konsantrasyonu arttıkça gram organizma başına tutulan metal miktarında artış gözlemlenmiştir. Hem yüksek hem de düşük konsantrasyonlu bakır-çinko dozlarında 4-7 gün boyunca zamanla tutulan metal konsantrasyonunda artış, buna karşın organizma sayısında da azalmalar görülmektedir. Biyolojik olarak konsantrere edilebilen metal miktarlarında da azalmalar göze çarpmaktadır. Bu da organizmaların ölüm sürecine girdiklerinin bir göstergesidir. Organizma sayılarının deney süresince azalması da bu sonucu desteklemektedir. Azot ve fosfor içerikli besi ortamları ise organizmaların metal alımını hem uyarıcı (arttırıcı) hem de inhibe edici (azaltıcı) şekilde etkilemiştir.

Genel olarak metal konsantrasyonu arttıkça inhibisyon da artmıştır. Ancak 2. Sette tersi bir durumla karşılaşmıştır. *D.tertiolecta* algine uygulanan 5-10-20-30-50 mg/L'lik bakır konsantrasyonlarında 5 mg/L'lik konsantrasyonda %25'lik inhibisyonun meydana gelmesi, buna karşın diğer yüksek dozlarda inhibisyonun olmaması organizmaların düşük metal konsantrasyonlarında hücre yüzeyine adsorbsiyondan ziyade, hücre içine metal alım mekanizmalarının daha aktif olduğunu göstermiştir. Hücre içine alım söz konusu olduğunda ise metal organizmaya toksik etki göstermiştir. Yüksek metal konsantrasyonlarında ise, organizma hücre içi alımdan çok, hücre

yüzeyine özel proteinler ile metal adsorbsiyon mekanizmasını geliştirerek ve metalin sitoplazmaya girişini önleyerek toksisiteyi engellemektedir.

Mikroalgler ile metallerin adsorbsiyonu, iki aşamalı bir prosestir. Birincisi, hücresel metabolizmaya bağlı olmayan yalnızca yüzeye bağlanma (adsorbsiyon); ve ikincisi ise daha yavaş gerçekleşen hücre içinde taşınım gerektiren enerjiye bağlı proses (absorbsiyon) 'dir. Yaşayan canlı hücrelerde absorblanan metal, adsorblanan metalden daha fazladır (Moreno Garrido ve diğerleri, 2000; Torres ve diğerleri, 1998; Cid ve diğerleri, 1995).

Organizmaların sudan giderek artan bir metal alımı söz konusudur. Metal alımı, maruziyet süresi ve metalin sudaki (hücre dışı) konsantrasyonu ile ilgilidir. En yüksek metal konsantrasyonlarında organizma tarafından biriktirilen metal miktarı (BA) zamanla artış göstermiştir. Su ortamındaki metal konsantrasyonu arttıkça BA'da artışlar gözlemlenmiştir. Torres ve diğerleri, 1998, kadminyumun *P. tricornutum* organizmasına alımı ve ortam konsantrasyonu arasında paralellik olduğunu bildirmişlerdir (Torres ve diğerleri, 1998).

5, 10, 20, 30, 50 mg/L ve 0,05, 0,25, 0,50, 1, 1,50 mg/L'lik konsantrasyonlarda zamanla BA'nın arttığı, BCF'nin ise azaldığı gözlemlenmektedir. Metal konsantrasyonunun artıp, organizma ölümünün artması metal adsorbsiyonunun da azaldığını göstermektedir. Organizma ölümü gerçekleşse de hücre yüzeyleri metali adsoblamaya devam etmekte, dolayısı ile BA'da sürekli artışlar olmaktadır. Ancak organizma ölümündeki artış sebebiyle hücre içi tüm faaliyetler durduğundan aktif taşıma ve enerji gerektiren bir proses olan BCF'de azalmalar oluşmaktadır. Organizma tarafından tutulan (BA kısmı) metalin belli bir kısmı dokulara daha sonra kullanılmak üzere geçmekte (dokudaki kısmı BCF), arta kalan kısmı ise o an için kullanılıp atılmaktadır (Torres ve diğerleri, 1998; Cid ve diğerleri, 1995). Ortam konsantrasyonu arttıkça, hücre içine alınan (BCF) metaldeki azalmalar, metalin *P. tricornutum* ve *D.tertiolecta* hücrelerinde toksik etkiye sebep olduğunu göstermiştir.

