

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇİNKO, CİVA VE KALAY TOKSİSİTESİNİN *ARTHROSPIRA
PLATENSIS* GOMONT ALGİNİN GELİŞİMİ VE ANTİOKSİDAN
ENZİMLERİNİN ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burçin ÖNEM

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Tuğba ONGUN SEVİNDİK
Ortak Danışman : Yrd. Doç. Dr. Ali DOĞRU

Haziran 2016

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


ÇİNKO, CİVA VE KALAY TOKSİSİTESİNİN *ARTHROSPIRA
PLATENSIS* GOMONT ALGİNİN GELİŞİMİ VE ANTIOKSİDAN
ENZİMLERİNİN AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burçin ÖNEM

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Bu tez 30/06/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.


Doç. Dr. Halim Aytekin
ERGÜL
Jüri Başkanı


Doç. Dr. Ali UZUN

Üye


Doç. Dr. Şule BARAN

Üye


Yrd. Doç. Dr. Ali DOGRU
Üye


Doç. Dr. Tuğba ONGUN SEVİNDİK
Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Burçin ÖNEM

14.06.2016

TEŞEKKÜR

İyi bir akademisyen olma yolunda her türlü desteğiyle her zaman yanımda olan değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Tuğba ONGUN SEVİNDİK'e, çalışmalarımda karşılaşılan problemlerin çözümünde ve sonuçların değerlendirilmesinde önemli katkıları olan ve hiçbir zaman danışmaktan çekinmediğim sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Ali DOğRU'ya, ayrıca çalışmamın deneme aşamalarında bana yol gösteren sayın Araş. Gör. Hatice TUNCA'ya, tez yazım aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen sayın Araş. Gör. Tarık DİN ve diğer bölüm hocalarıma, her an yanımda olan sevgili Atakan DEDE'ye, pek çok konuda fikrini aldığım çocukluk arkadaşım Deniz KARPUZ'a teőekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca beni bursiyer olarak kabul eden ve bana her daim desteklerini sunan Türkiye'nin kuruyemiş markası olan Tadım ailesine ve sevgili Nuray KARAÇAM'a teőekkürlerimi sunarım.

Manevi desteklerinden güç aldığım sevgili anne ve babama, hayatımda olduğu için kendimi şanslı saydığım ve dünyadaki en değerli varlığım olan sevgili kardeşim Buse ÖNEM'e en içten teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLOLAR LİSTESİ	x
ÖZET	xi
SUMMARY	xii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
1.1. Ağır Metaller	2
1.1.1. Çinko	3
1.1.2. Kalay	4
1.1.3. Civa	5
1.2. Ağır Metallerin Çevreye Etkileri	6
1.3. Ağır Metallerin Sucul Ekosistem Üzerindeki Etkileri	7
1.4. Ağır Metaller ve Algler	9
1.4.1. Ağır metallerin alglerde hücre içine alınımı	9
1.4.2. Ağır metallerin algler üzerindeki etkileri	11
1.4.3. Alglerde ağır metal alınımını ve toksisitesini etkileyen faktörler	12
1.4.3.1. Karbondioksit ve pH	12
1.4.3.2. Tuzluluk	13

1.4.3.3. Besin tuzları	13
1.4.3.4. Şelatörler ve humik maddeler	13
1.4.3.5. Sıcaklık	14
1.4.3.6. Işık	14
1.4.4. Alglerin ağır metallere karşı tolerans mekanizmaları	14
1.5. Serbest Radikaller (Oksidanlar).....	16
1.5.1. Serbest radikal türleri	17
1.5.1.1. Serbest oksijen radikalleri	17
1.5.1.2. Süperoksit radikali	18
1.5.1.3. Hidrojen peroksit	18
1.5.1.4. Hidroksil radikali	18
1.5.2. Serbest radikallerin etkileri	19
1.6. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	19
1.6.1. Endojen (doğal) antioksidanlar.....	20
1.6.2. Enzimatik bileşenler	20
1.6.3. Enzimatik olmayan bileşenler.....	21
1.7. <i>Arthrospira platensis</i>	21
1.8. Kaynak Özetleri	23
1.9. Çalışmanın Amacı	30

BÖLÜM 2.

MATERYAL VE METOD	31
2.1. Çalışma Materyali	31
2.2. Kullanılan Cihazlar	31
2.3. Yöntem	32
2.3.1. Hücre kültürünün hazırlanması	32
2.3.2. Uygulanan ağır metal çözeltileri	33

2.3.3. Deney ortamı ve düzeneği	33
2.4. Ölçüm ve Analizler	34
2.4.1. Optik yoğunluğun ve büyüme oranının belirlenmesi	34
2.4.2. Biyokütle miktarının belirlenmesi	34
2.4.3. Fotosentetik pigment analizi	34
2.4.4. Toplam çözünür protein analizi	34
2.4.5. Toplam süperoksid dismutaz aktivitesi	35
2.4.6. Toplam glutatyon redüktaz aktivitesi	35
2.4.7. Toplam askorbat peroksidaz aktivitesi	36
2.4.8. İstatistiksel analizler	36
BÖLÜM 3.	
BULGULAR	37
3.1. Biyokütle	37
3.2. Fotosentetik Pigment Analizi	39
3.3. Toplam Süperoksid Dismutaz Aktivitesi	41
3.4. Toplam Askorbat Peroksidaz Aktivitesi	44
3.5. Toplam Glutatyon Redüktaz Aktivitesi	47
BÖLÜM 4.	
TARTIŞMA	49
BÖLÜM 5.	
SONUÇ VE ÖNERİLER	54
5.1. Sonuçlar	54
5.2. Öneriler	54

KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ.....	67



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzdellik ifadesi
°C	: Derece santigrad
µg	: Mikrogram
ADP	: Adenozin difosfat
Ag	: Gümüş
Al	: Alüminyum
APOD	: Askorbat peroksidaz
ATP	: Adenozin trifosfat
Au	: Altın
Bi	: Bizmut
Br	: Brom
Ca	: Kalsiyum
Cd	: Kadmiyum
CH ₃ Hg ⁺	: Metil civa
cm, m	: Santimetre, metre
Co	: Kobalt
CO ₂	: Karbondioksit
Cr	: Krom
CrO ₄ ⁻²	: Krom oksit
Cs	: Sezyum
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
Fe	: Demir
Fr	: Fransiyum
Ga	: Galyum

Ge	: Germanyum
GPX	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon transferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksid
Hg	: Civa
K	: Potasyum
KAT	: Katalaz
L	: Litre
mg	: Miligram
mmol	: Milimol
Mn	: Mangan
NADPH	: Nikotiamid adenine dinükleotit fosfat
Ni	: Nikel
O ₂ ⁻	: Süperoksid radikali
OH ⁻	: Hidroksil radikali
Pb	: Kurşun
pH	: [H ⁺] iyonu konsantrasyonunun kologaritması
PO ₄ ⁻³	: Fosfat
ppm	: Toplam madde miktarının milyonda birlik kısmı
Pt	: Platin
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SH	: Sülfidril grubu
Sc	: Skandiyum
Si	: Silisyum
Sn	: Kalay
SOD	: Süperoksid dismutaz
Zn	: Çinko
ZnCrO ₄	: Çinko kromat

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. <i>A. platensis</i> ' in çinko konsantrasyonlarına bağlı biyokütledeki günlük değişimi	37
Şekil 3.2. <i>A. platensis</i> ' in kalay konsantrasyonlarına bağlı biyokütledeki günlük değişimi	38
Şekil 3.3. <i>A. platensis</i> ' in civa konsantrasyonlarına bağlı biyokütledeki günlük değişimi	39
Şekil 3.4. <i>A. platensis</i> ' in çinko konsantrasyonlarına bağlı klorofil- <i>a</i> ' daki günlük değişimi	40
Şekil 3.5. <i>A. platensis</i> ' in kalay konsantrasyonlarına bağlı klorofil- <i>a</i> ' daki günlük değişimi	40
Şekil 3.6. <i>A. platensis</i> ' in civa konsantrasyonlarına bağlı klorofil- <i>a</i> ' daki günlük değişimi	41
Şekil 3.7. Farklı çinko konsantrasyonlarının <i>A. platensis</i> ' de SOD aktivitesi üzerindeki etkisi	42
Şekil 3.8. Farklı kalay konsantrasyonlarının <i>A. platensis</i> ' de SOD aktivitesi üzerindeki etkisi	43
Şekil 3.9. Farklı civa konsantrasyonlarının <i>A. platensis</i> ' de SOD aktivitesi üzerindeki etkisi	43
Şekil 3.10. Farklı çinko konsantrasyonlarının <i>A. platensis</i> ' de APOD aktivitesi üzerindeki etkisi	44
Şekil 3.11. Farklı kalay konsantrasyonlarının <i>A. platensis</i> ' de APOD aktivitesi üzerindeki etkisi	45
Şekil 3.12. Farklı civa konsantrasyonlarının <i>A. platensis</i> ' de APOD aktivitesi üzerindeki etkisi	46
Şekil 3.13. Farklı çinko konsantrasyonlarının <i>A. platensis</i> ' de GR aktivitesi üzerindeki etkisi	47

Şekil 3.14. Farklı kalay konsantrasyonlarının <i>A. platensis</i> ' de GR aktivitesi üzerindeki etkisi	48
Şekil 3.15. Farklı civa konsantrasyonlarının <i>A. platensis</i> ' de GR aktivitesi üzerindeki etkisi	48



TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Kullanılan cihazlar	31
Tablo 2.2. <i>Spirulina</i> medium içeriği	32
Tablo 2.3. Mikrobelerin tuzlarının içeriği	32
Tablo 2.4. <i>Arthrospira platensis</i> 'e uygulanan çinko, civa ve kalay derişimleri	33

ÖZET

Anahtar kelimeler: *Arthrospira platensis*, klorofil-*a*, biyokütle, ağır metaller, antioksidan enzimler.

Teknolojik ve endüstriyel aktivitelerin artması sonucu oluşan metal kirliliği, besin zinciri içerisinde tehlikeli bir boyuta ulaşabilmektedir. Tatlı su ekosistemleri de metal kirliliğinden büyük zarar görmektedir. Özellikle sudaki besin zincirinin ilk basamağını oluşturan alglerin metal stresinden etkilenmesine bağlı olarak ekosistemin tür kompozisyonu değişmekte ve bu durum besin zincirinin üst basamağındaki canlıları da etkilemektedir. Ekosistemin gidişatının izlenmesi ve suda tolere edilebilen maksimum metal konsantrasyonlarının belirlenmesi için yapılan ekotoksikoloji çalışmalarında algler geniş ölçekte kullanılmaktadır. Bu çalışmalarda metal stresine bağlı olarak alg hücrelerinde meydana gelen değişiklikler, toleransı olmayan ve toleranslı yüksek olan algler belirlenmektedir. Alg hücreleri metal stresine karşı çok çeşitli tolerans mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu tolerans mekanizmalarından birisi de alglerde metal etkili oksidatif strese karşı antioksidan enzimlerin aktivitelerinin düzenlenmesine bağlı olarak gösterilen toleranstır. Bu çalışmada *A. platensis* algi çinko, kalay ve civa ağır metallerinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Böylece ağır metalin türüne ve konsantrasyonuna bağlı olarak canlının klorofil-*a* miktarındaki, biyokütlesindeki ve antioksidan parametrelerindeki (SOD, APOD ve GR) değişim belirlenmiştir. Ağır metal seviyesindeki artışın hücresel hasara neden olduğu tespit edilmiştir. Çinko, kalay ve civa uygulanan örneklerde konsantrasyon artışına ve zamana bağlı olarak hem biyoküttele hem de klorofil-*a* miktarında kontrole göre düşüş olmuştur. Antioksidan parametrelerdeki değişimler incelendiğinde; SOD aktivitesinde kontrole göre en fazla düşüş civa uygulanan örneklerde görülmüştür. APOD aktivitesinde kalay uygulanan örnekler kontrole göre en fazla düşüşü göstermişlerdir. GR aktivitesinde ise çinko, kalay ve civa uygulanan örneklerin tamamında kontrole göre önemli derecede azalmalar görülmüştür.

Sonuç olarak, kalayın civa ve çinko ile karşılaştırıldığında, daha toksik olduğu ve toksik etkisini özellikle APOD enziminin sentezi ve aktivitesi üzerindeki selektif etkisi ile gösterdiği söylenebilir.

EFFECTS OF ZINC, MERCURY AND TIN TO THE ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY ON *ARTHROSPIRA PLATENSIS* GOMONT

SUMMARY

Keywords: *Arthrospira platensis*, chlorophyll-*a*, biomass, heavy metals, antioxidant enzymes.

Metal pollution as a result of the technological and industrial activities can reach to hazardous level at food chain. Fresh water ecosystems have been damaged exceedingly from metal contamination. Especially the algae that constitute the first step of the food chain in water, are affected by metal stress and this situation affects the species composition of ecosystems and the top of the food chain. Algae are used in large-scale both in ecosystem monitoring studies and water eco-toxicology studies that conducted to determine the maximum tolerated concentrations of metals. Due to the metal stress, changes in the algae cells, low tolerance and high tolerance algae are determined in these studies. Algae cells have developed a wide variety of tolerance mechanisms against metal stress. One of these metal tolerance mechanisms in algae is that depending on the organization of antioxidant enzymes against metal effective oxidative stress.

In this study, *A .platensis* was exposed to different concentrations of heavy metals such as zinc, tin and mercury. In this manner, changes in chlorophyll-*a* concentration biomass, antioxidant enzymes activities (SOD, APOD, GR) were determined. The increase in the level of heavy metals have been found to cause cellular damage. Zinc, mercury and tin applications decreased both biomass and chlorophyll-*a* content in a time and concentration dependent manner when compared to controls. According to our results, tin was found to be the most effective heavy metal that causes the most significant decreases in biomass and chlorophyll *a* content. Our results showed that mercury applications caused to maximum decrease in SOD activity while APOD activity was decreased as a result of tin applications. Zinc, mercury and tin concentrations led to the significant reduction in GR activity as compared to control values. The treatments with increasing concentrations of zinc, tin and mercury progressively inhibited the growth of algae and chlorophyll-*a* valves during 7 days. The activity of SOD was mostly decreased by mercury, while the activity of SOD was by tin. The activity of GR were by both of the heavy metals.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Çevre; insanlar ve diğer canlıların yaşamları boyunca karşılıklı olarak etkileşim içinde buldukları, organizmaların gelişimini ve davranışlarını etkileyen biyolojik, fiziksel ve sosyal bileşenlerden oluşan çok yönlü doğal bir ortamdır. Ancak bu doğal ortam, insanoğlunun çevreyi kendi istekleri doğrultusunda değiştirmesi sonucu bozulmaktadır. Su ve karasal ekosistemler bilinçsiz ve aşırı kullanılarak önemli ölçüde zarar görmekte ve tüm bunların sonucu olarak dünya aşırı ve hızlı bir şekilde kirlenmeye devam etmektedir (Özata ve ark., 1999).

Hızlı nüfus artışına bağlı olarak ortaya çıkan sanayileşme ile birlikte ağır metal içeren cevherler işlenmekte ve bu metallerin gaz formları atmosfere, hidrosfere ve pedosfere kadar ulaşmaktadır. Metal kontaminasyonu dünya genelinde önemli bir sorundur (Çetinkaya ve ark., 1999). Biyosferdeki metal birikiminin her yıl yaklaşık olarak 5 milyon ton olduğu vurgulanmaktadır (Sandau ve ark., 1996). Endüstriyel faaliyetler, motorlu taşıtların egzost gazları, maden yatakları ve işletmeleri, volkanik faaliyetler, tarımsal gübreleme ve ilaçlama gibi pek çok etken ağır metal kirliliğinin nedenleri arasında yer almaktadır (Zengin ve Munzuroğlu, 2004). Ağır metal kirliliği bu faaliyet alanlarından çok uzak bölgelerde dahi görülebilmektedir. Örneğin havaya karışan kadmiyum partikülleri yeryüzüne ya da sucul ortamlara düşmeden önce çok uzun mesafeler kat edebilmektedir. Zehirli atıkların depo edildiği alanlarda gerçekleşen sızıntı ve taşkınlar sonucunda suya veya toprağa karışabilmektedir (Çatak ve ark., 2000). Topraklara karışan ve buralarda birikim yapan ağır metaller, mikrobiyal aktivite ve toprak verimliliğine zarar verdiği gibi, biyolojik çeşitlilik ve ürünlerdeki verim kayıplarına, hatta besin zinciri yoluyla sıcakkanlı organizmalarda zehirlenmelere kadar birçok çevre ve insan sağlığı problemlerinin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Pierzynski ve Schwab, 1992). Sucul ortamlara karışan ağır

metaller ise kısmen karbonat, sülfat ve sülfür olarak katı bileşikler oluşturarak su tabanına çökmekte ve bu bölgede yoğunlaşmaktadır (Kahvecioğlu, 2004).

1.1. Ağır Metaller

Ağır metaller, yoğunluğu 6 g cm^{-3} 'den büyük metaloidlere ve metal gruplarına verilen ortak bir terimdir (O'Connell ve ark., 2008). Bu gruba başta kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), krom (Cr), demir (Fe), kobalt (Co), bakır (Cu), nikel (Ni), civa (Hg) ve çinko (Zn) olmak üzere 60' dan fazla metal dahil edilmektedir (Prasad, 2004). Ağır metallerin ve bileşiklerinin yerkabuğunda, içerdikleri toksisite miktarlarına bağlı olarak çevrede gösterdikleri yayılış aralıkları farklılık göstermektedir (Pinto ve ark., 2003; Taylan ve Özkoç, 2007).

Gerek doğal gerekse antropojenik (insan kaynaklı) prosesler ve kaynaklar, su ve hava içinde ağır metallerin kontaminasyonuna sebep olmaktadır (Çatak ve ark., 2000). Ağır metallerin çevreye kontamine olmasında etken olan en önemli endüstriyel faaliyetler çimento üretimi, demir çelik sanayi, termik santraller, cam üretimi, çöp ve atık çamur yakma tesisleri, maden eritme ve işleme tesislerinin atıkları, otoyollarda araçlardan salınan yakıt, balata ve lastik kökenli atıklardır (Kürkçü, 2001). Doğal olarak çevrede bulunan ağır metaller ise kayalarda, toprakta, bitkiler ve hayvanlarda mevcut bulunmaktadır. Bunlar suda çözünen iyonlar şeklinde, gaz şeklinde veya kayalar, kum ve topraklarda mineraller veya tuz formlarında bulunmaktadır.

Ağır metaller inorganik maddelerin büyük bir grubunu oluşturmakta ve yeryüzünün büyükçe bir kısmına yayılmaktadır. Bu bölgeler genellikle pis su atık alanları, pestisitler, gübreler ve belediye çöp alanlarından çıkan gazlar, araba eksoz gazları, metal madenleri ve koku (parfüm ve kozmetik gibi) endüstrisinden oluşmaktadır. Bütün metallerin yüksek konsantrasyonları toksik özellik göstermektedir. Özellikle çoğu metal ve metaloid türleri istenmedikleri yerlerde bulduklarında çevresel kirlilik etkeni olarak kabul edilmektedir (Garbisu ve Alkorta, 2003).

1.1.1. Çinko (Zn)

Atom numarası 30, atom ağırlığı 65.4 g mol^{-1} , yoğunluğu 7.14 g cm^{-3} , erime noktası $419.53 \text{ }^\circ\text{C}$ olan, katı halde bulunan, mavimsi açık gri renkte, erime noktası düşük kırılmalı bir metaldir. Elementlerin periyodik tablosunda geçiş elementleri grubunda (2B grubu) ve bileşiklerinde + 2 değerlikli olarak bulunmaktadır.

Çinko toprak, su, sediment ve havadaki toz partikülleriyle birleşerek doğal süreçler sonucu çevreye salınmaktadır. Havadan ise yağmur ve kar ile yıkanarak su ortamlarına geçmektedir (Taylan, 2005). Miktar olarak en çok üretilen üçüncü renkli metal olan çinkonun yeryüzündeki ortalama konsantrasyonu 70 mg L^{-1} 'dir. Toplam rezerv 180×10^6 ton olarak tahmin edilmektedir (Kahvecioğlu, 2004). Doğal sulardaki konsantrasyonu 0.01 mg L^{-1} 'den az olmakla birlikte, musluk suyunda $0.01-1 \text{ mg L}^{-1}$ civarında bulunmaktadır (Çağatay, 1997).

Çinko ve birçok bileşiği diğer ağır metallere karşılaştırıldığında düşük toksik etkisi göstermektedir. Çinko tuzlarının toksisitesi, çinkodan daha fazla olmakla birlikte, yapısında bulunduğu bileşiğin anyonik kısmının toksikliğine bağlı olmaktadır. Örneğin; çinko kromatın (ZnCrO_4) yüksek derecedeki toksik ve kanserojen özelliği çinkodan değil, anyonik kromat (CrO_4^{2-}) bileşeninden kaynaklanmaktadır (Habashi, 1997). Çinkonun mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlar için gerekli bir element olduğu saptanmıştır. Yüksek yoğunlukta çinko canlılar için toksik etki yapmaktadır (Öner, 1987). Ancak çinko ve çinko tuzlarından kaynaklanan zehirlenmelere nadir olarak rastlanmaktadır (Geneva, 1996).

Doğadaki çinkonun en önemli antropojenik kaynakları metal dökümü ve madencilik faaliyetleridir. Çinkonun pirinç, bronz, alaşım, döküm metal, kauçuk ve boya eldesinde kullanımı, atık sular yoluyla doğaya kontamine olma oranını arttırmaktadır (ATSDR, 2016).

1.1.2. Kalay (Sn)

Atom numarası 50, atom ağırlığı 118.7 g mol^{-1} , yoğunluğu 7.26 g cm^{-3} , erime noktası $231.93 \text{ }^\circ\text{C}$ olan, katı halde bulunan, gümüşü gri renkte bir metaldir. Elementlerin periyodik tablosunda zayıf metaller grubunda (4A grubu) ve bileşiklerinde + 2 ve + 4 değerlikli olarak bulunmaktadır. Kalay, özellikle erime noktası yüksek metallere serbest olarak alaşım yapar. Bakır (Cu), nikel (Ni), gümüş (Ag) ve altın (Au), sıvı kalayda oldukça iyi çözünürler. Kalayın α -kalay ve β -kalay olmak üzere başlıca iki allotropu vardır. Düşük sıcaklıklarda gri veya α -kalay kararlı olup, silisyum (Si) ve germanyuma (Ge) benzeyen kübik kristal yapıdadır. $13.2 \text{ }^\circ\text{C}$ 'nin üzerinde ısıtıldığında beyaz veya β -kalaya dönüşmektedir. Beyaz kalay tetragonal kristalin yapıda bulunmaktadır. Soğutulduğunda yavaşça gri formuna dönüşmektedir. Bu dönüşüm, alüminyum (Al) ve çinko (Zn) gibi empüritelerin (safsızlıkların) varlığından etkilenir ve antimon (Sb) veya bismut (Bi) ilavesiyle önlenabilir. Havada kolaylıkla okside olmaz, korozyona karşı dirençlidir. Bu özelliğinden ötürü diğer metallerin kaplanmasında kullanılır.