Mikroorganizmalar üzerinde en çok çalışılan bakırın ve çinkonun toksik etkisi, organizma büyümesinde büyük öneme sahiptir. Mikro alglerde büyümeyi etkileyen bakır ve çinko konsantrasyonu çalışılan türün toleransına, hücre yoğunluğuna, bulunduğu ortamın kompozisyonuna, kültürün fiziksel koşullarına..v.b. bağlıdır. Dolayısı ile türden türe ve metalden metale değişmektedir. Örneğin Farrell Ines'O ve diğerleri, 2002, Arjantin Tehlikeli Atıklar Kanunu'nun akuatik yaşam tehlike sınırlarına göre çinkonun 30 µg/L , bakırın 2 µg/L 'yi aşmaması gerektiğini bildirmişlerdir. Bu

miktarların aşıldığı durumlarda büyümenin inhibe olduğunu açıklamışlardır. Alg *Selenastrum capricornutum*'un yaşadığı bölgede bakır metali konsantrasyonunu 240 µg/L olarak bulunmuş, ancak kültürdeki yüksek alg yoğunluğu sayesinde bakırın toksik etkisi tamponlanmıştır (Farrell ve diğerleri, 2002). EPA tarafından Morocco Fez bölgesinde Fez ve Sebov nehirlerinin su kalitesi ve toksisitesinin değerlendirilmesi için yapılan çalışmalarda da sulama suyu için maksimum bakır ve çinko konsantrasyonlarının sırasıyla 13µg/L ve 120 µg/L'yi geçmemesi koşulu aranmaktadır (Koukal ve diğerleri, 2004).

Akuatik organizmalar ile yapılan 25 günlük toksisite testlerinde ise bakırın biyokonsantrasyon faktörü kahverengi alg *P. tricornutum*'da 323 ve yeşil alg *D. tertiolecta*'da 168 olarak bulunmuştur (EPA-Ambient Water Quality Criteria for Copper, 1984).

Bakır ve çinko metalleri hücre membranına esas metal olarak bağlanabildiğinden hücre membranının permeabilitesini bozabilirler. Hücre içi sitosollere metal taşınımını takiben, enzim grupları ile etkileşerek, aktif bölgelerine bağlanır ve hücre bölünmesini azaltırlar (Cid ve diğerleri, 1995).

Bakır ve çinko metallerinin her ikisinin de esas metal olmalarına karşın, genel olarak her iki organizmanın çinko alım-birikim oranları, bakırınkinden daha yüksek çıkmıştır. Organizmaların çinko metale gereksinimleri bakır gereksinimlerinden fazladır. Organizmalardan yeşil alg *D. tertiolecta*, kahverengi alg diatom *P. tricornutum*'a göre her iki metale de daha toleranslıdır.

D. tertiolecta ve *P. tricornutum* organizmalarının su ortamından metal giderim verimlilikleri genel olarak %70-%100 aralığında olmuştur. Bu sonuç su ve atıksulardan metal gideriminde organizmaların kullanım seçeneklerini akla getirmektedir.

Su ve atıksulardan metal gideriminde kullanılan kimyasal çöktürme, adsorbsiyon, iyon değişimi ve bunun gibi pek çok yöntem bulunmaktadır. Ancak, metallerin biyosorbsiyon ile giderimi diğer yöntemlere göre hem daha ucuz, hem de daha etkili olduğundan tercih edilmektedir (Sıvacı ve diğerleri, 2004).