Doğadaki kalayın en önemli antropojenik kaynakları termik santraller (enerji üretimi), petrokimya sanayi ve demir-çelik sanayidir (Kahvecioğlu ve ark., 2004). Dünyadaki kalay cevherleri genellikle alüvyonlu bölgelerde bulunmaktadır. Kalay yerkabuğunda doğal olarak bulunmaktadır ve suda çözünmez yumuşak, beyaz, gümüş metaldir (ATSDR, 2016). Kalayı en yoğun olarak içeren mineral "kassiterit"tir. Bu mineral, yerkabuğunda kalınlığı fazla olmayan çözeltiler halinde birikmiştir. Doğada kalayı en yoğun olarak içeren kassiterit minerali, alüvyonlu birikintilerden üç yolla elde edilmektedir. Irmakların getirdiği alüvyonların taranmasıyla, belli bir eğime sahip akarsu bölgelerinde hidrolik olarak ve açık havza yöntemiyle doğaya kontamine olmaktadır. Kassiteritini taneleri bir çakıl taşından 2.5 kez daha ağırdır ve % 70.77 oranında kalay içermektedir.

1.1.3. Civa (Hg)

Atom numarası 80, atom ağırlığı $200.59 \text{ g mol}^{-1}$, yoğunluğu 14.06 g cm^{-3} , erime noktası $38.83 \text{ }^\circ\text{C}$ olan, oda sıcaklığında ($25 \text{ }^\circ\text{C}$) sıvı halde bulunan, gümüşü renkte bir metaldir. Sıvı halde bulunan 5 elementten [galyum (Ga), brom (Br), sezyum (Cs), civa (Hg) ve fransiyum (Fr)] birisidir. Elementlerin periyodik tablosunda, geçiş elementleri grubunda (2B grubu) ve bileşiklerinde + 1 ve + 2 değerlikli olarak bulunmaktadır.

Civa zehirli ve pahalı bir maddedir. İnhibitör (enzimlerin çalışmasına olumsuz etkiye bulunur) olduğu için çok tehlikelidir. Doğaya önemli miktarda civa kontaminasyonuna neden olan etkenler arasında termometrelerin kullanımı, kan basıncı ölçen cihazlar ve medikal atıkların yakılması sayılabilir. Atık sulara kontamine olan tüm civanın yaklaşık % 5'inden sağlık bakım tesisleri sorumlu olmaktadır. Ayrıca fosil yakıtların kullanımı, elektrik üreten santraller, altın ve civa madenciliği, çimento üretimi, pestisit kullanımı, klor ve kostik soda (sodyum hidroksit) eldesi, ayna imalatı, medikal malzemeler, endüstriyel sızıntı, dişçilik, atık ve ceset yakma gibi insan aktiviteleri doğadaki civa konsantrasyonunu arttırmaktadır. Volkanik aktiviteler, kayaçların ayrışması, su hareketleri ve biyolojik süreçler ise doğal yollarla gerçekleşen civa kontaminasyonunun sebepleri arasındadır. Civa doğada element (veya metalik), inorganik ve organik form gibi farklı formlarda bulunmaktadır. Bu formların hepsinin toksisite derecesi farklıdır. Element formundaki civa sıvıdır ve kolaylıkla buharlaşarak atmosferde bir yıla yakın bir süre kalabilir. Civa, yer kabuğunun oluşumuna katılan temel elementlerdendir. Çoğunlukla yüzeysel katmanlarda bulunur ve doğal dispersiyon sonucu kolaylıkla serbest hale geçerek tüm ekosistemlere yayılır. Bu nedenle su, toprak, hava ve canlılarda iz halde civaya rastlamak mümkündür (Sanlı, 1976). Yüzey sularda 0.001 mg L^{-1} , kirli sularda ise 0.03 mg L^{-1} oranında bulunmaktadır (Çağatay, 1997). Yerkabuğunda ortalama 0.08 mg L^{-1} oranında bulunan civa deniz suyunda $3 \times 10^{-5} \text{ mg L}^{-1}$ civarında bulunmaktadır. (Kahvecioğlu,2004).

Civa günümüzde çok kullanılsa bile termometre ve barometre yapımında, aynaların sırlanmasında, elektrik devre anahtarlarının yapımında ve dişçilikte kullanılan amalgam yapımında kullanılmaktadır. Genellikle kristaller halinde bulunmakta (civa klorür ve civa kükürt gibi) ve tuz formlarını oluşturmaktadır. Suda ve toprakta bulunan mikroskobik organizmalar tarafından metil civa (CH_3Hg^+) formu yoğun olarak üretilmektedir (ATSDR, 2016).

1.2. Ağır Metallerin Çevreye Etkileri

Çevresel koşullar göz önüne alındığında ağır metaller en tehlikeli çevre kirleticilerdir. Çünkü doğal ortamlarda fiziksel yöntemlerle ayrışmamakta ve uzun süre varlıklarını devam ettirmektedirler (Kasassi ve ark., 2008). Endüstriyel aktivitelerin artışı, metaller, sentetik bileşikler, atık nükleer sıvılar gibi kirleticili faktörlerin birikmesi ile birlikte çevresel kirliliği ve bazı ekosistemlerin bozulmasını hızlandırmıştır. İz metaller çevre kirlenmesi bakımından yüksek konsantrasyona sahip metallerle oranla çok daha tehlikeli olmaktadır (Taylan ve Özkoç, 2007).

Ağır metaller endüstriyel aktiviteler ve teknolojik gelişmeler ile çevre ve toplum sağlığını, içerdiği toksik etkiden dolayı tehdit altında bırakmaktadır (Bahadır ve ark., 2007; Perez-Marin ve ark., 2007; Reddad ve ark., 2003). Doğal çevrede bulunan canlılar uzun süreli periyotlarda düşük dozlarda, kirleticilerin yoğun etkisi altında bulunan ortamlardaki canlılar ise yüksek dozlarda kirleticilere maruz kalmaktadır (Pinto ve ark., 2003). Ağır metaller canlı bünyesine deriden geçerek veya doğrudan besin yoluyla sindirim sistemine alınarak katılırlar. Canlı bünyesine alınan bu metallerin biyolojik birikimi her organ ve dokuda farklıdır (Francesconi ve ark., 1999).

Ağır metallerin toksik etkileri; metalin kimyasal formuna, biyolojik bulunurluğuna, alım yoluna, metalin aksiyon etkisine ve metabolizmasına, diğer metallerle etkileşimine, metalin akut ve kronik etkisine, toksik etkisini göstereceği hedef bölgeye, hücre içi fizyolojik süreçlere (solunum, fotosentez gibi) ve genetik adaptasyonlara bağlıdır (Patra ve ark., 2004). Ağır metallerin bu toksisite

mekanizmaları (enzimler, polinükleotidler, gerekli besin ve iyonların transport sistemleri gibi) önemli moleküllerin fonksiyonel gruplarını bloke ederek, hücrel bölgeledeki gerekli iyonları çıkartarak ya da onlarla yer değiştirerek, enzimleri denatüre ya da inaktive ederek, hücre ve organellerin membran bütünlüğünü bozarak toksik etkilerini göstermektedirler. Ayrıca bu metaller, serbest radikal oluşumuna neden olarak da toksik etkilerini göstermektedirler (Mallick, 2004).

Bakır (Cu), demir (Fe), mangan (Mn), molibden (Mo), çinko (Zn), kobalt (Co) ve nikel (Ni) gibi bazı ağır metaller bitki beslenmesi için önemli olmakla birlikte yüksek yoğunluklarda fitotoksik etki göstermektedirler. Ayrıca kadmiyum (Cd), krom (Cr), civa (Hg) ve kurşun (Pb) gibi ağır metaller çeşitli yollardan tarımsal ekosisteme girmekte ve bunların bitki bünyesindeki bulunma düzeyleri konsantrasyonlarına ve çözünürlüklerine bağlı olarak değişmektedir (Bergmann, 1992). Özellikle alg ve liken gibi yavaş büyüyen bitkiler, yüksek bitkilere göre birim kuru ağırlık başına 100-1000 kez daha fazla ağır metal biriktirme özelliği göstermektedirler ve bu nedenle ağır metal kirliliğinin belirlenmesi için biyoindikatör olarak tanımlanmaktadır (Özbek ve ark., 1995).

Ağır metal kirliliğin sebep olduğu ilk zehirlenme Japonya'daki Minamata Körfezi'ne endüstriyel faaliyetler sırasında civa kontaminasyonu sonucunda gerçekteşmiştir. Yapılan ölçümler sonucu deniz suyundaki civa miktarının 5-15 mg L⁻¹ arasında olduğu ve optimum değerin 20 katı daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Günümüzde pek çok balık zehirli olacak veya problem teşkil edecek seviyelerde Hg içermektedir. Irak' da tarım alanlarında metil civa içerikli ilaç kullanılması ve tohumların besin maddesi olarak tüketilmesiyle pek çok ölüm vakası olmuştur (Charles, 2001; Kahvecioğlu ve ark., 2003).

1.3. Ağır Metallerin Sucul Ekosistem Üzerindeki Etkileri

Suyun, çevresel döngüsü sırasında çeşitli atık maddelerle karışması veya normalde var olan maddelerin miktarlarının bazı nedenlerden dolayı artması sulardaki kirlenme sorununu meydana getirmektedir. Ekolojik dengeyi bozan kirleticiler arasında

bazı organik maddeler, endüstriyel atıklar, petrol ve türevleri, yapay ve organik tarımsal gübreler, deterjanlar, radyoaktif maddeler, pestisitler, inorganik tuzlar, yapay ve organik kimyasal maddeler, ağır metaller ve atık ısı bulunmaktadır. Kirli su (atık su), en çok endüstri bölgeleri, yoğun tarım yapılan alanlar ve yerleşim bölgelerinde ortaya çıkmakta ve daha çok metal kirliliği şeklinde olmaktadır. Son yüzyılda endüstriyel faaliyetlerin artışı sebebiyle ağır metal kirliliğine bağlı olarak doğal su kaynakları tehdit altına girmiştir. Diğer ekosistemlerde olduğu gibi sucül ekosistemlerde de ağır metal kontaminasyonu çevresel sorunların en önemli sebeplerinden birisidir. Sucül ortamdaki kirleticiler konsantrasyonlarına bağlı olarak organizmalarda doku hasarlarını arttırmaktadır ve bu olumsuz etkiler bazen bu canlıların ölümü ile sonuçlanabilmektedir (Atamanalp ve Yanık, 2001).

Bu kirlenme besin zincirine de yansımakta, su ve besinler ile bünyeye alınan ağır metaller canlılarda birikerek tüm yaşam aktivitelerine zarar verebilmektedir (Hu, 2000; Taylan ve Özkoç, 2007; Kayhan ve ark., 2009). Sucül ekosistemlerdeki canlılar direkt olarak su tarafından çevrenmelerinden veya indirekt olarak besin kaynaklarını almalarından dolayı, bazı sucül canlılar metal iyonlarını bünyelerinde biriktirmektedirler (Devi ve ark. 1996). Kennish'in (1992) listesinde deniz flora ve faunası üzerine ağır metallerin göreceli toksisiteleri şöyle sıralanmıştır; civa (Hg)> kadmiyum (Cd)> bakır (Cu)> çinko (Zn)> nikel (Ni)> kurşun (Pb)> krom (Cr)> alüminyum (Al)> kobalt (Co). Doğal veya antropojenik kaynaklarla su ekosistemlerine giren ağır metaller, suda serbest iyon şeklinde veya inorganik ve organik anyonların çözünmüş kompleksleri şeklinde bulunmaktadırlar. Ayrıca çözünmemiş kompleks ya da organik partiküller şeklinde de bulunabilmektedirler.

Bunun sonucu olarak organizmalar, ağır metallerin serbest iyon şeklinde olanlarını sudan, bazılarını besin zinciri yoluyla ve bazılarını da sedimentten doğrudan almaktadır (Hodson, 1988; Klerks ve Fraleigh, 1997). Ağır metallerin sularda biyolojik bulunurlulukları sedimentin katyon değiştirme kapasitesine, su ve sedimentin pH değerine, redoks potansiyeline, suyun sıcaklığına, tuzluluğuna, organik içeriğine ve diğer ağır metallerin konsantrasyonuna bağlıdır (Wahbeh, 1984; Ward, 1989).

1.4. Ağır Metaller ve Algler

Algler, fotosentez yapabilen gerçek anlamda kök, gövde, yaprak gibi organlardan yoksun olan ve iletim dokuları bulunmayan bitkisel formlardır. Genellikle su içinde yetişmekle birlikte karada da görülmektedirler. Büyüklükleri birkaç mikron ile 60–65 metre arasında değişen ve yaklaşık 25 bin türü olan klorofil pigmentine sahip bitkilerdir. Su ortamında primer üretici olan algler, yapılarındaki pigmentleri sayesinde karbondioksit ve suyu ışığın etkisi ile karbonhidratlara çevirip; kendi gelişimlerini sağlayarak besin zincirinin ilk halkasını oluşturmaktadırlar. Böylece su ortamındaki besin değerinin ve çözülmüş oksijen oranının artmasını sağlamaktadırlar. Bu şekilde üretime olan katkıları ve üst basamaktaki canlılarla olan ilişkileri açısından önem taşımaktadırlar (Round, 1973).

Algler, adsorpsiyon, presipitasyon ve metabolizmaya bağlı işlemler ile fiziksel, kimyasal ve biyolojik mekanizmalarla dış ortamdakinden çok daha yüksek miktarlarda ağır metal iyonlarını biriktirmektedirler (Gadd, 1988). Bu yüzden alglerdeki metal birikiminin belirlenmesi, sucul ekosistemlerdeki metallerin biyolojik akibetinin belirlenmesinde oldukça önem taşımaktadır (Wang ve Dei, 2001). Ayrıca algler besin zincirinin ilk basamağını oluşturduklarından dolayı, alglerde metal birikimi ve metale bağlı olarak tür kompozisyonunun değişimi, üst basamakta bulunan canlıları da etkilemektedir.

1.4.1. Ağır metallerin alglerde hücre içine alınımı

Algler tarafından ağır metal iyonlarının alınımı, metal çözeltisinin kimyasal kompozisyonuna, alg türüne, metalin iyonik yüküne ve metal türlerine bağlı olarak değişmektedir (Holan ve Volesky, 1994; Aksu, 1998; Gupta ve ark., 2001; Sing ve ark., 2001). Ayrıca ışık, pH, sıcaklık ve şelatlayıcı ajanlar gibi fizikokimyasal faktörler de alglerdeki ağır metal alınımını etkilemektedirler (Depledge ve ark., 1995; Phillips, 1995). Ağır metallerin alınım kapasiteleri türden türe göre değişiklik göstermektedir. Bu kapasite tatlı su algleri için 0.5-1.0 mmol g⁻¹ ve deniz algleri için 1-1.5 mmol g⁻¹ aralığındadır (Yu ve ark., 1998).

Mikrobiyal metal alınımı sıklıkla iki yolla olmaktadır (Rai ve ark., 1981; Cho ve ark., 1994; Collard ve Matagne, 1994). Bunlardan ilki hücre duvarına bağlanma ya da adsorpsiyonla hızlı bir şekilde gerçekleşen metabolizmadan bağımsız alınımdır, ikincisi ise daha yavaş olan ve hücre membranındaki taşıyıcılarla gerçekleşen metabolizmaya bağımlı alınımdır.

Metabolizmadan bağımsız alınımda metallerin alınımı hücre duvarı bileşenleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Alglerde metalin biyosorpsiyonu genellikle hızlı, geri dönüşümlü ve yaklaşık 5-10 dakikada içinde tamamlanan bir olaydır (Gadd, 1988; Zhang ve Majidi, 1994). Öldürülmüş alg ya da metabolik olarak inaktive edilmiş algler, biyosorpsiyon miktarının belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadırlar.

Metabolizmaya bağımlı alınımda ise genellikle saatler ve hatta günlerle ölçülebilecek derecede düşük hızda gerçekleşir. Bu alınımda mekanizması düşük sıcaklık, ışık gibi enerji kaynaklarının yokluğu ve metabolik inhibitörler tarafından inhibe edilmekte ve ortam koşullarındaki değişimlerden etkilenmektedir (Gadd, 1988; Garnham ve ark., 1992).

Hücreler, metal iyonlarını hücre içine aktif ya da pasif taşıma ile hücre yüzeyi aracılığıyla almaktadırlar. Metal iyonları önce hücre yüzeyine diffüze olmakta ve metale kimyasal afinite gösteren hücre yüzeyindeki bölgelere bağlanmaktadır. A sınıfı metaller [potasyum (K), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) gibi] esas olarak karboksil grupları gibi oksijen bakımından zengin ligandlara, B sınıfı metaller [civa (Hg), kurşun (Pb), platin (Pt), altın (Au) gibi] amino asitler gibi sülfür ve azot bakımından zengin ligandlara bağlanarak, geçiş metalleri (Cd, Cu, Zn gibi) ise B sınıfı metaller gibi davranarak hücre içine alınmaktadır (Niebor ve Richardson, 1980). Bu aşama pasif birikim, adsorpsiyon, iyon değişimi, koordinasyon, kompleks oluşumu, şelat oluşturma ve mikro presipitasyon proseslerini içermektedir. Hücre içine alınan metal iyonları ise metal bağlayıcı proteinlere ya da diğer hücre içi bölgelere bağlanmaktadır (Dönmez ve Aksu, 2002).

Ağır metallerin biyolojik moleküllerle alınımı bazı aşamalar içermektedir. Yapılan bilimsel araştırmalar ağır metallerin metal bağlama verimliliğinin ilk aşamada çok hızlı bir şekilde olduğunu ve bu olayda metal iyonlarının hücre duvarlarına temas eder etmez yüzey adsorpsiyonu ile mikroorganizmaların hücre yüzeyine bağlandığını göstermektedir. Yüzey adsorpsiyonu, fizikokimyasal bir olay olmakla birlikte, hücre duvarı bileşenlerinden olan polisakkaritler, proteinler ve lipidler gibi birçok biyolojik molekülün sahip olduğu fonksiyonel grupların yardımıyla gerçekleşmektedir. Bu fonksiyonel gruplar amino, karboksil, sülfidril, fosfat ve tiol grupları olup, metalleri bağlamada farklı afinite ve spesifikliğe sahiptir. Hücre duvarının yapısında bulunan proteinler ise, metalleri bağlamak için aktif bölgeler oluşturmakta ve metale karşı afinitelerini artırmaktadır. Yüzey alınımında bazı mikroorganizmalar, yüzeylerinde yüksek moleküler ağırlıklı polifosfatlara benzeyen gruplar yardımıyla metallerle kompleks oluşturarak metali bağlayabilmektedirler. Yüzey alınımını takiben ikinci metal bağlama aşaması yavaş gerçekleşmekte ve metaller hücre membranının transport özelliğine bağlı olarak sitoplazmaya geçmektedirler. Sitoplazmadaki metaller ise çözünmez formda (mikrodepositler şeklinde) tutulmaktadır (Sağlam ve Cihangir, 1995).

1.4.2. Ağır metallerin algler üzerindeki etkileri

Büyüme ve metabolizma için gerekli olan besleyici metaller, yüksek konsantrasyonlarda alglerin metabolik aktiviteleri üzerinde toksik etki yapmaktadırlar (Raive ark., 1981). Her ağır metalin oransal toksisitesi, belirli bir alg türüne ve o algin özelleşmiş alım bölgelerine bağlı olarak farklılık göstermektedir. (Break ve ark., 1980). Örneğin, alüminyum (Al) stresi *Anabaena cylindrica*'da azot metabolizmasını inhibe ederek algin daha çok heterosist üretmesine neden olmaktadır (Rai ve ark., 1992). Bir alg için stres kaynağı olan bir metal diğer alg için besin değeri taşıyabilmektedir. Örneğin, selenyumun (Se) diğer alg türleri için toksik sayılan bir konsantrasyonu *Chlamydomonas*'da etkili enzimlerin aktivitesini indüklemektedir (Takeda ve ark., 1993).

Ağır metallerin algler üzerindeki herhangi olumsuz bir etkisi, daha yüksek seviyelerdeki organizmaları etkilemekte ve sonuç olarak tüm sucul ekosistem bundan zarar görmektedir (Franklin ve ark., 2000). Bu sebeple ağır metallerin atmosferde, suda ve topraktaki konsantrasyonunun belli bir değerin üzerine çıkması, tüm canlılar için ciddi problemlere sebep olmaktadır (Benavides ve ark., 2005). Bu durumda canlı organizmalar üzerinde fizyolojik stres koşulları oluşmakta; dokulardaki serbest radikallerin oluşum hızı artmaktadır. Serbest radikaller eşlenmemiş elektron içeren, çok kararsız, diğer moleküllerle reaksiyona girme eğilimi yüksek olan ve kimyasal olarak kararlı hale gelebilmek için elektron vermeye gereksinim duyan moleküllerdir. Serbest radikallerin artışı sonucunda en büyük zarar hücre zarında meydana gelmektedir. Çünkü oluşan serbest radikaller, hücre zarının yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek, zarın seçici geçirgen özelliğinin ve kontrollü madde alışverişinin bozulmasına neden olmaktadır. Örneğin bakır (Cu) ve civa (Hg) gibi ağır metaller organizmalarda oksidatif strese neden olmaktadır. (Boening 2000; Wang ve ark., 2004; Zhou ve ark., 2008). Ancak mikroalglerin antioksidan vitamin içerikleri yüksek olduğundan serbest radikaller detoksifiye edilerek hücrelerin zarar görmesi engellenmektedir (Keleş, 1992).

Biyokimyasal düzeyde ağır metallerin aşırı konsantrasyonlarının neden olduğu olumsuz etkiler; ATP ve ADP'nin fosfat gruplarıyla olan reaksiyonları, hücre membranlarının zarar görmesi, SH gruplarıyla olan reaksiyonları, esas iyonların yerine geçmesi ve esas metabolitlerle rekabet etmesi olarak sıralanmaktadır. Bir metal hücre içine girdiğinde ya hücre içi bileşenlere bağlanmakta ya da presipite edilmektedir (Gadd,1988).

1.4.3. Alglerde ağır metal alımını ve toksisitesini etkileyen faktörler

1.4.3.1. Karbondioksit ve pH

Alglerle CO₂ kaynağının yetersizliği yüksek pH oluşumuna ve CO₂ yönünden kısıtlanmış büyümenin görülmesine neden olmaktadır. pH değerindeki değişim direkt olarak metal çözünürlüğünü etkilemektedir ve yüksek pH CO₂ konsantrasyonundan

etkilenmektedir (Campbell ve Stokes, 1985). Örneğin; pH değerinin azalması durumunda kadmiyum, bakır ve çinko daha az toksik, kurşun ise daha toksik etki yapmaktadır (Campbell ve Stokes, 1985). Alüminyum maksimum toksik etkisini pH değerinin 5.8-6.2 arasında olması durumunda göstermektedir (Helliwell ve ark., 1983; Parent ve Campbell, 1994). Gümüş ve manganın toksik etkisi için ortamın pH değeri çok az etkili olmasına rağmen, civa direkt olarak pH'ya bağlıdır.

1.4.3.2. Tuzluluk

Algler için normal tuzluluk değerlerinin üzerindeki değerler metal toksisitesini arttırabilmektedir. Tuz konsantrasyonu metal adsorpsiyon ve alım oranını etkileyebilmekte ve eğer elektrolit konsantrasyonu yeterince yüksekse farklı elektrolitler adsorpsiyonu azaltabilmektedir (Cho ve ark., 1994).

1.4.3.3. Besin tuzları

Fosfat (PO_4^{2-}) konsantrasyonu alglerde direkt olarak metal toksisitesini etkilemektedir (Rai ve ark., 1981). Yüksek hücre dışı fosfat konsantrasyonu hücre dışı çözeltideki demir ve alüminyum gibi metallerle çökelti oluşturarak ya da hücre içinde polifosfat granülleri oluşturarak metal stresini azaltmaktadır (Greger ve ark., 1992). Azotlu bileşikler de yine algler üzerindeki metal toksisitesini etkilemektedir (Gupta, 1989).

1.4.3.4. Şelatörler ve humik maddeler

Amino asitler, organik maddeler, humik maddeler, fulvik asit, EDTA (etilen daimin tetra asetik asit) ve diğer organik bileşikler metalleri bağlayarak toksisiteyi azaltabilmektedirler (Rai ve ark., 1981).

1.4.3.5. Sıcaklık

Düşük sıcaklıklar metabolizmaya bağımlı alınımların mekanizmasını inhibe ederek metal stresini azaltmaktadır (Skowronski, 1986; Pawlik ve Skowronski, 1994).

1.4.3.6. Işık

Işık yoğunluğunun alglerde metal toksisitesini nasıl etkilediğine yönelik çok az bilgi vardır. Özellikle alg biyokütlesinin yoğun olduğu durumda eşit şekilde aydınlanamama durumu toksisite testlerinde yanlışlıklara neden olmaktadır (Nyholm ve Kallqvist, 1989).

1.4.4. Alglerin ağır metallere karşı tolerans mekanizmaları

Algler, hücre yüzeyindeki metallerin bağlanma bölgelerinin azalması, metabolizmaya bağımlı alınımların inhibisyonu, genetik adaptasyon, morfolojik değişiklikler ve hücre içi detoksifikasyon mekanizmaları ya da hücre içi depolama stratejisi ile ağır metal stresini hücre düzeyinde tolere edebilmektedirler (Rai ve ark., 1981). Ayrıca algler, yaşam döngülerini yavaşlatarak ya da hızlandırarak ya da üreme organlarında değişiklik yaparak ve genetik tolerans mekanizmaları sayesinde metal stresine cevap verebilmektedirler (Sze, 1986; Xylander ve Braune, 1994).

Tolerans mekanizması tek bir inorganik stres faktörüne duyarlı olabileceği gibi birden çok inorganik kimyasala da toleranslı olabilmekte ve hepsinin mekanizması farklılık göstermektedir. Kotolerans (çapraz tolerans) durumunda ise alg bir kimyasala karşı tolerans mekanizması geliştirip; geliştirdiği mekanizma diğer kimyasallara da tolerans geliştirmesini sağlayabilmektedir (Klerks ve Weis, 1987). Bazı algler mikro besin tuzlarının eksikliğine bağlı olarak ikincil (sekonder) metabolitlerini hücre dışına salarak, metabolitlerini metallere karşı şelatör olarak kullanmakta ve böylece toksisiteyi azaltabilmektedirler (Lukac ve Aegerter, 1993). Algler metal stresini bunların hücre içindeki konsantrasyonlarını azaltarak tolere edebilmekte ve bunu mekanizmaları enerji harcayan akış pompaları, enzimatik

detoksifikasyon, hücre içi metal bağlayıcı polimerlerin sentezlenmesi, çözünmeyen metal komplekslerinin oluşturularak çöktürülmesi gibi süreçleri geçirerek gerçekleştirmektedirler. (Wood ve Wang, 1985).

Organizmalar sahip oldukları homeostasi mekanizmalarıyla da çoğu elementin alınmasında ortaya çıkan bu düzensizlikleri tolere edebilmektedir (Alloway ve Ayres, 1993). Ağır metallerin toksik etkilerine dayanıklı olan bir bitki ya ağır metallerin hücreye alınımını sınırlamakta ya da hücreye giren ağır metalleri derhal detoksifiye etmektedir (Cumming ve Taylor, 1990). Ağır metallerin hücre içinde biriktirilmesi durumunda, metale bağlı olan şelatlama, metal alınımını sınırlanması ve çöktürme gibi yöntemlerle metallerin detoksifiye edilmeleri gerekmektedir (Brooks ve ark., 1981).

Ayrıca algler ağır metal stresini bunların hücre içindeki konsantrasyonlarını çok düşük seviyede tutarak tolere edebilmektedir. Bunun mekanizmaları enerji harcayan akış pompaları, enzimatik detoksifikasyon, hücre içi metal bağlayıcı polimerlerin sentezlenmesi, çözünmeyen metal komplekslerinin oluşturularak çöktürülmesi gibi süreçleri içermektedir (Wood ve Wang, 1985). Bu savunma mekanizmalarının asıl amacı reaktif metallerin DNA ve proteinler gibi duyarlı moleküller üzerinde yapacağı olası toksik etkileri önlemektir. Hüresel ligandlar tarafından metallerin depolanması ökaryotik sucul organizmalardaki yüksek metal toleransını sağlayan en yaygın adaptasyon mekanizmalarından biridir (Mason ve Jenkins, 1995). Fitoşelatinler ve metallotioneinler en önemli hücre içi metal bağlayıcı peptidler olarak gösterilmektedir. Farklı metallere maruz kalan farklı alg türlerinde fitoşelatin ve metallotionein sentezi artmaktadır (Gekeler ve ark., 1988; Robinson, 1989). Fitoşelatinler gibi hüresel ligandlar bitki ve alglerde metallerin depolanmasında oldukça önemlidirler. Gerçekten de, hem tatlı su algleri (Pawlik-Skowronska, 2001) hem de deniz alglerindeki (Grill ve ark., 1985; Ahner ve Morel, 1995) artan ağır metal konsantrasyonlarına cevap olarak fitoşelatinlerin sentez hızının arttığı gözlenmiştir.

Metaller ökaryotik alg ve mavi-yeşil alglerin hücre içi metal-bağlayıcı proteinlerinde, polifosfat yapılarında (Zhang ve Majidi, 1994) ve bazı ökaryotik alglerin vakuollerinde (Garnham ve ark.,1992) akümüülasyon yoluyla detoksifiye edilmektedirler.

Aynı zamanda algler birçok çevresel stres faktörüne karşı antioksidan enzimlerini kullanmakta ve ağır metallerin zararlı etkilerini tolere edebilmektedirler (Smirnoff, 1993). Çevresel stres faktörü olan metallerin neden olduğu oksidatif strese karşı alg hücrelerinde cevap olarak süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon reduktaz (GR), askorbat peroksidaz (APOD), düşük molekül ağırlıklı karotenoidler ve glutatyon bulunmaktadır (Pinto ve ark. 2003). Yani antioksidan enzimler ve moleküller serbest radikalleri zararsız hale getirmektedir.

1.5. Serbest Radikaller (Oksidanlar)

Bir ya da daha fazla sayıda paylaşılmamış elektrona sahip element veya bileşiklere “serbest radikal” denir. Serbest radikallerdeki paylaşılmamış elektronlar, kararlı duruma geçmek için, kararlı halde bulunan bir bileşikten elektron alarak, bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürmektedir. Serbest radikallerin başlattığı bu zincirleme reaksiyonlar dizisi, antioksidan sistem tarafından durduruluncaya kadar devam etmektedir. Serbest radikaller etkilediği atomun görevini yapamamasına sebep olmaktadır. Sonuç olarak, etkilenen maddenin biyolojik önemine ve onun tamir edilip edilememesine bağlı olarak, kalıcı veya geçici etkiler göstermektedirler (Cross, 1987). Organizmada serbest radikaller hem metabolik faaliyetlerin bir yan ürünü olarak hem de stres faktörlerinin etkisi ile oluşmaktadır. Sebebi ne olursa olsun canlı hücrelerde oluşan en önemli serbest radikaller, süperoksid radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^-)’ dir. Oksidan ve mutajen özellikte olan bu serbest radikaller DNA, proteinler ve diğer makromoleküllerde tahribata, hatta hücrenin ölümüne neden olmaktadır (Kazanç, 1997). Ayrıca NADPH oksidaz gibi bazı enzimler düşük miktarlarda serbest radikal oluşumuna neden

olmaktadır (Wei ve Pang, 2005). Serbest radikaller organizmalarda oksidatif hasara sebep olarak, büyüme ve gelişmeyi olumsuz etkilemektedir (Anwasha ve ark., 2012).

Serbest radikaller organizmada üç mekanizma ile oluşturulmaktadır. Bunun ilk basamağını kovalent bağların homolitik olarak kırılması şeklinde gerçekleşir. Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olur ve kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalırsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma adı verilir. İkinci basamakta normal bir molekülün elektron kaybetmesi söz konusudur. Radikal özelliği olmayan bir molekülden gerçekleşen elektron kaybı sırasında bunun dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Örneğin askorbik asit ve glutatyon gibi hücresele antioksidanlar, serbest radikallere tek elektron verip radikalleri indirgerken, bu sefer de kendilerinin radikal formları oluşur. Bu sürecin üçüncü basamağını ise normal (kararlı) bir moleküle elektron transferi oluşturmaktadır. Radikal özelliği olmayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidin oluşumuna yol açar. Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi ile ilgili reaksiyonlar sonucu meydana gelirler (Hurst ve ark.1997; Mills ve ark.1998; Jornot ve ark.1998).

1.5.1. Serbest radikal türleri

1.5.1.1. Serbest oksijen radikalleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen günlük yaşamımız için önemli bir molekül olmasına rağmen serbest radikalleri oluşturması sebebiyle canlı metabolizmasına dolaylı olarak zarar vermektedir. Çünkü serbest radikaller hücre metabolizmasına zarar verebilecek reaksiyonları başlatmaktadır. Serbest radikaller, başta bitkiler olmak üzere pek çok fotosentetik canlı için hücresele zararın nedeni olarak gösterilmektedir (Cho vePark 2000; Cargnelutti ve ark., 2006; Chen ve ark., 2009). Normal şartlar altında oksijen

radikallerinin konsantrasyonu süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon reduktaz (GR) ve askorbat peroksidaz (APOD) gibi antioksidan enzimlerin sentezi veya aktivasyonları sonucu düşük seviyede kalmaktadır (Asada, 1994).

1.5.1.2. Süperoksid radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest süperoksid radikal anyonu meydana gelmektedir (Denklem 1.1). Süperoksid radikali, bazı oksidaz reaksiyonlarında ve elektron taşıma reaksiyonları sırasında oluşmaktadır. Süperoksid radikali, SOD ile katalizlenen enzimatik dismutasyon reaksiyonu ile detoksifiye edilmektedir (Halliwell ve ark., 1992).



1.5.1.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin, çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksid radikalinin bir elektron alması sonucu peroksit oluşmaktadır (Denklem 1.2). Peroksit molekülü iki hidrojen atomuyla birleşerek hidrojen peroksiti (H_2O_2) meydana getirmektedir. H_2O_2 membranlardan geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır. Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi, süperoksid radikalinin dismutasyonu ile olmaktadır (Halliwell ve ark., 1992).



1.5.1.4. Hidroksil radikali (OH^{\cdot})

Hidroksil radikali, hidrojen peroksidin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelmektedir (Denklem 1.3). Son derece reaktif bir oksidan moleküldür ve yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştığı yerde büyük hasarlara neden olmaktadır.

Tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına yol açmaktadır (Halliwell ve ark, 1992).



1.5.2. Serbest radikallerin etkileri

Mitokondrial, endoplazmik ve nükleer elektron taşınım sistemlerinde (sitokrom p450), peroksizomlarda, metabolik olaylar sırasında bol miktarda serbest radikal üretilmektedir. Araştırmacılar, insan vücudundaki her hücrenin günde ortalama 10,000 serbest radikalin hücumuna uğradığını belirtmektedirler. Eğer serbest radikaller detoksifiye edilmezse; hücre membranı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürme, membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellemek nükleik asite (DNA) etki ederek, DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirme gibi olaylara neden olabilmektedirler (Akkuş, 1995; Dünder ve Aslan, 2000).

1.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidan parametreler serbest radikal miktarının artması nedeniyle tetiklenen protein, lipid ve DNA hasarlarını engellemektedir (Romero ve ark., 2011). Çeşitli mekanizmalar sonucu ortaya çıkan serbest radikallere karşı canlı metabolizması doğal bir savunma sistemi oluşturmaktadır. Bu savunma mekanizmasını oluşturan bileşiklere “antioksidanlar” adı verilir. Antioksidanların serbest radikalleri etkisiz hale getirme yollarından ilki, süpürme etkisi olarak bilinir. Bu mekanizma serbest radikalleri daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirmektedir. Antioksidan enzimler ve makromoleküller bu yolla etki etmektedirler. Bu konuda etkili olan ikinci mekanizma söndürme etkisidir ve serbest radikallere bir hidrojen aktararak bunların detoksifiye edilmesini sağlar. Vitaminler, flavanoidler, timetazidin ve mannitol bu şekilde etki etmektedir. Onarma mekanizmasında ise serbest radikaller nedeniyle hasar görmüş olan biyomoleküller onarılır.

Antioksidanlar, endojen (doğal) ve eksojen (ilaçlar) kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi, enzimatik ve enzimatik olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin farklı kısımlarında bulunabilirler (Akkuş, 1995).

1.6.1. Endojen (doğal) antioksidanlar

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek veya ortadan kaldırmak için, alg hücreleri son derece kompleks enzimatik ve (süperoksid dismutazlar, katalazlar, peroksidazları) ve enzimatik olmayan (askorbik asit, glutatyon, karotenoidler ve α - tokoferol) bileşenlerden oluşan antioksidan savunma sistemine sahiptirler. Bu bileşenler redoks reaksiyonları için gerekli homeostasinin yeniden oluşturulmasını sağlarlar (Sharma, 2015).

1.6.2. Enzimatik bileşenler

Düzgün çalışan bir metabolizmada antioksidanlar, sitozoldaki organelleri oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır. Bu sistemin yetersiz kaldığı durumlarda ise doğal enzimler devreye girmektedirler. Süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPX) ve glutatyon redüktaz (GR) hücrelerde bulunan en önemli antioksidan enzimlerdir (Hilmi, 1994). SOD, süperoksid radikallerinden, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijen (O_2) oluşumunu sağlayan dismutasyon reaksiyonunu katalizlemektedir (Valentine ve ark., 1998). Ökaryotik fotosentetik organizmalarda SOD'un 3 izoformu bulunmaktadır. Cu/ZnSOD yüksek bitkilerin, bazı dinoflagellatların ve Charophyceae sınıfı yeşil alglerin tilakoid zarlarında ve sitozollerinde, MnSOD mitokondrilerde ve FeSOD kloroplastların stromasında lokalize olmuştur. FeSOD kloroplastlardaki, MnSOD ise mitokondrilerdeki en önemli süperoksid anyonu temizleyicisi olarak kabul edilmektedir (Asada, 1999). Prokaryotik organizmalar olan mavi yeşil alglerde ise SOD'un 4 izoformu bulunmaktadır. Bunlardan NiSOD az gelişmiş türlerde, FeSOD ve MnSOD daha ileri formlarda, NiSOD ya algde tek başına ya NiSOD ve FeSOD ikisi bir arada ya da FeSOD ve MnSOD ikisi bir arada olacak şekilde bulunmaktadır.

Mavi yeşil alglerde ise Cu/ZnSOD nadir olarak bulunmaktadır (Priya ve ark., 2007). KAT, hidrojen peroksitten su (H₂O) ve oksijen (O₂) oluşturan reaksiyonu katalizlemektedir (Zamocky ve ark., 2008). Glutasyon redüktaz ise glutasyon peroksidaz vasıtasıyla hidrojen peroksidin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonu (GSSG), NADPH kullanılarak tekrar indirgenmiş glutatona (GSH) dönüştürmektedir (Urso ve Clarkson, 2003). Birçok çevresel stres faktörünün serbest radikal üretimini tetiklediği ve oksidatif strese neden olduğu iyi bilinmektedir (Smirnoff, 1993). Antioksidan enzimler serbest radikalleri detoksifiye ederek bunların hücre membranında lipid peroksidasyonuna neden olmasını engellemektedirler. Bununla birlikte enzimler ya da diğer antioksidan moleküller tarafından detoksifiye edilemeyen serbest radikaller hücre membranındaki lipidleri etkileyerek lipid peroksidasyonunu başlatmaktadırlar. Lipid peroksidasyonu, membranlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur ve sonuçta ortaya çıkan biyoaktif aldehitler hücre hasarına neden olmaktadır (Benzer ve Ozan, 2003). Malondialdahit (MDA), lipid peroksidasyonunda son üründür ve oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılmaktadır (Urso ve Clarkson, 2003).

1.6.3. Enzimatik olmayan bileşenler

- a) Lipid fazda bulunanlar: α - tokoferol (E vitamini) ve β - karoten.
- b) Sıvı fazda (hücre sitozolünde) bulunanlar: Askorbik asit ve Glutasyon.

1.7. *Arthrospira platensis*

Arthrospira platensis, mavi-yeşil algler olarak tanımlanan Cyanobacteria filumunda yer almaktadır. Silindirik hücrelerden oluşan ipliksi yapıda, gaz vakuolleri içeren prokaryotik bir mikroalgdir (Richmond, 1986). Işık mikroskobu altında, tek düzlemde ikili bölünmeye uğrayan vejetatif hücrelerden oluşan mavi-yeşil heterosistsiz filamentleri ayıran çeperler kolayca görülmektedir. Filamentlerin genişliği 6-12 μm , uzunluğu 200-300 μm , heliks çapı ise 30-70 μm arasında

değişmektedir. Hücre duvarının yapısında peptidoglikan mevcuttur ve bu nedenle bakterilere benzemektedir. Elektron mikroskobu ile gözlenen hücresel organizasyonunda morfolojik olarak sınırlanmış bir nukleus ve plastid mevcut değildir ve dışta gram negatif tipte bir zara sahiptir. Zarın kalınlığı yaklaşık 0.5 mikrometredir ve lifli ağa benzeyen bir yapısı bulunmaktadır. Protein, mineral, vitamin B12, β -karoten ve γ -linoleik asit gibi esansiyel yağ asitleri bakımından oldukça zengindir (Belay ve ark., 1993). *A. platensis*, klorofil tipleri arasında sadece klorofil-*a*' ya sahiptir. Ayrıca hepsinde ışık enerjisinin absorblanmasında ve fotosentez olayında rol oynayan karakteristik biliprotein pigmentleri olan, fikobilinler mevcuttur. Fikobilinlerin bir sınıfı olan fikosiyeninler, mavi renklidir ve klorofil-*a* ile birlikte alge mavi-yeşil rengini vermekteler (Manav, 2004). *A. platensis* hızla büyüeyebilen özellikte bir mikroalgdir.

Her ne kadar günümüzde yaygın olarak *Spirulina platensis* Geitler 1925 olarak kullanılsa da, bu isim bu türün bilimsel kabul gören ismi *A. platensis* (Nordst.) Gomont 1892' nin sinonimidir (Vonshak, 1997).

A. platensis yüksek karbonat ve bikarbonat ve yüksek pH ile karakterize edilen tropik ve subtropik sularda yaşamaktadır (Busson, 1971, Guérin-Dumartrait ve Moyse, 1976). *A. platensis* Afrika'da dağılım gösterdiği kadar Asya ve Güney Amerika'da da yayılış göstermektedir (Vonshak 1997). *Arthrospira* türlerinin Türkiye florasında bulunduğu rapor edilmiştir (Aysel, 2005). Türkiye, iklim koşulları bakımından *Arthrospira* kültürü için elverişli koşullara sahiptir (Conk-Dalay, 1997).

Zengin besin içeriği ile *A. platensis* 1990'lı yılların süper besini olarak tanımlanmış ve yüksek ticari değeri nedeniyle üzerinde yapılan araştırmaların yoğunluğu oldukça fazladır (Richmond, 1986; Fox, 1996).

1.8. Kaynak Özetleri

Tetraselmis gracilis ve *Ditylum brightwellii* alglerine uygulanan Cd'nin SOD aktivitesini artırdığı bildirilmiştir (Rijstenbil ve ark.,1994; Okamoto ve ark., 1996).

Nagalakshmi ve Prasad (2001), farklı bakır konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları *Scenedesmus bijugatus*'da APOD, SOD, GPX aktivitelerinde artış olmasına rağmen, hücrenin GSH içeriğinde kademeli olarak azalma olduğunu gözlemlemişlerdir.

Okomoto ve ark. (2001), denizel bir dinoflagellat olan *Lingulodinium polyedrum*'da SOD izoformlarında meydana gelen değişimleri incelemişler ve MnSOD ile FeSOD aktivitesinde artış olduğunu, CuZnSOD aktivitesinde dikkat çekecek derecede değişim olmadığını gözlemlemişlerdir.

Bir yeşil alg olan *Pavlova viridis*'de farklı konsantrasyonlardaki bakır uygulamalarının SOD ve KAT enzimlerinin aktivitelerini uyardığını bulmuşlardır (Li ve ark., 2006).

Wu ve ark. (2008), *Ulva fasciata*'da kadmiyum uygulamalarının antioksidan sistem üzerindeki etkilerini araştırmışlar; kadmiyum konsantrasyonunun artışına bağlı olarak GSH ile GSSG miktarlarının azaldığını, APOD ve KAT aktivitelerinin ise arttığını gözlemlemişlerdir.