KAYNAKLAR

1. **Amado, Filho, G.M., Andrade, L.R., Karez, C.S., Farina, M., Pfeiffer, W.C.,1999.** “Brown Algae Species as Biomonitors of Zn and Cd at Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil”, *Marine Environmental Research*, Vol.48, p.p. 213-224.
2. **A.P.H.A., A.W.W.A., W.E.F., Standart Methods For the Examination of Water and Wastewater, 1995,** 19th Edition, Washington, USA.
3. **A.P.H.A., A.W.W.A., W.P.C.F., Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater”, 1985,** 16th Edition, Washington, USA.
4. **Bart T.A. Bossuyt, Janssen C.R., 2003,** “Acclimation of *Daphnia magna* to environmentally realistic copper concentrations”, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 136, 253-264.
5. **Burger, J., Gochfeld, M., 2001.** “On Developing Bioindicatörs for Human and Ecological Health”, *Environmental Monitoring and Assessment*, Vol.66, p.p.23-46.
6. **Campanella, L., Conti, M.E., Cubadda, F., Sucapane, C., 2001.** “Trace Metals in Seagrass, Algae and Molluscs from an Uncontaminated Area in the Mediterranean”, *Environmental Pollution*, Vol.111, p.p. 117-126.
7. **Chinni S., Khan R.N., Yallapragada P.R., 2002,** “Acute toxicity of Lead on Tolerance, Oxygen Consumption, Ammonia-N Excretion and Metal Accumulation in *Penaeus indicus* Postlarvae”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51, 79-84.
8. **Cid A., Herrero C., Torres E., Abalde J., 1995,** “Copper Toxicity on the Marine microalga *Phaeodactylum tricornutum*: effects on photosynthesis and related parameters”, 31, 165-174.

- 9. Clarkson N., Redshaw C.J., Leftley J.W., Meldrum D.T., Watson J., 1999,** “Evaluation of an Algal Bioassay Cage-Culture Turbidostat Method for the Toxicity Assessment of Effluents”, *Marine Environmental Research* 47, 157-173.
- 10. Conti, M.E., Cecchetti, G., 2003.** “A Biomonitoring Study: Trace Metals in Algae and Molluscs from Tyrrhenian Coastal Areas”, *Environmental Research*, Vol.93, p.p. 99-112.
- 11. Davy M., Petrie R., Smrchek J. (EPA); Kuchnicki T., Francois D. (PMRA), 2001,** “Proposal to Update Non-Target Plant Toxicity Testing Under Nafta”, *Scientific Advisory Panel Briefing* June 27-29.
- 12. Devlet Planlama Teşkilatı(DPT), 7.'ci 5 Yıllık Kalkınma Planı,** Madencilik ve Hammaddeler Alt Komisyonu, Diğer Endüstri Mineralleri Çalışma Grubu Raporu Cilt 2, 47-57.
- 13. EPA, 2002.** “Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and Estuarine Organisms”, Third Edition, U.S. Environmental Protection Agency Office of Water(4303T) 1200 Pennsylvania Avenue, DC 20460, EPA-821-R-02-014, NW Washington.
- 14. EPA- Quality Criteria for Water, 1986,** EPA 440/5-86-001.
- 15. EPA-Ambient Water Quality Criteria for Copper, 1984,** EPA 440/5-84-031.
- 16. Ercan C., 1994,** “Bioaccumulation of Copper, Lead and Selenium in *Dunaliella Tertiolecta* for Short Exposure Time”, *Chemical Engineering*, Master Thesis, Yıldız Technical University, İstanbul.
- 17. Farre M., Barcelo D., 2003;** “Toxicity testing of Wastewater and Sewage Sludge by Biosensors, Bioassays and Chemical Analysis”, *Trends in Analytical Chemistry* Vol.22, No. 5