Yapılan bir araştırmada *Chlamydomonas reinhardtii*'de civanın neden olduğu oksidatif stres ve antioksidan enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimler araştırılmış; civanın serbest radikal oluşum hızıyla birlikte, KAT ve APOD aktivitelerini de artırdığı rapor edilmiştir (Elbaz ve ark., 2010).

Srivastava ve ark. (2005), yaptıkları bir araştırmada farklı bakır konsantrasyonlarının *A. doliolum*'da oksidatif strese yol açtığını ve antioksidan savunma sisteminde değişikliklere yol açtığını ortaya koymuşlardır. Benzer sonuçlar *Chlamydomonas reinhardtii* ile yapılan bir çalışmada da ortaya çıkarılmıştır (Siripornadulsil ve ark., 2002).

Devez ve ark. (2005), bakırın *Scenedesmus obliquus* üzerindeki etkilerini incelemişler ve sonuçta KAT aktivitesinde önemli bir değişimin olmadığını, APOD

aktivitesinde artış olmasına rağmen belli konsantrasyonlarda sabitleştiğini ve GR aktivitesinde artış olduğunu gözlemlemişlerdir.

Wong ve Chang (1991), farklı dozlarda Cu, Cr ve Ni uyguladıkları *Chlorella pyrenoidosa*' da büyüme, fotosentetik aktivite ve klorofil-*a* sentezi gibi parametrelerde meydana gelen değişimleri incelemiş ve sonuçta bu ağır metalleri toksisite derecesine göre Cu > Cr > Ni şeklinde sıralamışlardır.

Mehta ve Gaur (1999), *Chlorella vulgaris* ile yaptıkları bir çalışmada yüksek konsantrasyonda uygulanan bakırın intraselüler olarak biriktirildiğini ve artan metal birikimi ile alg hücrelerindeki intraselüler prolin miktarının da arttığını belirlemişlerdir.

Mamboya (2001), kahverengi bir makroalg olan *Padina boegesenni* ile yaptığı bir çalışmada artan bakır konsantrasyonlarına paralel olarak algin gelişiminde önemli bir düşüş gözlemiştir.

Surosz ve Palinska (2004), *Anabaena flosaquae* ile yaptıkları bir çalışmada 0.35 mg mL⁻¹ bakır uygulanmasının algin gelişimini yavaşlattığını ve artan bakır konsantrasyonu ile algin klorofil-*a* miktarının azaldığını belirlemişlerdir.

Xylander ve Braune (1994), *Haematococcus* sp.'ye uygulanan yüksek nikel konsantrasyonlarının protein ile karbonhidrat içeriğini azalttığını bulmuşlardır.

Pempkowiak ve Kosakowska (1998), *Chlorella vulgaris* üzerinde yaptıkları bir çalışmada kadmiyumun bu alg üzerinde birikimini incelemişler ve hücre sayısı ve biyokütledeki kadmiyum miktarlarını analiz etmişlerdir.

Gensemer (1991), pH değeri 6 olan büyüme ortamında 15 µM'lık alüminyum konsantrasyonunun *Asterionella ralfsii* var. *americana*' da büyüme oranını azalttığını belirtmiştir.

Pettersson ve ark. (1985), *Anabaena cylindrica*'da pH değeri 6 olan bir ortamda 3.7 μM 'lık alüminyum uygulamasının büyüme ve nitrogenaz aktivitesinin inhibe ettiğini, aynı pH değerinde 180 μM 'lık alüminyum konsantrasyonunun 120 saat sonra büyümeyi % 50 oranında azalttığını rapor etmişlerdir.

Pillsbury ve Kingston (1990) tatlı su fitoplanktonu üzerine yaptıkları bir çalışmada pH değeri 5.7 olan bir ortamda 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ alüminyum konsantrasyonunun hücre yoğunluğunu azaltmaya başladığını belirtmişlerdir.

De Jong ve ark. (1994) *Cystoseira barbata*'da 50 ve 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ konsantrasyonlarındaki inorganik cıvanın (HgCl_2) toksisitesine algin direnç gösterdiğini, fakat 5 ve 15 $\mu\text{g L}^{-1}$ metil cıvanın (CH_3HgCl) inorganik cıvadan çok daha yüksek toksik etki gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Qian ve ark. (2009), *Chlorella vulgaris* üzerine bakır ile kadmiyum metallerini uygulamışlar ve sonuçta klorofil-*a* değişiminin gözlenmesine rağmen önemli derecede olmadığı belirtmişlerdir.

Irmer ve ark. (1986), yaptıkları çalışmada Pb uyguladıkları *Chlamydomonas reinhardtii*'de fotosentetik oksijen evölüsyonu, klorofil miktarı, kuru ağırlık ve Pb birikimini incelemişlerdir. Sonuçta 3 saat süreyle 1 M Pb uygulamasının fotosentez hızında belirgin azalmalara neden olduğunu belirtmişlerdir.

Cvetkovic ve ark. (1991), *Selenastrum capricornutum*'da 0.5 mg L^{-1} 'den daha yüksek Cu konsantrasyonlarının 96 saatten sonra fotosentezle ilişkili olan biyokimyasal ve fizyolojik prosesleri geri dönüşümsüz olarak inhibe ettiğini gözlemişlerdir.

Ralph ve Burchett (1998), dört ağır metalin (Pb, Zn, Cu, Cd) etkisi altında laboratuvar koşullarında *Halophila ovalis*'deki fotosentetik yanıtları incelemişlerdir. Sonuçlar açıkça, klorofil-*a* miktarında görülen değişimlerin ağır metal stresinin belirlenmesinde etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca 1-10 mgL^{-1} aralığındaki ağır metal konsantrasyonları bazı akut toksik yanıtlara neden olmuştur. Fotosentez

üzerine ağır metallerin etkileri karşılaştırıldığında Cu ve Zn'nin, Pb ve Cd'ye oranla daha büyük inhibisyona neden olduğu görülmüştür. Bazı istisnalar hariç fotosentetik pigment içeriği genellikle klorofil-*a* floresans ölçümlerinden elde edilen sonuçları doğrulamıştır.

Corradi ve ark. (1998), Cr(VI)'nın Cr'ye toleranslı ırk olan *Scenedesmus acutus*'a etkileri ile ilgili çalışmalarında, kromun alglerde büyümeyi inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir.

Li ve ark. (2005), *Pavlova viridis* algi üzerinde çinko ve bakır metallerinin klorofil-*a*, büyüme hızı, antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA miktarı üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çinko ve bakırın artan konsantrasyonlarında hücre yoğunluğu, klorofil-*a* ve protein miktarlarında azalmalar gözlenmiştir. MDA miktarı ve SOD aktivitesinde her iki metalin artan konsantrasyonlarına bağlı olarak artış gözlenmiştir. KAT ve GPX aktivitesinde bakır ve çinko konsantrasyonlarında düzensiz değişimler görülmesine rağmen, en yüksek konsantrasyonda kontrol grubuna göre artış gözlenmiştir. GPX aktivitesinde bakır konsantrasyonlarında artış gözlenirken, çinko konsantrasyonlarında önemli derecede azalmalar gözlenmiştir.

Soto ve ark. (2011), *Pseudokirchneriella subcapitata* algi üzerinde bakır ve çinkonun biyokütle, klorofil-*a*, MDA miktarı ve KAT aktivitesi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Sonuçta her iki ağır metalin artan konsantrasyonları klorofil-*a* ve biyokütle miktarını azaltırken, MDA miktarı ve KAT aktivitesinde artışa neden olmuştur.

Tripathi ve ark. (2005), *Scenedesmus* sp.'de bakır ve çinko ağır metallerinin SOD, KAT, APOD ve GR aktiviteleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. İki metalin de artan konsantrasyonlarına bağlı olarak tüm enzimlerin aktivitelerinde azalma görülmüştür.

Sabatini ve ark. (2008), *Scenedesmus vacuolatus* ve *Chlorella kesleri*'de bakır elementinin etkisini incelemişler; biyokütle, KAT aktivitesi, klorofil-*a*, MDA ve

GSH miktarları belirlenmiştir. Sonuçta biyokütle ve klorofil-*a* miktarında azalma, MDA ve GSH miktarlarında ve KAT aktivitesinde artış görülmüştür.

Morelli ve ark. (2004), *Phaeodactylum tricornutum*'daki bakır uygulamalarının SOD, KAT ve GR aktivitelerinde artışa, APOD aktivitesinde ise azalmaya neden olduğu görülmüştür.

Choudhary ve ark. (2007), *A. platensis* S5 suşu üzerinde bakır, çinko ve kurşun metallerinin etkilerini incelemişlerdir. Sonuçta metal konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak algin gelişiminde azalma görülmüştür. Ayrıca SOD aktivitesi ile prolin ve MDA miktarlarında görülen değişimlere göre, metal konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olarak kullandıkları suşun metal stresine karşı toleransının yüksek olduğunu ve MDA artışı sonucunda serbest radikallerin oluştuğunu belirlemişlerdir.

Desai ve Sivakami (2006), *A. platensis* algi üzerinde yaptıkları SOD aktivitesi ve karakterizasyonu ile ilgili bir çalışmada, SOD aktivitesinde artış gözlemlemişlerdir.

Cao ve ark. (2011), Mn uyguladıkları *Amphidinium* sp.'de büyüme oranı ve SOD aktivitesi gibi parametrelere bakmışlardır. Mn konsantrasyonu arttıkça büyüme oranında önce artış daha sonra azalma, SOD aktivitesinde ise azalma olduğunu gözlemlemişlerdir.

Elbaz ve ark. (2010), cıvanın *Chlamydomonas reinhardtii* üzerindeki etkileri hakkında yaptıkları bir araştırmada, Hg konsantrasyonu arttıkça hücre sayısında ve klorofil miktarında azalma; SOD ve APOD aktivitelerinde ise önce artış, sonra azalma olduğunu gözlemlemişlerdir.

Kumar ve ark. (2010), 4 gün boyunca 0.4 mM'lık CdCl₂ uygulamalarının *Ulva lactuca*'da SOD, GR ve APOD aktivitelerinde kontrole göre artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

Liu ve ark. (2010), *Grateloupia turuturu* ve *Palmaria palmata* algleriyle yaptıkları çalışmada, CdCl₂ stresinin SOD aktivitesini *P. palmata*' da daha fazla artırdığını, GR aktivitesinin ise azalttığını gözlemlemişlerdir.

Melegari ve ark. (2013), *Chlamydomonas reinhardtii*'ye Cu uygulamışlar; sonuçta konsantrasyonların artışına bağlı olarak APOD ve GR aktivitelerinde artış olduğunu gözlemlemişlerdir.

Piotrowska ve ark. (2012), *Chlorella vulgaris*'e 100 µM konsantrasyonunda üç farklı ağır metal (Cd, Pb, Cu) uygulamışlar ve antioksidan sistemin aktivite kazanması konusunda en çok etkiyi gösteren ağır metali belirlemişlerdir. Sonuçta Cd'nin klorofil-*a* ve askorbat miktarındaki azalma, Cd ve Pb'nin glutatyon miktarındaki azalma üzerinde en etkili metaller olduğu belirlenmiştir. SOD aktivitesi ise tüm uygulamalarda artış göstermiştir.

Piotrowska ve ark. (2013), *C. vulgaris* algi üzerine IAA (indol 3-asetik asit), IBA (indol 3-bütirik asit), PAA (fenil asetik asit) ve NAA (1-naftalen asetik asit) eklemesi yaparak 24, 48, 72. saatlerde antioksidan parametrelerin aktifliğini incelemişlerdir. Sonuçta üç saat aralığında da klorofil-*a* miktarında artış, askorbat ve glutatyon miktarları ile SOD ve APOD aktifliğinde önce artış (48. saat) sonra düşüş (72. saat) olduğunu gözlemlemişlerdir.

Qian ve ark. (2010), *M. aeruginosa*'ya CuSO₄ ve H₂O₂ uygulamışlar ve farklı parametrelerin 48 ve 96. saatlerdeki değişimini incelemişlerdir. Sonuçta klorofil-*a* değişiminin CuSO₄ etkisi ile önce arttığını (48. saat) sonra azaldığını; H₂O₂ etkisi ile giderek arttığını gözlemlemişlerdir. SOD aktivitesi ise CuSO₄ ve H₂O₂ uygulaması ile sürekli artış göstermiş ancak 96. saatteki artışın 48. saatteki artışa göre daha az olduğu belirlenmiştir.

Rai ve ark. (2013), Cr (IV) uygulamalarının *C. vulgaris*'deki etkilerini incelemişlerdir. Cr (IV) ağır metalinin artan konsantrasyonlarında biyokütle miktarının azaldığını gözlemlemişlerdir. SOD aktivitesi incelendiğinde önce artış

görülmüş, konsantrasyon arttıkça aktivitede düşüş görülmüştür. APOD aktivitesi ise önce azalmış sonra artmıştır, ancak yüksek konsantrasyonlarda aktivitenin düştüğü görülmüştür.

Chien ve Vonshak (2010), *A. platensis* algine yüksek sıcaklık uygulamışlar ve sıcaklık 33 °C'den 15 °C'ye düşükçe klorofil-*a* miktarında artış, KAT miktarında önce artış daha sonra azalma, SOD ile APOD miktarlarında ise artış gözlemlenmiştir.

Nalimova ve ark. (2005), bakır ve çinko metallerinin *A. platensis*'in gelişimi üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve sonuçta *A. platensis*'in ağır metallere toleransının kültür gelişim fazına bağlı olduğunu gözlemlenmiştir.

Yılmaz ve ark. (2006), farklı Na₂SeO₃ (sodyum selenit) içeren ortamlarda kültüre alınan *A. platensis*'in gelişimini belirlemeye çalışmışlardır. *A. platensis*'in gelişimini takip etmek için belirlenen parametrelerden pH, klorofil-*a* ve yaş madde miktarları bakımından, kontrol grubu ile farklı konsantrasyonlarda selenyumun içeren ortamlar karşılaştırıldığında, aralarındaki farkın önemli olmadığını belirlemişlerdir.

Solisio ve ark. (2008), farklı konsantrasyonlarda kadmiyum uygulanan *A. platensis* alginde kadmiyum absorpsiyonunun, biyokütle miktarına göre değişiklik gösterdiğini saptamışlardır.

Pronina ve ark. (2002), Na₂SeO₃ (sodyum selenit) gerçekleştirilen selenyum uygulamalarının *A. platensis*'in gelişimi üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve 20 mg L⁻¹'lik konsantrasyonun altındaki sodyum selenit uygulamalarının *A. platensis*'in büyümesini engellemediğini bildirmişlerdir.

Bajuz (2010), *C. vulgaris*'de kadmiyum (Cd), kurşun (Pb) ve bakır (Cu) ağır metalleri ile bitkisel bir hormon olan brassinolid (BL) uygulamalarının antioksidan enzim aktiviteleri üzerindeki etkilerini araştırmıştır. BL ve ağır metal uygulanan algelerde 24 saat sonra oksidatif hasarın neden olduğu hücresel hasarların onarılmaya

başladığını ve hücre sayısında artış olduğunu; ayrıca ağır metal uygulanan örneklerde konsantrasyonların artışıyla hücre sayısında azalma olduğunu gözlemlemiştir.

1.9. Çalışmanın Amacı

Bu bilgiler ışığında çalışmamızın amacı, çinko, civa ve kalay ağır metallerine maruz bırakılan *A. platensis* alginde meydana gelen bazı metabolik değişimlerin farklı parametreler yardımıyla incelenmesidir. Bu amaçla *A. platensis* laboratuvar koşullarında mid eksponensiyel faza kadar yetiştirildikten sonra 7 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda ağır metallerle maruz bırakılmıştır. Böylece ağır metal türüne ve konsantrasyonuna bağlı olarak canlının klorofil-*a* miktarında, biyokütlesinde ve antioksidan parametrelerindeki [süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR) ve askorbat peroksidaz (APOD)] değişimleri incelenmiştir. Uzun vadede bu çalışmanın, sucul ekosistem üzerine metal stresinin olası etkisinin belirlenmesi için yapılan ekotoksikoloji çalışmalarına katkıda bulunması amaçlanmaktadır.

BÖLÜM 2. MATERYAL VE METOD

2.1. Çalışma Materyali

Çalışmada kullanılan *Arthrospira platensis* M2 (SLSP01) suşu Soley Microalg Enstitüsü'nden (California, USA) temin edilmiş, Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Bitki Fizyolojisi ve Alg Ekolojisi laboratuvarında aksenik koşullarda çoğaltılmıştır.

2.2. Kullanılan Cihazlar

Çalışma süresince kullanılan cihazlar Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Kullanılan cihazlar

Cihaz	İşlev	Marka
Spektrofotometre	Absorbans ölçümü	Schimadzu UV mini 1240 UV
İklim kabini (0-50 °C, 0-7000 lux)	Alg kültür ortamı	Dev/Pet
Isıtıcı manyetik karıştırıcı	Solüsyon hazırlanması	Dragon med M 10068
Soğutuculu mikrosantrifüj	Süpernatant eldesi	Centurion scientific K3
Buzdolabı (no frost)	Numunelerin saklanması	Beko
Mikropipet takımı	Enzim analizleri	Eppendorf (100-1000 µL)
Mikropipet takımı	Enzim analizleri	Eppendorf (10-100 µL)
Mikropipet takımı	Solüsyon hazırlanması	Isolab (1 mL)
Hassas terazi	Tartım	Schimadzu SLB 320
pH metre	pH ölçümleri	Metler toledo
Otoklav	Sterilizasyon	Alp
Ettiv	Sterilizasyon	Nüve

2.3. Yöntem

2.3.1. Hücre kültürünün hazırlanması

A. platensis M2 (SLYSP01) suşu *Spirulina* Medium (Aiba ve Ogawa, 1977) ortamında aksenik şartlarda yetiştirilmiştir (Tablo 2.2. ve Tablo 2.3.). 250 mL'lik erlenlerde steril olarak hazırlanmış 180 mL' lik kültür besiyerine 20 mL alg kültürü inokule edilerek iklimlendirme kabininde 30 °C sıcaklıkta, full spektrum lambaların kullanıldığı 5000 lux ışık şiddetinde (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık), günde 3 defa çalkalanmak şartı ile 10 gün bekleme bırakılmıştır.

Tablo 2.2. *Spirulina* Medium İçeriği (Aiba ve Ogawa, 1977)

Solüsyon (SL)	Hacim (mL)	Bileşik	SL Konsantrasyonu
SL – A	500 mL	NaHCO ₃	13.61 g 500 mL ⁻¹
		Na ₂ CO ₃	4.03 g 500 mL ⁻¹
		K ₂ HPO ₄	0.50 g 500 mL ⁻¹
		NaNO ₃	2.50 g 500 mL ⁻¹
SL – B	500 mL	K ₂ SO ₄	1.00 g 500 mL ⁻¹
		NaCl	1.00 g 500 mL ⁻¹
		MgSO ₄ .7H ₂ O	0.20 g 500 mL ⁻¹
		FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g 500 mL ⁻¹
		EDTA	0.08 g 500 mL ⁻¹
		Mikrobesin tuzu	5.0 mL 500 mL ⁻¹

Tablo 2.3. Mikrobesin tuzlarının içeriği

Solüsyon (SL)	Bileşik	Miktar
SL- 1	Distile su	881 mL
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1 mL
	MnSO ₄ .4H ₂ O	2 mL
	H ₃ BO ₃	5 mL
	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	5 mL
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	5 mL
	CuSO ₄ .5H ₂ O	1 mL
	EDTA	0.4 g
SL- 2	FeSO ₄ .7H ₂ O	0.7 g
	EDTA	0.4 g
	Distile su	100 mL

2.3.2. Uygulanan ağır metal çözeltileri

Çalışmada çinko, civa ve kalay ağır metallerinin stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden belirli konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Bu konsantrasyonlar Tablo 2.4.'de verilmiştir.

Tablo 2.4. *Arthrospira platensis*'e uygulanan çinko, civa ve kalay konsantrasyonları

ZnCl ₂	SnCl ₂	HgCl ₂
2 µg mL ⁻¹	50 µg mL ⁻¹	0.04 µg mL ⁻¹
4 µg mL ⁻¹	100 µg mL ⁻¹	0.08 µg mL ⁻¹
8 µg mL ⁻¹	250 µg mL ⁻¹	0.16 µg mL ⁻¹
12 µg mL ⁻¹	500 µg mL ⁻¹	
16 µg mL ⁻¹	1000 µg mL ⁻¹	

2.3.3. Deney ortamı ve düzeneği

Stres çözeltileri uygulanmadan önce 250 mL *A. platensis* kültürü hazırlanmış ve 10 gün boyunca ortama adaptasyon için iklimlendirme dolabında belirtilen şartlarda bekletilmiştir. Kültürler 10 günün sonunda klorofil-*a* miktarı 1 µg mL⁻¹ ve kullanılacak kültür miktarı 50 mL olacak şekilde tazelenmiştir.

Belirlenen derişimlerde çinko, civa ve kalay çözeltileri hazırlanmış ve taze kültürlere uygulanmıştır. Ortamın pH' sı 9 olarak ayarlanmıştır. Deney üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Deney süresi boyunca *A. platensis*' in fotosentetik pigment (klorofil-*a*) ve optik yoğunluk (OD) miktarındaki değişim hergün ölçülerek kayıt edilmiştir. 7 gün boyunca takip edilen kültürlere deneyin son günü homojenizasyon yapılmış ve elde edilen homojenatlar -20 °C'de saklanarak Süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR) ve askorbat peroksidaz (APOD) enzim deneyleri için kullanılmıştır.

2.4. Ölçüm ve Analizler

2.4.1. Optik yoğunluğun (OD) ve büyüme oranının belirlenmesi

Mikroalgin optik yoğunluğu (OD) ve büyüme oranı 560 nm ve 750 nm’de spektrofotometrede absorbans ölçülerek bulunmuştur. Ölçümlerde 1/10 oranında *Spirulina* besiyeri ile seyreltme yapılmıştır (100 µL kültür, 900 µL *Spirulina* besiyeri). Ölçümler sırasında kör solüsyonu olarak *Spirulina* besiyeri kullanılmıştır. Her ölçüm 7 gün boyunca takip edilmiştir. Böylelikle büyüme oranı hesaplanmıştır.

2.4.2. Biyokütle miktarının belirlenmesi

Xue ve ark. (2001) tarafından kullanılan yöntemle göre OD₅₆₀ sonuçları kullanılarak biyokütle hesaplanmıştır (Denklem 2.1)

$$CDW=0.672*OD_{560}+0.028 \quad (2.1)$$

OD: Optik yoğunluk

CDW: Kuru ağırlık

2.4.3. Fotosentetik pigment analizi (klorofil-a)

Klorofil-a ölçümlerinde 1/10 oranında saf metanolla örnekler seyreltilmiştir (100 µL kültür, 900 µL saf metanol). 1 dakika vorteksleme işleminden sonra 2 dakika 13.800 rpm ve +4 °C’ de mikrosantrifüj ile santrifürlenerek 665 nm’de spektrofotometrede okutulmuştur. Ölçümler sırasında kör solüsyonu olarak saf metanol kullanılmıştır (Mackinney, 1941).

2.4.4. Toplam çözümlü protein analizi

Toplam protein aktivitesi Bradford (1976)’ ya göre belirlenmiştir. Protein analizleri SOD, GR ve APOD analizleri için ayrı ayrı yapılmıştır. Son hacim 5.5 mL olacak şekilde 0.031 M Sitrat-Fosfat tamponu (pH 5.5), süpernatant ve % 0.01’lik

Coomassie Brilliant Blue G-250 ile reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Deney tüpleri önce vortex ile 10-15 sn süreyle karıştırılmış, daha sonra 30 dk karanlık ortama maruz bırakılmıştır. Protein miktarı spektrofotometrede 595 nm’de elde edilen absorbans değerleri ve BSA (bovine serum albumin) ile hazırlanan standart grafik yardımıyla hesaplanmıştır.

2.4.5. Toplam süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesi

Toplam SOD aktivitesi Beyer ve Fridovich (1987)’ ye göre belirlenmiştir. 2 mL kültür alınarak 14.000 rpm ve + 4 °C’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış ve kalan pellet homojenizasyon için kullanılmıştır. Yaklaşık 0.2 g pellet 100 mM potasyum fosfat (pH 7.0), % 2’lik PVP (polivinil pirolidon) ve 1 mM sodyum EDTA (Na₂EDTA) içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. 14.000 rpm ve + 4 °C’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 1030 µL olacak şekilde 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.8), 9.9x10⁻³ M metionin, 5.7x10⁻⁵ M NBT (nitroblue tetrazolyum), % 1’lik triton X100 ve enzim karışımından oluşan bir reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon 0.9 µM riboflavin ilavesi ile başlatılmış, bu karışım 15 dakika boyunca 375 µmol m⁻² s⁻¹ şiddetinde ışığa maruz bırakıldıktan sonra 560 nm’de spektrofotometrede absorbans değerleri belirlenmiştir. Toplam SOD aktivitesi daha önce hazırlanmış olan standart grafikten faydalanarak hesaplanmıştır (U mg protein⁻¹).

2.4.6. Toplam glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi

Toplam GR aktivitesi Sgherri ve ark. (1994)’a göre belirlenmiştir. 2 mL kültür alınarak 14.000 rpm ve + 4 °C’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış ve kalan pellet homojenizasyon için kullanılmıştır. Yaklaşık 0.2 g pellet 100 mM potasyum fosfat (pH 7.0), % 2’ lik PVP (polivinil pirolidon) ve 1 mM sodyum EDTA (Na₂EDTA) içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. 14.000 rpm ve + 4 °C’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 1000 µL olacak şekilde 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.8), 2 mM sodyum EDTA (Na₂EDTA), 0.5 mM okside glutatyon (GSSG), 0.2 mM nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH)

ve 100 µg protein içeren enzim karışımından oluşan reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon, NADPH'nin eklenmesiyle başlatılmıştır. Enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak 320 nm'de elde edilen absorbans değerleri ile ölçülmüştür. Düzeltme, NADPH yokluğunda GSSG oksidasyonu ile yapılmıştır. Enzim aktivitesi, NADPH' nin ekstinksiyon katsayısı ($6.2 \text{ mM cm}^{-1} 340 \text{ nm}^{-1}$) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır ($\text{nmol NADPH dakika}^{-1}\text{mg protein}^{-1}$).

2.4.7. Toplam askorbat peroksidaz (APOD) aktivitesi

Toplam APOD aktivitesi Wang ve ark. (1991)'e göre belirlenmiştir. 2 mL kültür alınarak 14.000 rpm ve + 4 °C'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış ve kalan pellet homojenizasyon için kullanılmıştır. Yaklaşık 0.2 g pellet mM Tris-HCl (pH 7.2), % 2'lik PVP, 1 mM sodyum EDTA (Na_2EDTA) ve 2 mM askorbat içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat 14.000 rpm ve + 4 °C'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Son hacim 1000 µL olacak şekilde 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 6.6), 2.5 mM askorbat, 10 mM hidrojen peroksit (H_2O_2) ve 100 µg protein içeren enzim karışımından oluşan reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon, H_2O_2 'nin eklenmesiyle başlatılmıştır. Askorbat konsantrasyonundaki azalma, spektrofotometrede 290 nm'de yapılan okumalarla enzim özütü içermeyen reaksiyon çözeltisine karşılık kaydedilmiştir. Enzim aktivitesi, askorbatın ekstinksiyon katsayısı ($2.8 \text{ mM cm}^{-1} 290 \text{ nm}^{-1}$) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır ($\text{nmol askorbat dakika}^{-1}\text{mg protein}^{-1}$).

2.4.8. İstatistiksel analizler

Ölçümlerden elde edilen verilere, SPSS paket programı kullanılarak, istatistiki tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve değişkenler arasındaki farklılığın belirlenmesi için Tukey testi kullanılmıştır. Her bir bağımsız değişken için uygulama ve çeşitler arasındaki farkın önem kontrolü Anlamlı Önemli Fark (AÖF) % 5 düzeyinde hesaplanmıştır.

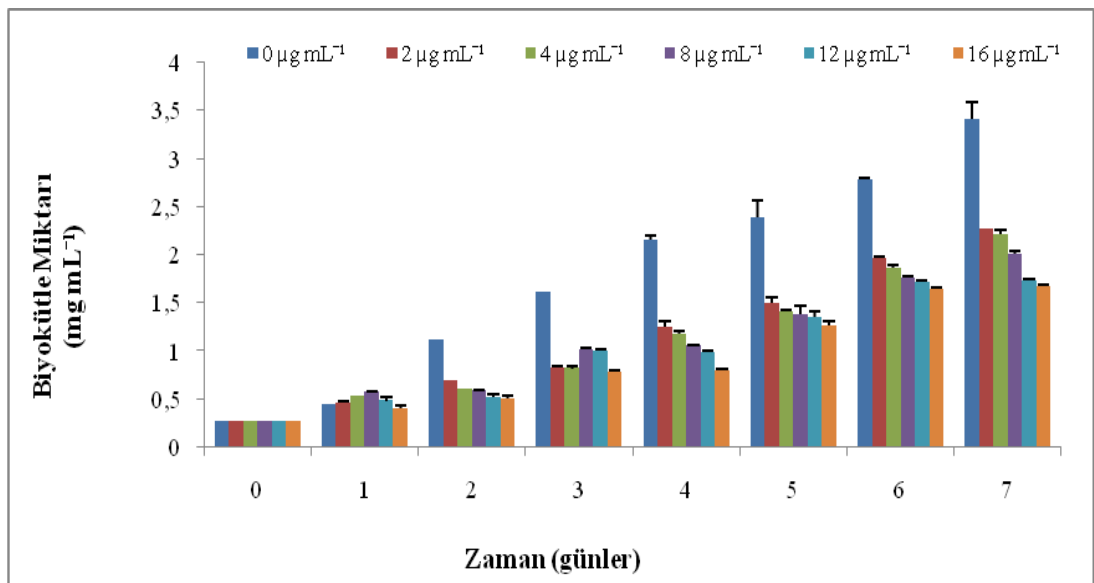
BÖLÜM 3. BULGULAR

3.1. Biyokütle

A. platensis'e uygulanan farklı konsantrasyonlardaki çinko, kalay ve civa ağır metallerinin biyokütleyle olan etkisi Şekil 3.1., Şekil 3.2. ve Şekil 3.3.'de verilmiştir.

Çinko uygulanan örneklerde EC50 değeri $8.19 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

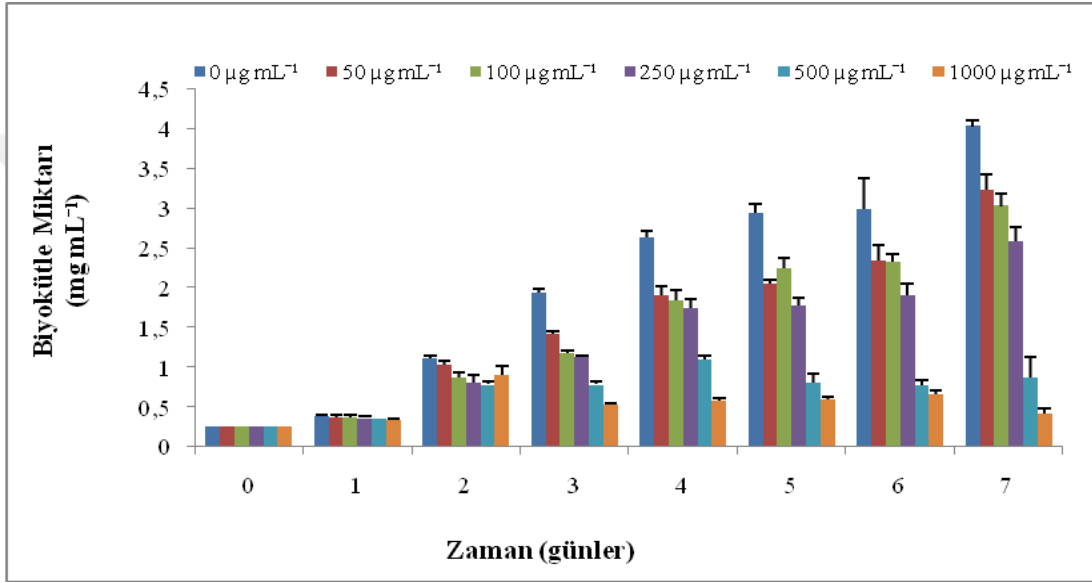
Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, çinko etkisine maruz bırakılan *A. platensis*'in artan çinko konsantrasyonlarına bağlı olarak biyokütle miktarlarında kontrole göre önemli bir düşüş olduğu tespit edilmiştir. ($p < 0.05$). Konsantrasyonlar arasında biyokütle miktarındaki en fazla düşüşün $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ 'lik Zn uygulamasında meydana geldiği belirlenmiştir.



Şekil 3.1. *A. platensis*'in çinko konsantrasyonlarına bağlı biyokütledeki günlük değişim

Kalay uygulanan örneklerde EC50 değeri $345.57 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

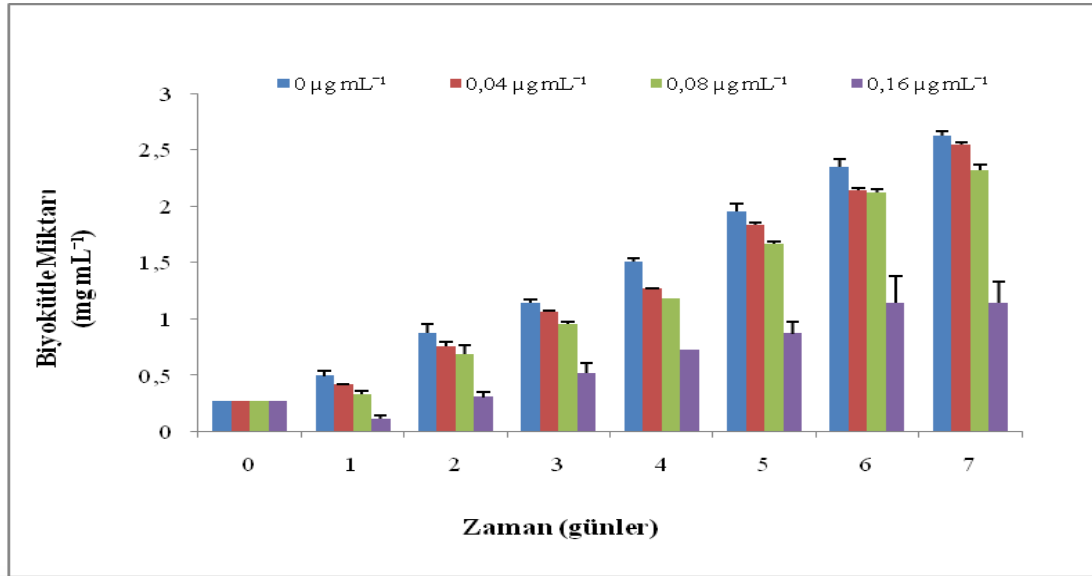
Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, kalay etkisine maruz bırakılan *A. platensis*'in artan kalay konsantrasyonlarına bağlı olarak biyokütle miktarlarında kontrole göre önemli bir düşüş olduğu tespit edilmiştir. ($p < 0.05$). Konsantrasyonlar arasında biyokütle miktarındaki en fazla düşüşün $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ 'lik Sn uygulamasında meydana geldiği belirlenmiştir.



Şekil 3.2. *A. platensis*'in kalay konsantrasyonlarına bağlı biyokütlerdeki günlük değişimi

Civa uygulanan örneklerde EC50 değeri $0.106 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, civa etkisine maruz bırakılan *A. platensis*'in artan civa konsantrasyonlarına bağlı olarak biyokütle miktarlarında kontrole göre önemli bir düşüş olduğu tespit edilmiştir. ($p < 0.05$). Konsantrasyonlar arasında biyokütle miktarındaki en fazla düşüşün $0.16 \mu\text{g mL}^{-1}$ 'lik Hg uygulamasında meydana geldiği belirlenmiştir.

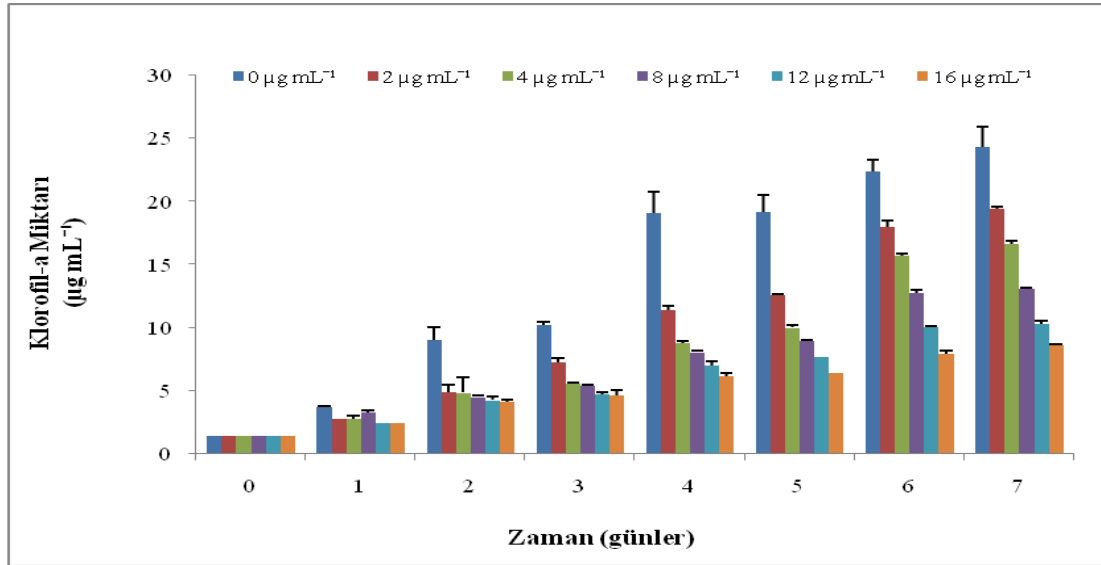


Şekil 3.3. *A. platensis*'in civa konsantrasyonlarına bağlı biyokütledeki günlük değişimi

3.2. Fotosentetik Pigment Analizi (Klorofil-*a* Miktarları)

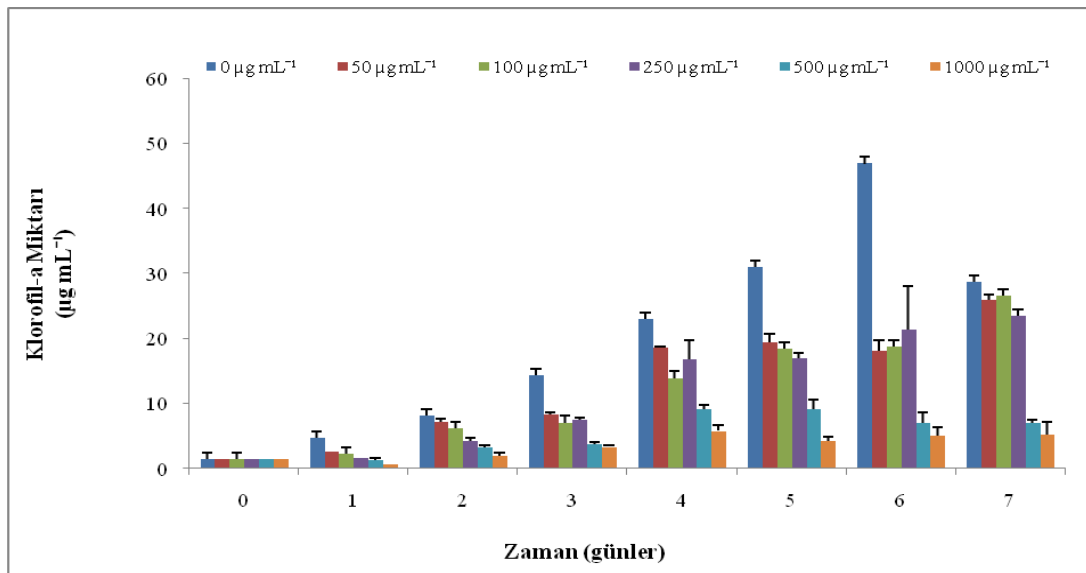
A. platensis'e uygulanan farklı konsantrasyonlardaki çinko, kalay ve civa ağır metallerinin klorofil-*a* miktarına olan etkisi Şekil 4.4., Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.'da verilmiştir.

Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, çinko etkisine maruz bırakılan *A. platensis*' in artan çinko konsantrasyonlarına bağlı olarak klorofil-*a* miktarlarında kontrole göre önemli bir düşüş olduğu tespit edilmiştir. ($p < 0.05$). Konsantrasyonlar arasında klorofil-*a* miktarındaki en fazla düşüşün 16 µg mL⁻¹'lik Zn uygulamasında meydana geldiği belirlenmiştir.



Şekil 3.4. *A. platensis*'in çinko konsantrasyonlarına bağlı klorofil-*a*'daki günlük değişimi

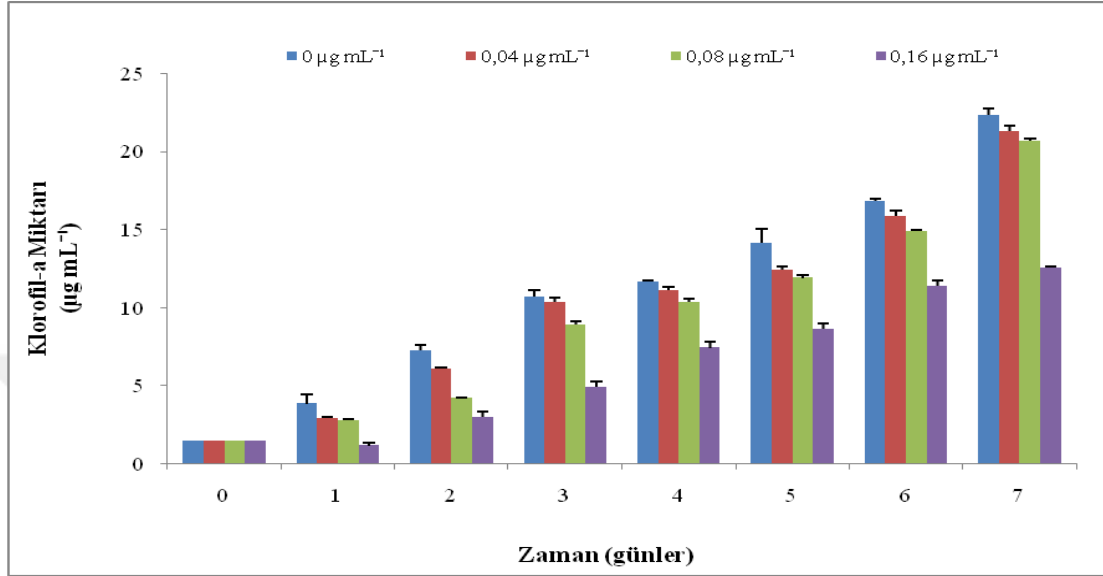
Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, kalay etkisine maruz bırakılan *A. platensis*'in artan kalay konsantrasyonlarına bağlı olarak klorofil-*a* miktarlarında kontrole göre önemli bir düşüş olduğu tespit edilmiştir. ($p < 0.05$). Konsantrasyonlar arasında klorofil-*a* miktarındaki en fazla düşüşün $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ 'lik Sn uygulamasında meydana geldiği belirlenmiştir.



Şekil 3.5. *A. platensis*'in kalay konsantrasyonlarına bağlı klorofil-*a*'daki günlük değişimi

Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, civa etkisine maruz bırakılan *A. platensis*'in artan civa konsantrasyonlarına bağlı olarak

klorofil-*a* miktarlarında kontrole göre düşüş olduğu tespit edilmiştir. ($p < 0.05$). Konsantrasyonlar arasında klorofil-*a* miktarındaki en fazla düşüşün $0.16 \mu\text{g mL}^{-1}$ 'lik Hg uygulamasında meydana geldiği belirlenmiştir.