- 18. Farrell Ines'O., Ruben J. Lombardo, Paula de Tezanos Pinto, Loez C., 2002,"**
The Assessment of water quality in the Lower Lujan River (Buenos Aires, Argentina):
phytoplankton and algal bioassays", Environmental Pollution, 120, 207-218.
- 19. Garcia M.C.C., Sanchez Miron A., Fernandez Sevilla J.M., Molina Grima E.,
Garcia Camacho F., 2004, " Mixotrophic Growth of The Microalga *Phaeodactylum*
tricornutum Influence of Different Nitrogen and Organic Carbon Sources on
Productivity and Biomass Composition", Process Biochemistry, Article in Press.**
- 20. Geldiay, R., Kocataş, A., 1988. "Deniz Biyolojisine Giriş", Ege Üniversitesi,
Bornova, İzmir.**
- 21. Gündüz T., 1994b. "Çevre Sorunları", Ankara Üniversitesi., Fen Fak., Kimya
Bölümü, Ankara.**
- 22. Goh B.P.L., Chou L.M., 1997, "Effects of the Heavy Metals Copper and Zinc on
Zooxanthellae Cells in Culture", Environmental Monitoring and Assessment 44, 11-19.**
- 23. Gonzales-davila M., Magdalena Santana-Casiano J., Laglera L.M., 2000,
"Copper adsorbtion in Diatom Cultures", Marine Chemistry 70, 161-170.**
- 24. Haritonidis, S., P. Malea, 1998. "Bioaccumulation of Metals by the Green Alga
Ulva rigida from Themaikos Gulf, Greece", Environmental Pollution, Vol.104, p.p.
365-372.**
- 25. Heraud P., Beardall J., 2002, "Ultraviolet Radiation has no Effect on Respiratory
Oxygen Consumption or Enhanced post-illumination Respiration in Three Species of
Microalgae", Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 68, 109-116.**
- 26. <http://algabase.org>**
- 27. <http://www.botany.ubc.ca/cccm/NEPCC%20isolates/nchloro/ncholoro1.html>.**
- 28. <http://www.bio.utexas.edu/research/utex/class/chlorophyceae-d-f.html>.**

29. <http://www.botany.ubc.ca/cccm/NEPCC%20isolates/nbacillario/nbacil640.html>.

30. <http://www.bio.utexas.edu/research/utex/class/bacillariophyceae.html>.

31. <http://www.tuberoze.com>.

32. **ISO 1995**, International Standart, “Water Quality – Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*”, ISO 10253.

33. **Kamalı Uğur A., 1999.** “Samsun-Ordu Kıyı Şeridinde Deniz Kirliliğinin İncelenmesi ve Kirlilik Birikiminin Midye Örneğinde Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, , Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun.

34. **Koukal B., Dominik J., Vignati D., Arpagaus P., Santiago S., Ouddane B., Benaabidate L., 2004,** “Assessment of Water Quality and Toxicity of Polluted Rivers Fez and Sebou in the Region of Fez (Morocco)”, Environmental Pollution 131, 163-172.

35. **Kurt P.B., 1999,** “Midyelerde Pestisit ve PCB Kirliliği ve Ekotoksosite Çalışmaları”, Yüksek Lisans Semineri, Samsun.

36. **Kurt , P. B., 2000,** “Karadeniz-Samsun Kıyı Şeridinde Çeşitli Organik Kirleticilerin Midye ve Deniz Suyunda İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun.

37. **Landis, W.G., Ho Yu, M., 2000.** “Environmental Toxicology”, Impacts of Chemicals Upon Ecological Systems, Second Edition, Chapter-8 “Heavy Metals”, Lewis Publishers, CRC Pres LLC.

38. **Landis, W.G., Ho Yu, M., 1999.** “Environmental Toxicology”, Impacts of Chemicals Upon Ecological Systems, Second Edition, Chapter-3“An Introduction to Toxicity Testing”, Lewis Publishers, CRC Pres LLC.