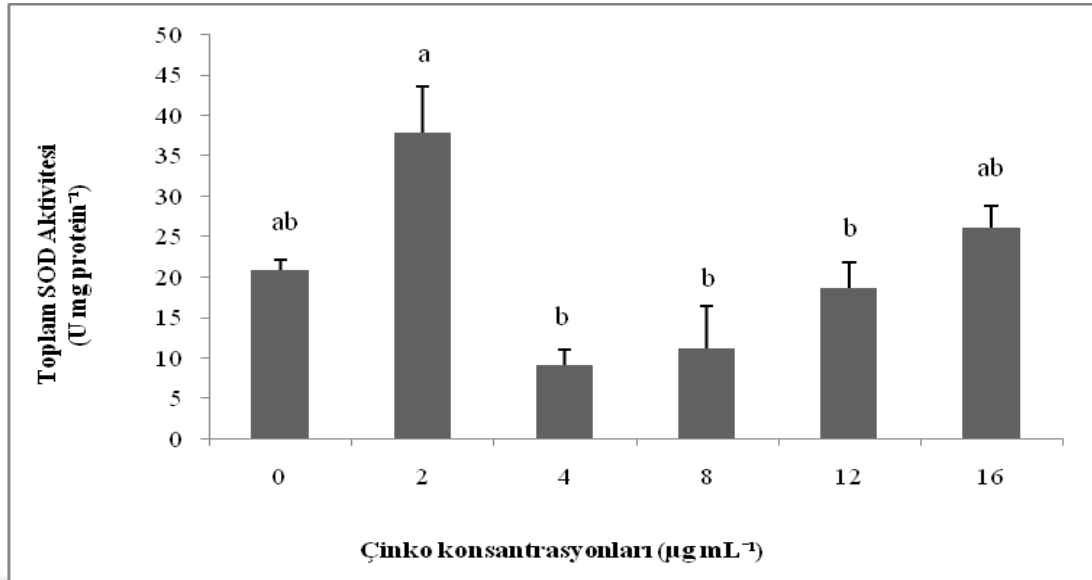


Şekil 3.6. *A. platensis*'in civa konsantrasyonlarına bağlı klorofil-*a*'daki günlük değişimi

3.3. Toplam Süperoksid Dismutaz Aktivitesi

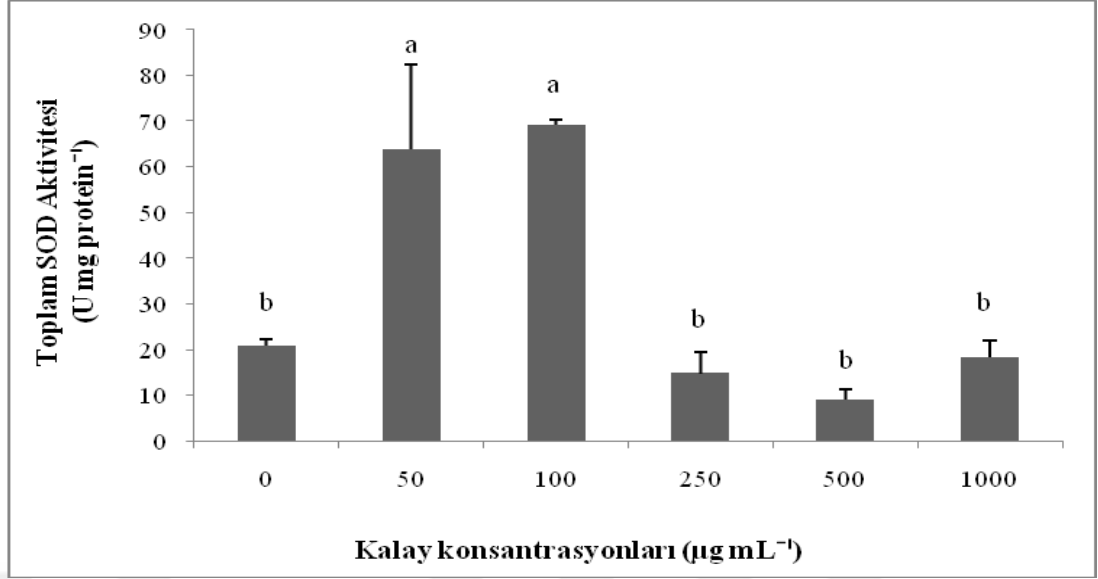
A. platensis'e uygulanan farklı konsantrasyonlardaki çinko, kalay ve civa ağır metallerinin toplam süperoksid dismutaz enzim aktivitesi (SOD) üzerindeki etkisi Şekil 3.7., Şekil 3.8. ve Şekil 3.9.'da verilmiştir.

Çinko etkisine maruz bırakılan *A. platensis*'in $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ çinko konsantrasyonlarındaki toplam SOD aktivitesi kontrole göre artış gösterirken; $4 \mu\text{g mL}^{-1}$, $8 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $12 \mu\text{g mL}^{-1}$ çinko konsantrasyonlarındaki toplam SOD aktivitesi kontrole göre düşüş göstermiştir. $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonu ile $4 \mu\text{g mL}^{-1}$, $8 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $12 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). SOD aktivitesinin en yüksek ($37.8 \text{ U protein}^{-1}$) ve en düşük ($9.1 \text{ U protein}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $4 \mu\text{g mL}^{-1}$ çinko konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



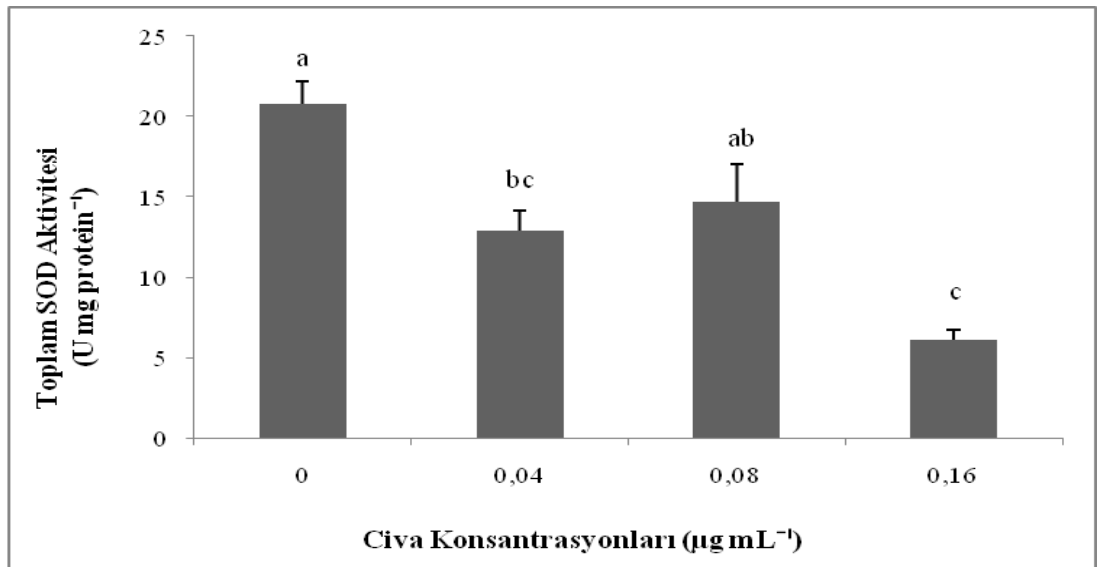
Şekil 3.7. Farklı çinko konsantrasyonlarının *A. platensis*'de SOD aktivitesi üzerindeki etkisi

Kalay etkisine maruz bırakılan *A. platensis*' in $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ kalay konsantrasyonlarındaki toplam SOD aktivitesi kontrole göre artış göstermiştir ($p < 0.05$). $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonları ile $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca kontrol ile $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur. SOD aktivitesinin en yüksek ($69.1 \text{ U protein}^{-1}$) ve en düşük (9 U protein^{-1}) olduğu değerler sırasıyla $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ kalay konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 3.8. Farklı kalay konsantrasyonlarının *A. platensis*'de SOD aktivitesi üzerindeki etkisi

Civa etkisine maruz bırakılan *A. platensis*' in $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0.08 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $0.16 \mu\text{g mL}^{-1}$ civa konsantrasyonlarındaki toplam SOD aktivitesi kontrole göre azalma göstermiştir ($p < 0.05$). Kontrol ile $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $0.16 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca $0.08 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonu ile $0.16 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonu arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). SOD aktivitesinin en yüksek ($14.7 \text{ U protein}^{-1}$) ve en düşük ($6.1 \text{ U protein}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla $0.08 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$ civa konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.

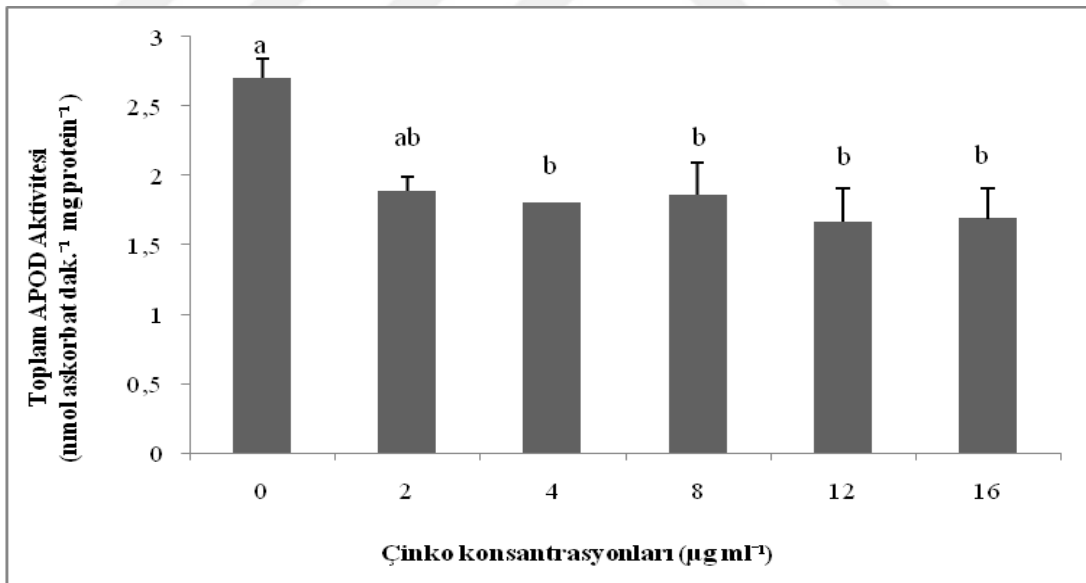


Şekil 3.9. Farklı civa konsantrasyonlarının *A. platensis*'de SOD aktivitesi üzerindeki etkisi

3.4. Toplam Askorbat Peroksidaz Aktivitesi

A. platensis'e uygulanan farklı konsantrasyonlardaki çinko, kalay ve civa ağır metallerinin toplam askorbat peroksidaz enzim aktivitesi (APOD) üzerindeki etkisi Şekil 3.10., Şekil 3.11. ve Şekil 3.12.'de verilmiştir.

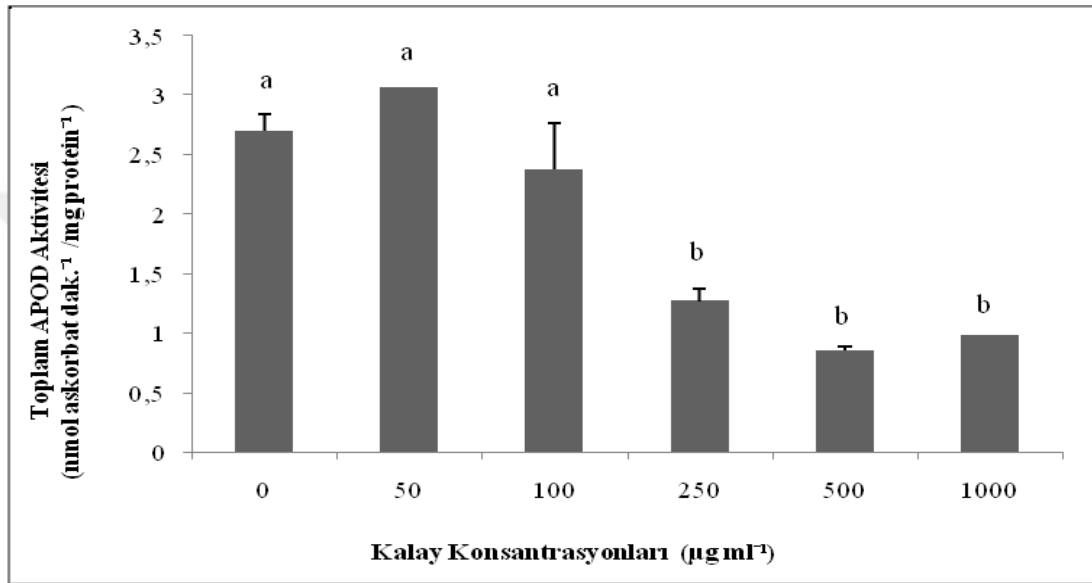
Çinko etkisine maruz bırakılan *A. platensis*' in $2 \mu\text{g mL}^{-1}$, $4 \mu\text{g mL}^{-1}$, $8 \mu\text{g mL}^{-1}$, $12 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ çinko konsantrasyonlarındaki toplam APOD aktivitesi kontrole göre azalma göstermiştir. $4 \mu\text{g mL}^{-1}$, $8 \mu\text{g mL}^{-1}$, $12 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarındaki azalmalar kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Belirtilen konsantrasyonlar kendi aralarında kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). APOD aktivitesinin en yüksek ($1.89 \text{ nmol askorbat dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) ve en düşük ($6.7 \text{ nmol askorbat dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $12 \mu\text{g mL}^{-1}$ çinko konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 3.10. Farklı çinko konsantrasyonlarının *A. platensis*'de APOD aktivitesi üzerindeki etkisi

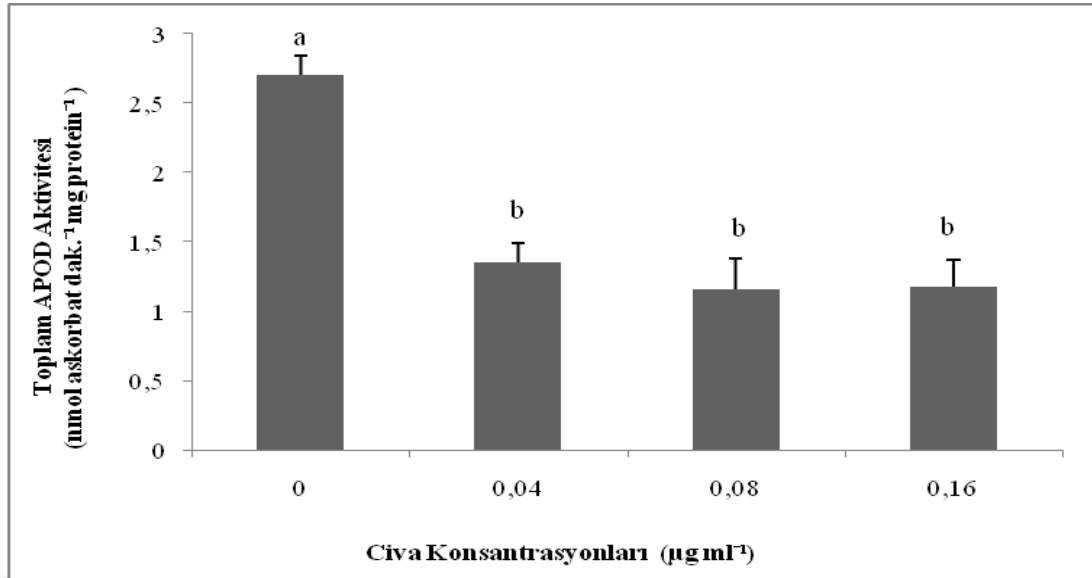
Kalay etkisine maruz bırakılan *A. platensis*' in $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ kalay konsantrasyonlarındaki toplam APOD aktivitesi kontrole göre azalma göstermiştir ($p < 0.05$). $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonları ile $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı

derecede fark bulunmuştur ($p<0.05$). Ayrıca kontrol grubu ile $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p<0.05$). APOD aktivitesinin en yüksek ($3.07 \text{ nmol askorbat dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) ve en düşük ($0.85 \text{ nmol askorbat dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ kalay konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 3.11. Farklı kalay konsantrasyonlarının *A. platensis*'de APOD aktivitesi üzerindeki etkisi

Civa etkisine maruz bırakılan *A. platensis*' in $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0.08 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $0.16 \mu\text{g mL}^{-1}$ civa konsantrasyonlarındaki toplam APOD aktivitesi kontrole göre azalma göstermiştir ($p<0.05$). Belirlenen konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Yalnızca kontrol ile $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0.08 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $0.16 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p<0.05$). APOD aktivitesinin en yüksek ($1.35 \text{ nmol askorbat dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) ve en düşük ($1.16 \text{ nmol askorbat dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $0.08 \mu\text{g mL}^{-1}$ civa konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.

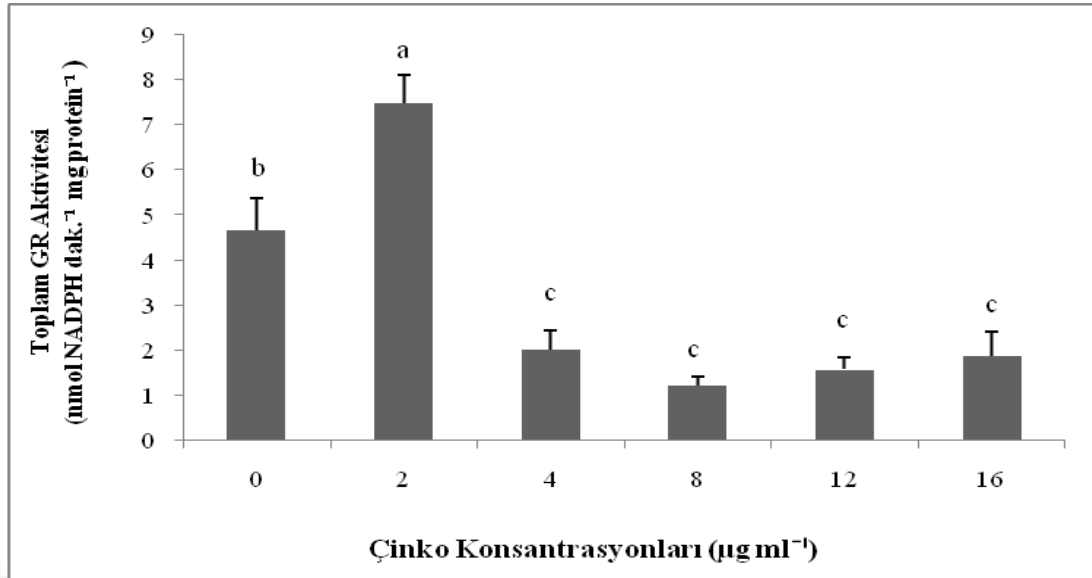


Şekil 3.12. Farklı civa konsantrasyonlarının *A.platensis*'de APOD aktivitesi üzerindeki etkisi

3.5. Toplam Glutasyon Redüktaz Aktivitesi

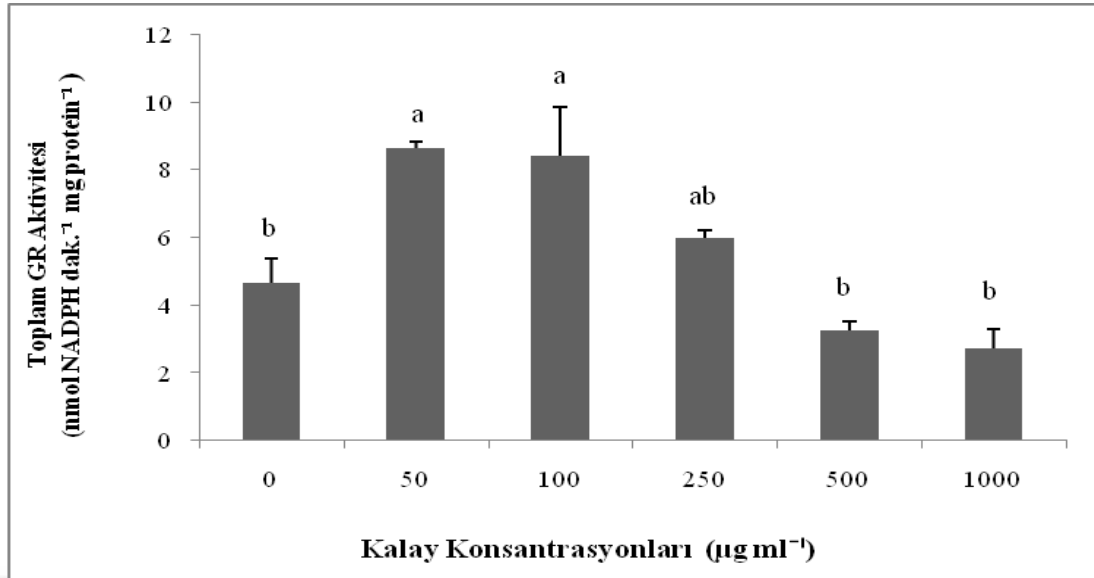
A. platensis'e uygulanan farklı konsantrasyonlardaki çinko, kalay ve civa ağır metallerinin toplam glutasyon redüktaz enzim aktivitesi (GR) üzerindeki etkisi Şekil 3.13., Şekil 3.14. ve Şekil 3.15.'de verilmiştir.

Çinko etkisine maruz bırakılan *A. platensis*'in 2 µg mL⁻¹ çinko konsantrasyonundaki toplam GR enzim aktivitesi kontrole göre artış gösterirken; 4 µg mL⁻¹, 8 µg mL⁻¹, 12 µg mL⁻¹ ve 16 µg mL⁻¹ çinko konsantrasyonları azalma göstermiştir ($p < 0.05$). Kontrol ile diğer tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca 2 µg mL⁻¹ konsantrasyonu ile diğer konsantrasyonlar arasında da istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p < 0.05$). 4 µg mL⁻¹, 8 µg mL⁻¹, 12 µg mL⁻¹ ve 16 µg mL⁻¹ konsantrasyonları kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). GR aktivitesinin en yüksek (7.8 nmol NADPH dak.⁻¹ mg protein⁻¹) ve en düşük (5.97 nmol NADPH dak.⁻¹ mg protein⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 2 µg mL⁻¹ ve 8 µg mL⁻¹ çinko konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



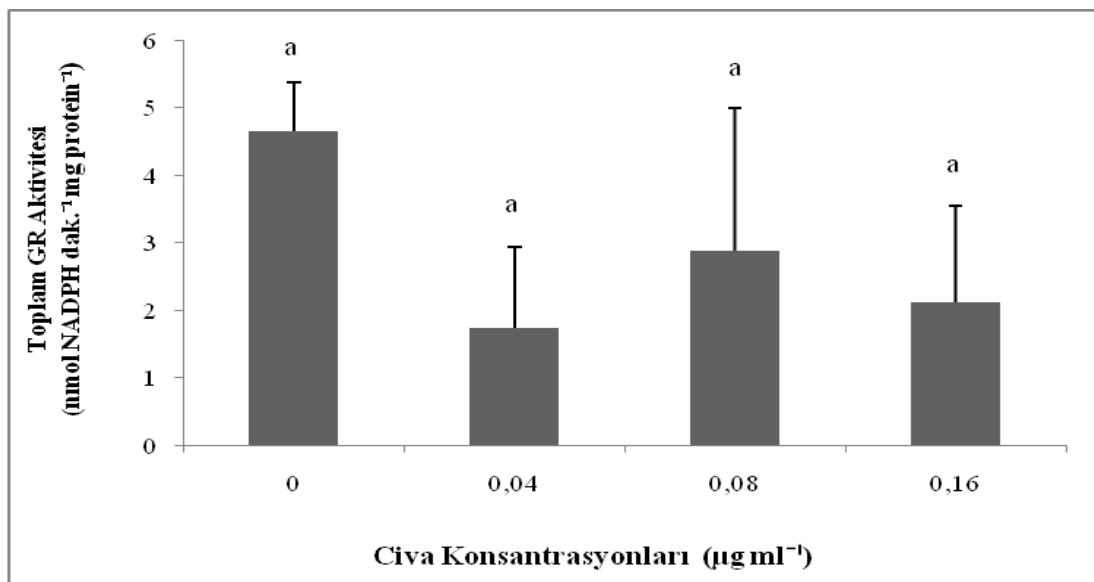
Şekil 3.13.Farklı çinko konsantrasyonlarının *A. platensis*'de GR aktivitesi üzerindeki etkisi

Kalay etkisine maruz bırakılan *A. platensis*'in 50 µg mL⁻¹, 100 µg mL⁻¹ ve 250 µg mL⁻¹ kalay konsantrasyonlarındaki toplam GR enzim aktivitesi kontrole göre artış göstermiştir. Ancak 500 µg mL⁻¹ ve 1000 µg mL⁻¹ konsantrasyonlarındaki toplam GR aktivitesi kontrole göre düşüş göstermiştir. 50 µg mL⁻¹ ve 100 µg mL⁻¹ konsantrasyonları ile 500 µg mL⁻¹ ve 1000 µg mL⁻¹ konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur (p<0.05). Ayrıca kontrol ile 50 µg mL⁻¹ ve 100 µg mL⁻¹ konsantrasyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur. GR aktivitesinin en yüksek (8.64 nmol NADPH dak.⁻¹ mg protein⁻¹) ve en düşük (2.73 nmol NADPH dak.⁻¹ mg protein⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 50 µg mL⁻¹ ve 100 µg mL⁻¹ konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 3.14. Farklı kalay konsantrasyonlarının *A. platensis*'de GR aktivitesi üzerindeki etkisi

Civa etkisine maruz bırakılan *A. platensis*'de GR aktivitesi $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0.08 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $0.16 \mu\text{g mL}^{-1}$ civa konsantrasyonlarında kontrole göre düşüş göstermiştir. Ancak kontrol ve konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). GR aktivitesinin en yüksek ($2.88 \text{ nmol NADPH dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) ve en düşük ($1.73 \text{ nmol NADPH dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla $0.08 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$ civa konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 3.15. Farklı civa konsantrasyonlarının *A. platensis*'de GR aktivitesi üzerindeki etkisi

BÖLÜM 4. TARTIŞMA

Yapılan bu çalışma ile *A. platensis* alginin çinko, kalay ve civa ağır metallerinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılması sonucu bu metallerin klorofil-*a* miktarında, biyokütlesinde ve antioksidan parametrelerinde [süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR) ve askorbat peroksidaz (APOD)] oluşan değişimler hakkında bilgi elde edinilmeye çalışılmıştır.

Algler üzerine yapılan laboratuvar çalışmalarında alglerdeki metal alınımının ve toksisitesinin, ortamdaki metal derişimine, metal türlerine, metal ortamının kimyasal yapısına, organizmanın toleransına, metal etkileşimine vereceği yanıt ve alg türüne bağlı olduğu bildirilmiştir (Crist ve ark., 1981; Singh ve ark., 1989; Gupta ve ark., 2001; Campbell, 1995; Aksu, 1998; Soldo ve ark., 2005). Sunulan çalışmada çinko, civa ve kalay gibi farklı ağır metallerin türüne göre *A. platensis* alginin klorofil-*a* miktarının, optik yoğunluğunun (OD), biyokütlesinin ve antioksidan parametrelerinin [süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR) ve askorbat peroksidaz (APOD)] farklı derecelerde etkilendiği gözlenmiştir.

Alglerde ağır metallerin olumsuz etkilediği olayların başında organizmanın canlılık faaliyetleri gelmektedir. Ağır metallerin toksik etkisi organizmalardaki büyümeyi inhibe etmekte ve bu toksikantlar büyümenin lag fazının bozulmasına neden olmaktadır (De Filippis ve ark., 1981; Stevenson ve ark., 1996). Bu sebeple organizmada hücre bölünmesi engelleneceği için büyümenin durduğu belirtilmektedir (Elbaz ve ark., 2010). Çalışmamızda strese maruz bırakılmayan kontrol grubunda biyokütle miktarı yedi gün boyunca artış gösterirken, Zn, Sn ve Hg etkisi altında konsantrasyonlar arttıkça biyokütle ve klorofil-*a* miktarı azalmıştır. Çok yüksek konsantrasyonlarda ise algler tamamen canlılıklarını kaybetmişlerdir.

Rai ve ark. (2013), Cr (IV) etkisinde *Chlorella vulgaris* algindeki değişimi incelemişlerdir. Cr (IV) ağır metalinin artan konsantrasyonlarında biyokütle miktarının düştüğünü gözlemlemişlerdir. Bajuz (2010), *C. vulgaris* algine Cd, Pb ve Cu ağır metallerini uygulamış, ağır metal uygulanan örneklerde konsantrasyonların artışıyla hücre sayısında azalma olduğunu gözlemlemiştir. Surosz ve Palinska (2004), *Anabaena flos-aquae* ile yaptıkları bir çalışmada 0.35 mg L^{-1} bakır uygulanmasının algin gelişimini gerilettiğini ve artan bakır derişimi ile algin klorofil-*a* ve biyokütle miktarlarının azaldığını belirlemişlerdir. Li ve ark. (2006), *Pavlova viridis* algi üzerinde çinko ve bakır ağır metallerinin klorofil-*a* üzerine etkilerini incelemişlerdir ve bu ağır metallerin artan konsantrasyonlarında klorofil-*a* miktarı ile fotosentez hızında azalma olduğunu belirtmişlerdir. Wong ve Chang (1991), *Chlorella pyrenoidosa* algi üzerine Cu (bakır), Cr (krom) ve Ni (nikel) uygulamışlar, bu ağır metallerin klorofil-*a* miktarı, büyüme ve fotosentez hızları üzerine etkilerini ayrı ayrı incelemişlerdir. Sonuçta bu ağır metallerin artan konsantrasyonlarında klorofil-*a* miktarı, büyüme ve fotosentez hızlarında azalma olduğunu gözlemlemişlerdir. Bunun sebebinin ağır metallerin yaptığı toksik etkinin klorofil-*a*'yı inhibe etmiş olabileceğini belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada *A. platensis*' deki klorofil-*a* miktarlarının Zn, Sn, Hg etkisi altında azaldığı gözlenmiştir. Biyokütle ve klorofil-*a* miktarındaki en fazla düşüşün kalay uygulanan örneklerde olduğu belirlenmiştir. Ağır metaller klorofil pigment biyosentezini ve bu süreçte görev yapan enzimleri inhibe etmektedir (De Fillippis ve Pallaghy, 1994). *A. platensis*'te Zn, Sn, Hg etkisinde klorofil-*a* miktarlarındaki azalma klorofil biyosentez sürecinin bozulmasının, klorofil-*a* biyosentezinde görevli enzimlerin inhibe edilmesinin ya da klorofilin parçalanmasının sonucu olabilir.

Sunduğumuz çalışmada Zn için SOD aktivitesi $2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda kontrole göre artış, $4 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, $8 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $12 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında kontrole göre düşüş, $16 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda kontrole göre artış göstermiştir. Sn için SOD aktivitesi $50 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ kalay konsantrasyonlarında kontrole göre artış, $250 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ve $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ konsantrasyonlarında kontrole göre düşüş, $1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ konsantrasyonunda artış gösterse de kontroldeki seviyeye ulaşamamıştır. Hg

için SOD aktivitesi $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0.08 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $0.16 \mu\text{g L}^{-1}$ konsantrasyonlarında kontrole göre azalma göstermiştir.

Antioksidan enzimler oksidatif stresin önlenmesinde önemli bileşenler olması sebebiyle, stres koşulları altında enzim aktivitesi genellikle artmaktadır (Allen, 1995; Mazhoudi ve ark., 1997). Liu ve ark. (2010), *Grateloupia turuturu* ve *Palmaria palmata* algleriyle yaptıkları çalışmalarda CdCl_2 kullanarak ağır metal stresine SOD ve GR gibi antioksidan parametrelerde bakmışlardır. Sonuçta SOD aktivitesinin *P. palmata* alginde *G. turuturu* algine kıyasla arttığını belirtmişlerdir. Cao ve ark. (2011), *Amphidinium* sp. algi üzerinde Mn ile yaptıkları çalışmanın sonuçları bizim Hg ile yapmış olduğumuz çalışma ile paralellik göstermektedir. Cao ve ark. (2011), Mn konsantrasyonu arttıkça SOD aktivitesinde azalma olduğunu ve uygulanan konsantrasyonların algin metabolik faaliyetlerini bozmuş ya da engellemiş olabileceğini belirtmişlerdir. Rai ve ark. (2013)' ün, *Chlorella vulgaris* algi ile yaptıkları çalışma bizim Zn ve Sn ile yapmış olduğumuz çalışma ile paralellik göstermektedir. Rai ve ark. (2013), Cr (IV) etkisinde *C. vulgaris* algindeki SOD aktivitesini incelendiğinde önce artış sonra düşüş görülmesinin sebebinin, kromun yüksek konsantrasyonlarının SOD geninin etkilemesi olabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda Zn için APOD aktivitesi $2 \mu\text{g mL}^{-1}$, $4 \mu\text{g mL}^{-1}$, $8 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $12 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında kontrole göre düşüş göstermiştir. Sn için APOD aktivitesi $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda kontrole göre artış göstermiş, sonraki konsantrasyonlarda azalma göstermiştir. Hg için APOD aktivitesi $0.04 \mu\text{g/mL}$, $0.08 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $0.16 \mu\text{g L}^{-1}$ civa konsantrasyonlarında kontrole göre azalma göstermiştir fakat konsantrasyonlar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Devez ve ark. (2005), *Scenedesmus obliquus* üzerine bakır ile yaptıkları çalışmada KAT miktarında önemli bir değişimin olmadığını, APOD miktarında artış olmasına rağmen belli konsantrasyonlarda sabit kaldığını belirtmişlerdir. Melegari ve ark. (2013), *Chlamydomonas reinhardtii* yeşil algine CuO uyguladıklarında, konsantrasyonların artışına bağlı olarak APOD ve GR aktivitelerinde artış olduğunu belirtmişlerdir. Elbaz ve ark. (2010), *Chlamydomonas reinhardtii*'de civa ile

yaptıkları çalışmada KAT ve APOD enzimlerinin aktivitesi ile ROT (reaktif oksijen türleri) seviyesinin arttığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise Zn ve Hg uyguladığımız örneklerde APOD aktivitesinde önce düşüş görülmüş, konsantrasyonlar arttıkça aktivitede değişim görülmemiştir. Bu sebeple yapılan çalışmalarla bir paralellik söz konusu değildir. Bununla birlikte sadece Sn için $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda bir artışın olması diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda Zn için GR aktivitesi $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda artış, $4 \mu\text{g mL}^{-1}$, $8 \mu\text{g mL}^{-1}$, $12 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında kontrole göre düşüş göstermiştir. Sn için GR aktivitesi $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ kalay konsantrasyonlarında artış, $250 \mu\text{g L}^{-1}$, $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ konsantrasyonlarında kontrole göre düşüş göstermiştir. Hg için GR aktivitesi $0.04 \mu\text{g L}^{-1}$, $0.08 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $0.16 \mu\text{g L}^{-1}$ civa konsantrasyonlarında kontrole göre azalma göstermiştir.

Devez ve ark. (2005), *Scenedesmus obliquus* algine bakır uyguladıkları çalışmalarında GR aktivitesinde artış olduğunu belirtmişlerdir. Bajguz (2010), *Chlorella vulgaris* alginde Cd, Pb ve Cu ağır metalleri uygulandıktan sonraki enzim aktivitesine baktıklarında ağır metal konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak GR aktifliğinde artış gözlemlemiştir. Bu iki çalışmanın sonuçları bizim düşük konsantrasyonlarda Zn ve Sn ile yapmış olduğumuz çalışma ile benzerlik göstermektedir. Artan GR seviyesinin organizmadaki ağır metal stresine karşı bir yanıt oluşturacağı ve antioksidan parametrelerin herhangi bir stres koşulu altında anti-stres görevi olduğu belirtilmiştir (Sharma, 2015). Yalnız çalışmamızda konsantrasyonlar arttıkça enzim aktivitesinde azalmalar görülmüştür. Uygulanan yüksek konsantrasyonlar GSH metabolizmasındaki enzimlerin yapısını bozmuş ve hücre zarında oksidatif hasara sebep olmuş olabilir. Bu yüzden belli seviyeden sonra GR aktivitesinde azalma görülmüş olabilir.

Sonuç olarak çalışmamızda uyguladığımız ağır metallerin *A. platensis* alginde konsantrasyona bağlı olarak etkili olduğu söylenebilir. Zn ve Hg ile

karşılaştırıldığında, Sn uygulamaları sonucunda biyokütle ve klorofil-*a* miktarında daha fazla azalmanın meydana gelmesi, *A. platensis* için Sn elementinin çok daha fazla toksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Sn uygulamaları sonucunda, özellikle 50 ve 100 µg mL⁻¹'lik konsantrasyonda, SOD aktivitesinin kontrole göre önemli derecede artış göstermesi, *A. platensis* alginde Sn toksisitesi nedeniyle süperoksit radikali konsantrasyonunun arttığını göstermektedir. SOD'nin katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan H₂O₂'yi parçalamaktan sorumlu olan APOD enziminin aktivitesi ise aynı Sn konsantrasyonlarında kontrole göre önemli bir değişim göstermemiştir. Bu durumda Sn elementinin *A. platensis*'de APOD enziminin sentezini ve/veya aktivitesini selektif olarak belli oranda inhibe ettiği ve toksik etkisini bu şekilde gösterdiği sonucuna varılabilir. Nitekim 50 ve 100 µg mL⁻¹'lik Sn uygulamaları sonucunda, SOD aktivitesine benzer şekilde GR aktivitesinde de kontrole göre önemli derecede artış belirlenmiştir. GR enzimi, hücrelerde glutatyon molekülünün indirgenmesini sağlayan reaksiyonu katalizlemekten sorumludur. İndirgenmiş glutatyonun yapısındaki elektronlar da H₂O₂'nin detoksifikasyonunu sağlayan reaksiyonda kullanılmak üzere APOD enzimine verilmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar, 50 ve 100 µg mL⁻¹'lik Sn uygulanan *A. platensis*'de GR'nin uygun şekilde aktivite gösterdiğini ve indirgenmiş glutatyon oluşumunun gerçekleştiğini ispatlamaktadır. Bu durumda Sn' nin toksik etkisini, çalışmamızda aktivitelerini belirlediğimiz antioksidan enzimlerden APOD üzerindeki direkt etkisi ile gösterdiği sonucuna varılabilir.

BÖLÜM 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Sonuç olarak çalışmamızda, biyokütle ve klorofil-*a* miktarındaki azalmanın artan Zn, Sn ve Hg konsantrasyonlarına ve zamana bağlı olduğu bulunmuştur. *A. platensis*'in üzerine ağır metallerin toksisitesi Hg> Zn> Sn şeklinde ölçülmüştür. Araştırmamızda *A. platensis*'in antioksidan enzimleri üzerine ise, ağır metallerinin etkisinin konsantrasyonlardaki artışla yakından ilişkili olduğu bulunmuştur. Antioksidan enzimlerin aktivitesi üzerinde kullanılan ağır metallerin türlerine göre de farklılıklar ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmalarda ağır metal konsantrasyonu arttıkça, aşırı ROT üretiminin nükleik asitler, proteinler ve lipitler gibi pek çok hücrel fonksiyonu etkilediği belirtilmektedir (Mittler ve ark., 2004). Bu sebeple ağır metallerin toksik etkisi, üretilen serbest radikallerin hücredeki metabolik dengeyi bozmasıyla gerçekleşmiştir.

5.2. Öneriler

Bu çalışmanın amacı; uzun vadede sucul ekosistem üzerine metal stresinin olası etkisinin belirlenmesi için yapılan ekotoksikoloji çalışmalarına katkıda bulunmaktır. Bu sebeple ağır metallerin etkisi altında klorofil-*a* ve biyokütle miktarlarındaki değişimler ile antioksidan parametrelerin aktivitelerindeki değişimler araştırılmıştır. İlerleyen periyotlarda *A. platensis* algi üzerinde ağır metallerin birikim mekanizması ve antioksidan parametrelerin oluşturduğu yanıtlar ve bunların genetik temeli ile ilgili çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

- Ahner, B. A., Morel, F. M. M., 1995. Phytochelatin Production Marine Algae, Induction by Various Metals. *Limnol. Oceanogr.*, 40 (4): 658- 665.
- Aiba, S., Ogawa T., 1977. Assessment of Growth Yield of a Bluegreen Alga, *Spirulina platensis*, in Axenic and Continuous Culture, *Microbiology*, 102, 179-182.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, *Mimoza Yayınları*, 38(5) : 1-123.
- Aksu, Z., 1998. Biosorption of Heavy Metals by Microalgae in Batch and Continuous Systems *Bioscience*, 37-53.
- Allan, R., 1997. Introduction: mining and metals in the environment. *J. Geochem. Expl.* 58:95–100.
- Alloway, B.J. and Ayres, D.C., 1993. *Chemical Principles of Environmental Pollution*. Chapman & Hall, U.K., s. 291.
- Asada K., Production and action of active oxygen species in photosynthesis tissues, ed: FOYER, C. H., MULLINEAUX, P. M., 1994. *Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants*, CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla., Pp: 77–104
- Asada, K., 1999, The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 601-639.
- Atsdr (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 2006. *Public HealthService*, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA. Available online at <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/>
- Aysel, V., 2005. Check-List of the Freshwater Algae of Turkey, *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 11, 1-124.

- Bahadır, T., Bakan, G., Altas, L., Buyukgungar, H., 2007. The Investigation of lead removal by biosorption. An application at storage battery industry wastewaters. *Enzyme Microbiol. Technol.* 41 (1-2), 98-102.
- Becker, W. E., 1994. *Microalgae-Biotechnology and Microbiology*. Cambridge Univ. Press.
- Becker, W. E., ve Katamaran, L. V., 1980. Productin and Processing of Algae, in *Pilot Plant Scale Experiences of the Indo – German Project, Algal Biomass*, ed. G. Shelef and C. J. Soeder, 35-49.
- Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K., Shimatsu, H., 1993. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*, *J.appl. Phycol.* 5, 235-241.
- Benavides, M.P., Gallego, S.M., Tomaro, M.L., 2005. Cadmium Toxicity in Plants, *Braz. J. Plant Physiol.*, 17(1), 21 – 34.
- Benzer, F., Ozan, S.T., 2003. *Fasciola hepaticail*e Enfekte Koyunlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidan Enzimler ve Nitrik Oksit Düzeyleri, *Turk J Vet Anim Sci*, 27, 657-661.
- Bergmann, W., 1992. *Nutritional Disorders of Plants: Development, Visual and Analytical Diagnosis*. New York, s. 695.
- Beyer, W. F., Fridovich, I., 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions, *Analytical Biochemistry*, 161, 559-566.
- Bingham, E., 2001. Powell, Charles H., “Patty's Toxicology (5th Edition) Toxicological Issues Related to Metals: Neurotoxicolgy and Radiation Metals and Metal Compounds”, Vol II, ISBN: 0-471-31943-0, John Wiley & Sons.
- Bradford, M. M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Braek, G.S., Malnes, D., Jensen, A., 1980. Heavy metal tolerance of marine phytoplankton. IV. Combined effect of zinc and cadmium on growth and uptake in some marine diatoms, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 42, 39-54.
- Brooks, A., Collins, C.J., Thurman, D.A., 1981. The mechanism of zinc tolerance in grasses. *Journal of Plant Nutrition*, 3, 695-705.
- Campbell, P.G.C., Stokes, P.M., 1985. Acidification and toxicity of metal to aquatic biota. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42, 2034-2049.
- Chen, G., 2009. Fu Combined effect of copper and cadmium on *Chlorella vulgaris* growth and photosynthesis-related gene transcription *Aquatic Toxicology* 94, 56–61.

- Cho, D. Y., Lee, S. T., Park, S. W., Chung, A. S., 1994. Studies on the Biosorption of Heavy Metals on to *Chlorella vulgaris*. J. Environ. Sci. Health Part A. A29: 389- 409.
- Choudhary, M., Jetley, U.M., Abash, M., Zutshi, S., Tasneem, F., 2007. Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Arthrospira platensis-S5*, Ecotoxicology and Environmental Safety, 66, 204–209.
- Collard, J. M., Matagne, R. F., 1994. Cd⁺² Resistance in Wild- Type and Mutant Strains of *Chlamydomonas reinhardtii*. Environ. Exp. Bot., 34: 235- 244.
- Conk-Dalay, M., 1997. İzole edilmiş *Arthrospira* sp. 'nin Kültür Ortamlarında yetiştirilmesi ve Besin Kalitesi Değişimleri Üzerine Bir Araştırma, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Doktora Tezi.
- Corradi, M. G., Gorbi, G., Abd- El- Monem, H. M., Torelli, A., Bassi, M., 1998. Exudates From The Wild Type and a Cr- Tolerant Strain of *Scenedesmus acutus* Influence Differently Cr (VI) Toxicity to Algae, Chemosphere., 37: 3019- 3025.
- Cross, C.E., Hallivel, B., Borish, E.T., 1987. Ann Intern Med. 107: 526- 545.
- Cumming, J.R., Taylor, G.J., 1990. Mechanism of metal tolerances in plants: Physiological adaptation for exclusion of metal ions from the cytoplasm. in: Stres responses in plants: Adaptation and acclimation mechanisms, Alscher, R.G. and Cumming, J.R. (Eds.) Wiley-Liss, Inc., 329-359.
- Çatak, E., Çolak, G., Tokur, S., 2000. Bazı Domates ve Tütün Genotiplerinde Kadmiyum Etkilerini İnceleyen İstatistiksel Bir Çalışma, BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2(1), 13-41.
- Çetinkaya, G., Dönmez, Z., Aksu, A., Öztürk, T., Kutsal, A., 1999. Comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae, Process Biochemistry, 34, 885–892.
- De Filippis, L. F., Hampp, R., Ziegler, H., 1981. . The effect of sub-lethal concentration of zinc, cadmium and mercury on *Euglena*, Zeitschrift für Pflanzenphysiologie, (128) 407-411.
- De Filippis, L., Pallaghy, C., 1992. Heavy Metals: Sources and Biological Effects. In Rai, L. C., Gaur, J. P. (Eds.). Phycological Perspectives of Water Pollution. E. Schweizerbart Verlag, Stuttgart.
- De Jong, L., Diana, C., Campos, J.R., Arnoux, A., Pellegrini, L., 1994. Toxicity of methyl mercury and mercury (II) chloride to a brown alga *Cystoseira barbara* (Fucales) under laboratory culture conditions--Detoxifying role of calcium, Bot. Mar., 4, 367-379.
- Depledge, M.H., Weeks, J.M., Bjerregaard, P., 1995. Heavy metals in: Handbook of Ecotoxicology. Blackwell Science., 2, 79-105.