- 39. Lane Christopher M., Andrew M., Roberts D., 2001,** “ The Use of Diatoms as Biological Indicators of Water Quality, Institute of Antartic and Southern Ocean Studies. University of Tasmania.
- 40. Luoma, S.N., 1983.** “Bioavailibility of Trace Metals to Aquatic Organizms-A Rewiew”, The Science of the Total Environment, Vol. 28, 1-22.
- 41. Lyman Warren J., 2000,** “ Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals : Environmental and Health Sciences”, Cambridge, Massachusetts.
- 42. Lynngby, J.E., 1987.** “Monitoring of Heavy Metal Contamination in the Limfjord, Denmark, using Biological and Sediment”, The Science of the Total Environment, Vol.64, 239-252.
- 43. MacRury, N.K., Graeb, B.D.S., Johnson, B.M & Clements, W.H., 2002.** “Comparasion of Dietary Mercury Exposure in two Sympatric Top Predator Fishes, Largemouth Bass and Northern Pike: A Bioenergetics Modeling Approach”, Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery, 9, 137-147.
- 44. Marsden, A.D., DeWreede, R.E., 2000.** “Marine Macroalgal Community Structure, Metal Content and Reproductive Function Near an Acid Mine Dranage Outflow”,Environmental Pollution, Vol.110 p.p. 431-440.
- 45. Moreno Garrido I., Lubian L.M., Soares A.M.V.M, 2000,** “Influence of Cellular Density on Determination of EC₅₀ in Microalgal Growth Inhibition Tests”, Ecotoxicology and Environmental Safety, 47, 112-116.
- 46. Muse, J.O., Stripeikis, J.D., Fernandez, F.M., d’Huicque, L., Tudino, M.B., Carducci, C.N., Troccoli, O.E., 1999.** “Seaweeds in the Assessment of Heavy Metal Pollution in the Gulf San Jorge, Argentina”, Environmental Pollution, Vol.104, p.p. 315-322.

47. **Nellessen J.E., Fletcher J.S., 1983**, “Assessment of Published Literature on the Uptake, Accumulation and Translocation of Heavy Metals by Vascular Plants”, *Chemosphere*, 27, 1669-1680.
48. **OECD Series on Testing and Assessment, 2001**. “Harmonized Integrated Classification System for Human Health and Environmental Hazards of Chemical Substances and Mixtures”, Number 33.
49. **OECD 1984**, OECD Guidelines For Testing of Chemicals, “Alga, Growth Inhibition Test”, Office for Economic Co-operation and Development , Paris, 201, June 7, 1984.
50. **Okay O.S., Tolun L., Tüfekçi V., Morkoç E., Gaines A., 1998**, “Investigation of Three Wastewaters Entering İzmit Bay (Turkey) by means of Batch and Chemostat Culture Algal Bioassays”, *Marine Environmental Research* 46, 283-288.
51. **Okay O.S., Legovic T., Tüfekçi V., Tolun L., Morkoç E., 1996**, “Environmental Impact of Land-Based Pollutants on İzmit Bay (TURKEY): Short –Term Algal Bioassays and Simulation of Toxicity Distribution in the Marine Environment”, *Environmental Contamination Toxicology*, 31, 459-465.
52. **Özkoç, H.B., Tosun, N., 1999**. “Deniz Kirliliğinde Midyelerin Biomonitör Olarak Kullanımı”, 3. Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi, 25-26 Kasım, İzmir.
53. **Pelletier G.J., 1984**, “Cadmium, Copper, Mercury, Lead, and Zinc In the Spokane River : Comparisons with water Quality Standards and Recommendations for Total Maximum Daily Loads”, Washington State Department of Ecology, Environmental Investigation and Laboratory Services program Watershed Assessment Section Olympia, Washington 98504-7710, Publication No:94-99.
54. **Petersen S., Kusk K. O., , 2000**, “Photosynthesis Tests as an Alternative to Growth Tests for Hazard Assessment of Toxicant”, *Environmental Contamination and Toxicology*, 38, 152-157.

- 55. Phillips, D.J.H., 1991.** “Heavy Metals in Algae Around the Coast of Qatar”, Marine Pollution Bulletin, Vol.22, No 8, p.p. 414-416.
- 56. Rainbow, P.S., 2002.** “Trace Metal Concentrations in Aquatic Invertebrates: Why and so What?”, Environmental Pollution, Vol 120, pp.497-507.
- 57. Rainbow, P.S., 1995.** “Biomonitoring of Heavy Metal Availability in the Marine Environment”, Marine Pollution Bulletin, Vol.31, pp.183-192.
- 58. Rainbow, P. S., Phillips, D.J.H.,1993.** “Cosmopolitan Biomonitors of Trace Metals”, Marine Pollution Bulletin, Vol.26, Number 11, pp.593-601.
- 59. Rand, G.M., Petrocelli, S.R., 1984.** “Fundamentals of Aquatic Toxicology Method and Applications”, Hemisphere Publishing Corporation, Washington, USA.
- 60. Rijstenbil J.W., Haritonidis S., Malea P., Seferlis M., Winjnholds, 1998,** “Thiol pools and glutathione redox ratios as possible indicators of Copper Toxicity in the Green Macroalgae *Enteromorpha* spp. from the Scheldt Estuary (SW Netherlands, Belgium) and Thermaikos Gulf (Greece, N Aegean Sea), Hydrobiologia 385, 171-181.
- 61. Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G., 1990,** “The Diatoms: Biology and morphology of the genera. pp. xi + 747” Cambridge University Pres.
- 62. Round F.E., 1965,** “The Biology of the Algae”, B. Sc., Ph D., D. Sc. Lecturer in Botany, University of Bristol, Edward Arnold Publishers LTD, London.
- 63. Schlacher – Hoenlinger, M.A., Schlacher, T.A.,1998.** “Differential Accumulation Patterns of Heavy Metals among the Dominant Macrophytes of a Mediterranean Seagrass Meadow”Chemosphere, Vol. 37, p.p. 1511-1519.
- 64. Schmitt D., Müller A., Csögör Z., Frimmel Fritz H., Posten C., 2001,** “ The Adsorbtion Kinetics of Metal Ions onto Different Microalgae and Siliceous Earth”, Water Research 35, 779-785.

- 65. Serfor-Armah, Y., Nyarko, B.J.B., Osae, E.K., Carboo, D., Anim-Sampong, Seku, F., 2001.** “Rhodophyta Seaweed Species as Bioindicators for Monitoring Toxic Element Pollutants in the Marine Ecosystem of Ghana”, *Water, Air, and Soil Pollution*, Vol. 127, p.p.243-253.

- 66. Sheata, S.A., Lasheen, M.R., Kobbia, I.A., Ali, G.H., 1999.** “Toxic Effect of Certain Metals Mixture on Some Physiological and Morphological Characteristics of Freshwater Algae”, *Environmental Monitoring and Assessment* 110, 119-135.

- 67. Sivaci, E.R., Sivaci, A., Sökmen, M., 2004.,** “Biosorption of cadmium by *Myriophyllum spicatum* L. and *Myriophyllum triphyllum* orchard”, *Chemosphere* 56, 1043-1048.

- 68. Tabudravu, J.N., Gangaiya, P., Sotheeswaran, S., South, G.R., 2002.** “*Enteromorpha Flexuosa*(Wulfen) J. Agardh (*Chlorophyta:Ulva*les)-Evaluation as an indicator of Heavy Metal Contamination in a Tropical Estuary”, *Environmental Monitoring and Assessment* 75, 201-213.

- 69. Taylan, Z.S., 2004,** “Su Ortamlarında Ağır Metal Kirliliğinin Biyomonitör Organizmalarla İzlenmesi”, Yüksek Lisans Semineri, Samsun.

- 70. Terry, P. A., Stone, W., 2001.** “Biosorption of Cadmium and Copper Contaminated Water by *Scenedesmus Abundans*”, *Chemosphere* 47, 249-255.

- 71. Terzaghi C., Buffagni M., Cantelli D., Bonfanti P., Camatini M., 1998,** “Physical- Chemical and Ecotoxicological Evaluation of Water Based Drilling Fluids Used in Italian Off-Shore”, *Chemosphere*, 37, 2859-2871.

- 72. Thomas P. Dolley, 2003,** “Diatomite”, U.S. Geological Survey Minerals Yearbook”, 23, 1-10.

- 73. Tolun L.G., Okay O.S., Gaines A.F., Tolay M., Tüfekçi H., Kıratlı N., 2001,** “The Pollution Status and The Toxicity of Surface Sediments in İzmit Bay (Marmara Sea), Turkey”, *Environmental International* 26, 163-168.

- 74. Torres E., Cid A., Herrero C., Abalde J., 2000,** “ Effects of Cadmium on Growth, ATP Content, Carbon Fixation and Ultrastructure in the Marine Diatom *Phaeodactylum Tricornutum* Bohlin”, Water, Air, and Soil Pollution 117, 1-14.
- 75. Torres E., Cid P., Herrero-J. Abalde, 1998,** “Removal of Cadmium Ions by the Marine Diatom *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin Accumulation and Long-Term Kinetics of Uptake”, Bioresource Technology 63, 213-220.
- 76. Torres E., Cid P., Fidalgo C., Herrero-J. Abalde, 1997,** “Long-chain class III metallothioneins as a mechanism of cadmium tolerance in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin”, Aquatic Toxicology, 39, 231-246.
- 77. Traş, B., Baş, L, 1992.** “Toprak ve Su Kirleticileri”, Çevre Bülteni, Sayı 4, s: 19-23, Boğaziçi Üniversitesi, Çevre Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- 78. Trebskorn, R., Böhmer, J., Braunbeck, T., Honnen, W., Köhler, H-R, Lehmann, R., Oberemm, A., Schwainger, J., Segner, H., Schüürmann, G., Traunspurger, W., 2001.** “The Project VALIMAR (VALIdation of bioMARKers for the Assessment of Small Stream Pollution): objectives, experimental design, summary of Results, and recommendation for the application of biomarkers in risk assessment”, Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery, No 8, p.p.161-178.
- 79. Tsvetnenko Y., Evans L., 2002,** “Improved approaches to ecotoxicity testing of petroleum products”, Marine Pollution Bulletin, 45, 148-156.
- 80. Türker Saçan M., Akmehmet Balcioğlu I., 2001,** “Bioaccumulation of Aluminium in *Dunaliella tertiolecta* in Natural Seawater: Aluminium-Metal (Cu, Pb, Se) Interactions and Influence of pH”, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 66, 214-221.
- 81. Wang, W.X., Fisher, N.S., 1999.** “Delineating Metal Accumulation Pathways for Marine Invertebrates”, The Science of Total Environment 237, 459-472.

- 82. Webb, D., Gagnon, M.M., 2002.** “Biomarkers of Exposure in Fish Inhabiting the Swan-Canning Estuary Western Australia-a preliminary study”, *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 259-269.

- 83. Wen-Xiong Wang, Robert C.H. Dei, 2001,** “Effects of Major Nutrient Additions on Metal Uptake in Phytoplankton”, *Environmental Pollution*, 111, 233-240.

- 84. Wilde, E.W., Benemann, J.R., 1993.** “Bioremoval of Heavy Metals by the use of Microalgae” , *Biotech. Adv.* 11, 781-812.

- 85. Wong M.Y., Sauser K.R., Chung K.T., Wong T.Y., Liu K., 2001,** “ Response of the Ascorbate- Peroxidase of *Selenastrum Capricornutum* to Copper and Lead in Stormwaters”, *Environmental Monitoring and Assessment*, 67, 361-378.

- 86. Verslycke T., Vangheluwe M., Heijerick D., Shamphelaere K., Van Sprang P., Janssen C.R., 2003;** “The Toxicity of Metal Mixtures to The Estuarine Mysid *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea) Under Changing Salinity”, *Aquatic Toxicology* 64, 307-315.

- 87. Villares, R., Puente, X., Carballeria, A., 2001.** “Ulva and Enteromorpha as Indicators of Heavy Metal Pollution”, *Hydrobiologia* 462, 221-232.

- 88. Zhou J.L., Huang P.L., Lin R.G., 1998,** “Sorption and Desorption of Cu and Cd by Macroalgae and Microalgae”, *Environmental Pollution*, 101, 67-75.

EK A Analizler Esnasında Kullanılan Kimyasallar ve Markaları

Kimyasal	Markası
%10 'luk HNO_3 (yıkama asiti)	Merck
%70 'luk HNO_3	Merck
%40 'lık HF	Merck
%60 'lık HClO_4	Merck
1M HCl	Merck
%90 'lık Aseton	Carlo Erba
% H_2SO_4	Merck
EDTA	Merck
NH_4Cl	Merck
NaH_2PO_4	Merck

EK B Kullanılan Cihaz-aletlerin Markası ve Kullanım Amaçları

Cihaz-Alet	Markası	Kullanım Amacı
AAS(Alevli Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre)	Unicam 929 AA	Metal Konsantrasyonu Ölçümü
Flouresan Lamba	OSRAM L 36W / 840 LUMILUX-Daylight Cool White	Organizma üretimi ve deney aşamasında 4000 lux gün ışığı yoğunluğunu sağlamak
Flouresan Lamba	OSRAM L 36W / 77 FLUORA-Violetlight	Organizma üretimi ve deney aşamasında 4000 lux mor ötesi ışık yoğunluğunu sağlamak
Spektrofotometre	Hitachi Model 100-40	Ortamin hücresel bulanıklılığını ölçmek
Thoma Lamı	Saaringia	Organizma sayımında
Binocular Işık Mikroskobu	Leica Galen III	Organizma sayımında
Membran Filtre Düzenegi	Sartorius	Sentetik deniz suyu süzmede
Membran Filtre Kağıdı	Sartorius (selüloz nitrat filtre 0.2µm)	Sentetik deniz suyu süzmede
GF/C Glass Fibre Filtre Kağıdı Ø110 mm	Whatman	Klorofil Tayininde ve metal sindirim öncesi işlemlerde
Otoklav	MPA 113	Besi ortamının sterilizasyonunda
Etüv	Trimmert	Cam malzemelerin sterilizasyonunda
pH-metre	inoLab WTW	Besi ortamının pH'sını ayarlama
Laminar-Flow Steril Ekim Kabini	Nüve	Steril ortamda organizma ekimi
Klima	Arçelik	İklim odasında optimum sıcaklığı sağlamak ve sabit tutmak
Hot-plate	Gerhardt	Metal sindiriminde ısıtma sağlama
Santrifüj cihazı	NF 815 Nüve	Klorofilin aseton(sıvı) faza geçmesinde
Çalkalayıcı	Sema Medikal	Metalin organizma ile temasını arttırmak

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında İstanbul'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi sırasıyla İstanbul Oğuzhan ilkokulu, Çanakkale Merkez Ortaokulu ve İstanbul Yeşilköy 50. Yıl Lisesi'nde tamamladım. 1997 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü'nde başladığım lisans öğrenimimi 2001 yılında bölüm ve fakülte birincisi olarak tamamladım. Aynı yıl açılan sınavı kazanarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım. 2002 yılında enstitü kadrosuna araştırma görevlisi olarak atandım. Halen görevime devam etmekteyim.