- Devez, D., Geoffray, L., Vermet, G., Popovic, R., 2005. Determination of photosynthetic and enzymatic biomarkers sensitivity used to evaluate toxic effects of copper and fludioxonil in alga *Scenedesmus obliquus*. *Aquatic toxicology* 74 (2), 150-159.
- Dominguz, M.G., Maury, L.M., Florencio, F., Reyes, J.C., 2000. A Gene Cluster Involved in Metal Homeostasis in the Cyanobacterium *Synechocystis sp.* Strain PCC 6803, *J. Bacteriol.*, 182,1507-1514.
- Dönmez, G., Aksu, Z., 2002. Removal of Chromium (VI) From Saline Wastewaters by *Dunaliella* Species. *Process Biochemistry.*, 38: 751- 762.
- Dündar, Y., Aslan, R., 2000. Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları, 29 : 95-101.
- Elbaz, A., Wei, Y.Y., Meng, Q., Zheng, Q., Yang, Z.M., 2010. Mercury-induced oxidative stress and impact on antioxidant enzymes in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Ecotoxicology*, 19,1285-1293.
- Fox, R. D., 1996. Pub. By Editions Edisud, La Calade, R.N.7, 13090 Aix-en-Provence, FRANCE.
- Francesconi, K.A., Hunter, D.A., Bachmann, B., Raber, G., Goessler, W., 1999. Article first published online: Uptake and transformation of arsenosugars in the shrimp *Crangon crangon*, *Applied Organometallic Chemistry*, 13, 10-18.
- Franklin, Natasha, M., Stauber, Jennifer, L., Markich, Scott, J., 2000. Dependent Toxicity of Copper and Uranium to a Tropical Freshwater Algae (*Chlorella sp.*). *Aquatic Toxicology.*, 48: 275- 289.
- Gadd, G. M., 1988. Accumulation of Metals by Microorganisms and Algae, in "Biotechnology" 60: 401- 434.
- Garbisu, C., Alkorta, I., 2003. Basic Concepts on Heavy Metal Soil Bioremediation. *Eur J Min Proc Environ Protect.* 13:58–66.
- Garnham, G. W., Codd, G. A., Gadd, G. M., 1992. Kinetics of Uptake and Intracellular Location of Cobalt, Manganese and Zinc in the Estuarine Green Algae *Chlorella salina*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 37: 270- 276.
- Gekeler, W., Grill, E., Winnacker, Zenk, M.H., 1988. Algae sequester heavy metals via synthesis of phytochelatin complexes, *Arch. Microbiol.*, 150,197–202.
- Geneva, 1996. "Trace Elements In Human Nutrition and Health", World Health Organization.
- Gensemer, R.W., 1991. The effects of pH and aluminum on the growth of the acidophilic diatom *Asterionella ralfsii var. americana*, *Limnol. Oceanogr.*, 36, 123-131.

- Genter, RB, 1996. Ecotoxicology of Inorganic Stresses. Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems., 403- 468.
- Greger, M., Tillberg, J. E., Johansson, M., 1992. Aluminum effects on *Scenedesmus obtusiusculus* with different phosphorus status. II. Growth, photosynthesis and pH, *Physiol. Plant.*, 84, 202-208.
- Grill, E., Winnacker, E. L., Zenk, M. H., 1985. Phytochelatins: The Principal Heavy Metal Complexing Peptides of Higher Plants. *Science.*, 230 (4726): 674- 676.
- Guerin-Dumartrait, E., 1976. Moyse, A., Caracteristiques biologiques des Spirulines, *Ann. Nutr. Alim.*, 30, 489-496.
- Gupta, S.L., 1989. Interactive effects of nitrogen and copper on growth of cyanobacterium *Microcystis*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 42, 270-275.
- Gupta, V., Shrivastava, A., Jain, N., 2001. Biosorption of chromium (VI) from aqueous solution by green algae *Spirogyra* species. *Water research.*, 35, 4079-4085.
- Güler, Ç., 1997. Su kalitesi, syf. 60-61
- Habashi, F., 1997. "Handbook of Extractive Metallurgy", Vol. 2, WILEY-VCH, Germany.
- Halliwell, B, Gutteridge, J. M. C., Cross, C.E.,1992. Free Radicals,Antioxidants And Human Disease: Where Are We Now? *J Lab Clin Med* 119: 598-620.
- Hilmi, Ş., 1994. Oksidanlar ve antioksidanlar, *THTDrg*, 48,44-49.
- Hodson, P.V., 1988. The effect of metal metabolism on uptake, disposal and toxicity in fish. *Aquatic Toxicology.*, 11, 3-18.
- Holan, Z.R., Volesky, B., 1994. Biosorption of lead and nickel by biomass of marine algae, *Biotechnol. Bioeng.*, 43, 1001-1009.
- <http://www.healthy.net/>, Erişim Tarihi: 17.01.2016.
- <http://www.nkfu.com/kalay-nedir-kalay-elementinin-ozellikleri/>, Erişim Tarihi: 26.07.2015.
- <https://tr.wikipedia.org/wiki/>, Erişim Tarihi: 17.04.20015.
- Hu, H., 2000. Exposure to metals. *Occupational and Environmental Medicine*, 27, 983-996.
- Hurst, R., Bao, Y., Jemth, P., Mannervi, B., Williamson, G., 1997. Phospholipid Hydroperoxide Glutathione Peroxidase Activity of Rat Class Theta Glutathione Transferase T2-2. *Biochem. Soc. Trans.*, 25, S559.

- Irmer, U., Wachholz, I., Schafer, H., Lorch, D. W., 1986. Influence of Lead on *Chlamydomonas reinhardtii* Danegard (Volvocales, Chlorophyta), Toxicity and Ultrastructural Changes. *Environmental and Experimental Botany*, 26: 97- 105.
- Jornnot, L., Petersen, H., Junod, A.F., 1998. *Biochem J*, 335: 85-94.
- Kahvecioğlu, Ö., , Kartal, G., Güven, A., Timur, S., 2003. Metallerin Çevresel Etkileri. *Metallurji dergisi*. Sayı: 136.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S., 2004. Metallerin Çevresel Etkileri –I, II, III, İTÜ Metallurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü syf.2.
- Kayhan, F. E., Muşlu, M. N., Koç, N. D., 2009. Bazı ağır metallerin sucul organizmalar üzerinde yarattığı stres ve biyolojik yanıtlar. *Journal of Fisheries Science*, 3(2), 153-162.
- Kazanç, M.B., 1997. Antioksidan Vitaminler. *Sendrom*, Temmuz; 14-22.
- Keleş, F., 1992. Antioksidan vitaminlerin Sağlığa Etkileri. *Gıda Sanayii*, Sayı:50; 49-51.
- Klerks, P. L., Fraleigh, P. C., 1997. Uptake of nickel and zink by the Zebra Mussel *Dreissenia polymorpha*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 32, s, 16-17.
- Klerks, P.L., Weis, J.S., 1987. Genetic adaptation to heavy metals in aquatic organisms: A review, *Environ. Pollut.*, 45, 173-205.
- Kuchler, W., Verlag, C. H., 1986. “Chemische Technology”, Band 4, Wien, ISBN 3-446-13182-5.
- Kürkçü, Y., 2001. Kurşun nitrat (Pb(NO₃)₂) metal tuzunun *Lepistes (Poecilia reticulata)* üzerindeki akut toksik etkisinin araştırılması ve davranış değişimlerinin incelenmesi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eylül, Ankara .s, 5-6.
- Li, M., Hu, C., Zhu, Q., Chen, L., Kong, Z., Liu, Z., 2006. Copper and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in the microalga *Pavlova viridis* (Prymnesiophyceae), *Chemosphere*, 62, 565–572.
- Livingstone D.R., 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms, *Mar. Pollut. Bull.*, 42,656–66.
- Mallick, N., 2004. Copper- Induced Oxidative Stress in the Chlorophycean Microalga *Chlorella vulgaris*: Response of the Antioxidant System. *J. Plant Physiol.*, 161: 591- 597.
- Mamnoya, F., Pratap, H. B., Mtolera, M., Bjork, M., 2001. The effect of copper on the daily growth rate and photosynthetic efficiency of the brown macroalgae *Padina boergesenii* in: Richmond, M. D. and Francis, J. (Eds) *Marine Science*. Tanzania. s 185-192.

- Manav, E., 2004. Laboratuvar çaplı fotobiyoreaktörlerde siyanobakteri/mikroalglerin biyokütle ve metabolit üretimine etki eden parametrelerin incelenmesi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Mason, A. Z., Jenkins, K. D., 1995. Metal Detoxification in Aquatic Organisms, in: TESSIER, A., TURNER, D. R. (Eds.), Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England. 479- 608.
- Massacci, A., Lannelli, M. A., Pietrini, F. Loreto, F., 1995, The effect of growth at low temperature on photosynthetic characteristics and mechanisms of photoprotection of maize leaves, *Journal of Experimental Botany*, 46, 119- 127.
- Mehta, S. K., Gaur, J. P., 1999. Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytol.*, 143, 253-259.
- Mills ,E.M., Takeda, K., Yu, Z.X., 1998. *Biol Chem*, 273: 22165-8.
- Morelli, E., Scarano, G., 2004. Copper-induced changes of non-protein thiols and antioxidant enzymes in the marine microalga *Phaeodactylum tricorutum*, *Plant Science*, (167) 289- 296, doi: 10.1016/j.plantsci.2004.04.001
- Nagalakshmi, N., Prasad, M.N.V., 2001. Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedesmus bijugatus*, *Plant Sci.*, 160, 291–9.
- Nalimova, A.A., Popova, V.V., Tsoglin, L.N., Pronina, N.A., 2005. The Effects of copper and zinc on *Spirulina platensis* growth and heavy metal accumulation in its cells, *Russian Journal Of Plant Physiology* Vol. 52 No. 2.
- Nyholm, N., Kallqvist, T., 1989. Methods for growth inhibition toxicity tests with freshwater algae, *Environ. Toxicol. Chem.*, 8, 689-703.
- O’Connell, D.W., Birkinshaw, C., O’Dwyer, T.F., 2008. Heavy metal adsorbents prepared from the modification of cellulose: A Review, *Bioresource Technology* 99, 6709-6724.
- Okamoto, O. K., Asano, C.S., Aidar, E., Colepicolo, P., 1996. Effects of cadmium on growth and superoxide dismutase activity of the marine microalga *Tetraselmis gracilis*, *J. Phycol.*, 32, 74–9.
- Okamoto, O.K., Pinto, E., Latorre, L.R., Bechara, E.J.H., Colepicolo, P., 2001a. Antioxidant modulation in response to metal-induced oxidative stress in algal chloroplasts, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 40,18–24.
- Okamoto, O.K., Robertson, D.L., Fagan, T.F., Hastings, J.W., Colepicolo, P., 2001b. Different regulatory mechanisms modulate the expression of a dinoflagellate iron-superoxide dismutase, *J. Biol. Chem.*, 276,89–93.

- Öner, M., 1987. Mikrobial Ekoloji. Ege Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kitaplar Serisi No: 100, 273,274.
- Özata, A., Kıvanç, M., Kılıç, A.Y., 1999. Canlılar ve Çevre. Biyoloji, Açıköğr. Fak. Yay. No: 599, 259s.
- Özbek, H., Kaya, Z., Gök, M., Kaplan, H., 1995. Toprak Bilimi Genel Yayın No: 73, Ziraat Fakültesi Adana, s, 816.
- Patra, M., Bhowmik, N., Bandoadhyay, A., 2004. Comparison of mercurry, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the 56 development of genetic tolerance. *Environmental And Experimental Botany.*, 52, 199-223.
- Pawlik, B., Skowronska, B., 2001. Phytochelatin Production in Freshwater Algae *Stigeoclonium* in Response to Heavy Metals Contained in Mining Water; Effects of Some Environmental Factors. *Aquat. Toxicol.*, 52(3- 4): 241- 249.
- Pawlik, B., Skowrofiski, T., 1994. Transport and toxicity of cadmium: Its regulation in the cyanobacterium *Synechocystis aquatilis*, *Environ. Exp. Bot.*, 34, 225-233.
- Pempkowiak, J., Kosakowska, A., 1998. Accumulation of cadmium by green algae *Chlorella vulgaris* in the presence of marine humic substances, *Environ. Int.*, 24,583–588.
- Perrez-Marin, A.B., 2007. Removal of cadmium from aqueous solutions by adsorption onto orange waste. *J. Hazard. Mater.* 136 (1), 122-131.
- Pettersson A., Bergman, B., 1985. Physiological and structural responses of the cyanobacterium *Anabaena cylindrica* to aluminium, *Physiol. Plant.*, 63, 153-158.
- Phillips, D.I.H., 1995. Bioaccumulation in: *Handbook of Ecotoxicology*, Blackwell Science, Oxford., 1, 378-396.
- Pierzynski, G. M., A. P., 1992. Reducing heavy metal availability to soybeans grown on a metal contaminated soil. pp. 543-553.
- Pillsburry R., Kingston, J.C., 1990. The pH-independent effect of aluminum on cultures of phytoplankton from an acidic Wisconsin lake, *Hydrobiologia*, 194, 225-233.
- Pinto, E., Sigaud-Kutner, T.C.S., Leitao, M.A.S., Okamoto, O.K., Morse, D., Colepicolo, P., 2003. Heavy metal-induced oxidative stress in algae. *J. Phycol.*, 39, 1008-1018.
- Prasad, M.N.V., 2004. *Heavy Metal Stress in Plant: from biomolecules to ecosystems*. 2nd edn. Springer-Verlag, Heidelberg, Narosa, New Delhi, 462s.

- Priya, B., Premanandh, J., Dhanalakshmi, R.T., Seethalakshmi, T., Uma, L., Prabakaran, D., Subramanian, G., 2007. Comparative analysis of cyanobacterial superoxide dismutases to discriminate canonical forms, *BMC Genomics*, 8, 435.
- Pronina, N. A., Kovshova, Y. I., Popova, V. V., Lapin, A. B., Alekseevan, Quinlan G.J., 1988. Halliwell B., Moorhouse C.P., Gutteridge J.M.C., Action of lead (II) and aluminium (III) ions on ironstimulated lipid peroxidation in liposomes, erythrocytes and rat liver microsomal fractions, *Biochim. Biophys. Acta*, 962, 196–200.
- Rai, L. C., Gaur, J. P., Kumar, H. D., 1981. *Phycology and Heavy- Metal Pollution*. Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc., 56: 99- 151.
- Rai, U.N., Tripathi, R.D., Kumar, N., 1992. Bioaccumulation of chromium and toxicity on growth, photosynthetic pigments, photosynthesis, in vivo nitrate reductase activity and protein content in a chlorococcalean green alga *Glaucozystis*, *Chemosphere*, 25, 1721-1732.
- Ralph, P. J., Burchett, M. D., 1998. Photosynthetic Response of *Halophila ovalis* to Heavy Metal Stress. *Environmental Pollution* 103: 91- 101.
- Rauser, W. E., 1999. Structure and functions of metal chelators produced by plants. The case for organic acids, aminoacids, phytin and metallothioneins, *Cell Biochem*.
- Rayman, M.P., 2000. The Importance of Selenium to Human Health. *Lancet* 356, 233-241.
- Redddar, Z., Gerente, C., Andres, Y., Thibault, J.F., Le Cloirec, P., 2003. Cadmium And Lead Adsorption By A Natural Polysaccharide In MF Membrane Reactor: Experimental Analysis And Modelling. *Water Res.* 335 (13), 959-967.
- Rennenberg, H., 1995. Processes involved in glutathione metabolism, in: R.M. Wallsgrave (Ed.), *Amino Acids and their Derivatives in Plants – Biosynthesis and Metabolism*, Cambridge University Press, Cambridge, 155–171.
- Rennenberg, H., Brunold, C., 1994. Significance of glutathione metabolism in plants under stress, *Prog. Bot.* 55, 142–156.
- Richmond, A., 1986. Outdoor Mass Cultures of Microalgae. In: Richmond A (ed.), *Handbook of Microalgal Mass Culture*. CRC Press, Boca-Raton, Fl, 285–330.
- Rijstenbil, J.W., Derksen, J.W.M., Gerringa, L.J.A., Poortvliet, T.C.W., Sandee, A., Vanderberg, M., Vandire, J., Wijnholds, J.A., 1994. Oxidative stress induced by copper: Defense and damage in the marine planktonic diatom *Ditylum brightwellii* grown in continuous cultures with high and low zinc levels, *Mar. Biol.* (Berlin), 119, 583-590.
- Robinson, N.J., 1989. Algal metallothioneins: secondary nietabolites and proteins, *J Appl Phycol*, 1, 5-18.

- Round, F. E., 1973. The Biology of Algae, 2nd. Ed., Edward Arnold, London. p, 9-10.
- Sağlam, N., Cihangir, N., 1995. Ağır metallerin biyolojik süreçlerle biyosorbsiyon çalışmaları, Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi 11, 157-161.
- Saint- Louis, R., Pelletier, E., Marsot, P., Fournier, R., 1994. Distribution et Effects du Chlorure de Tributyletain et de ses Produits de Degradation sur la Croissance de L'algue Marine Pavlova lutheri en Culture Continue. Water Res., 28: 2533-2544.
- Sandau, E., Pulz, O., 1996. Acta Biotechnologica Heavy metal sorption by microalgae, Acta Biotechnol., 16, 227-235.
- Sgherri, C. L. M., Loggini, B., Puliga, S., Navari-Izzo, F., 1994. Antioxidant system in *Sporobolus stapfianus*: changes in response to desiccation and rehydration, Phytochemistry, 35(3), 561-565.
- Shehata, A.S., Lasheen, M. R., Ali, G.H., Kobbia, I. 1999. A., Toxic Effect of Certain Metals Mixture on Some Physiological and Morphological Characteristics of Freshwater Algae, Water, Air, and Soil Pollution, 110, 119-135.
- Sing, S., Rai, B., Rai, L., 2001. Ni (II) and Cr (VI) Sorption Kinetics by microcystis in single and multimetallic system process Biochem. 36, 1205-1213.
- Sipiroponadulsil, S., Traina, S., Verma, D.P., Sayre, R.T., 2002. Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. Plant Cell., 14, 2837-2847.
- Smirnoff, N., 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation, New Phytol., 125, 27-58.
- Solisio, C., Lodi, A., Soletto, D., Converti, A., 2008. Cadmium biosorption on *Spirulina platensis* biomass, Bioresource Technology 99, 5933-5937.
- Sotol, P., Gaetel, H., Hidalgo, M. E., 2001. Assessment of catalase activity, lipid peroxidation, chlorophyll-*a*, and growth rate in the freshwater green algae *Pseudokirchneriella subcapitata* exposed to copper and zinc, Latin American Journal of Aquatic Research, 280- 285, doi: 10.3856/vol39-issue2
- Srivastava, A., Bhargava, P., Rai, L., 2005. Salinity and copper-induced oxidative damage and changes in the antioxidative defence systems of *Anabaena doliolum*. Microbiol. Biotech., 21, 1291-1298.
- Stevenson, R., Bothwell, L., Lowe, L., 1996. Algal Ecology, Freshwater Benthic Ecosystems, 3-30.
- Surosz, W., Palinska, K. A., 2004. Effects of heavy metal stress on cyanobacterium *Anabaena flos-aquae*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 48, 40-48.

- Sze P., 1986. A Biology of the Algae, Wm. C. Brown, Dubuque, Iowa.
- Şanlı, Y., 1976. Su ürünlerinin civa ile kirlenmesi ve ortaya çıkan sağlık sorunları. A.Ü.Vet.Fak.Dergisi. 23, (1-2), 186-200.
- Takeda, T., Nakano, Y., Shigeoka, S., 1993. Effects of selenite, CO₂ and illumination on the induction of selenium-dependent glutathione peroxidase in *Clamdomonas reinhardtii*, Plant Sci., 94, 81-88.
- Taylan, S.Z., 2005. *Phaeodactylum tricornutum* ve *Dunaliella tertiolecta* tarafından metal biyokullanımı, biyobirikimi ve toksisite değerlendirmesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Taylan, Z. S., Özkoç, H. B., 2007. Potansiyel ağır metal kirliliğinin belirlenmesinde akuatik organizmaların biokullanılabilirliği. BAÜ FBE Dergisi, Cilt:9, Sayı:2, 17-33.
- Thurman, D.A., 1981. Mechanism of metal tolerance in higher plants. In: Effect of heavy metal pollution on plants. LEPP, N:V: (Ed.) Applied science publishers, London, England, 239-249.
- Tripathi, B. N., Meththa, S. K., Amar, A., Gaur, J. P., 2006. Oxidative stress in *Scenedesmus* sp. during short- and long-term exposure to Cu²⁺ and Zn²⁺, Chemosphere, (62) 538-544, doi: 10.1016/j.chemosphere.2005.06.031
- Urso, M.L., Clarkson, P.M., 2003. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation, Toxicology, 189, 41-54.
- Valentine, J.S., Wertz, D.L., Ltons, T.J., Liou, L.L., Goto, J.J., Gralla, E.B., 1998. The dark side of dioxygen biochemistry Current Opinion in Chemical Biology, 2, 253-262.
- Wahbeh, M. L., 1984. Levels of Zinc, Manganese, Iron and Cadmium in Three Species of Seagrasses from Aqaba (Jordan). Aquatic Botany, 20: 179- 183.
- Wang, J., Xie, P., 2007. Antioxidant enzyme activities of *Microcystis aeruginosa* in response to nonylphenols and degradation of nonylphenols by *M.aeruginosa* Environ Geochem Health, 29:375-383, DOI 10.1007/s10653-007-9081-5
- Wang, S. Y., Jiao, H., Fausth, M., 1991. Changes in ascorbate, glutathione and related enzyme activity during thidiazuron-induced bud break of apple, Plant Physiology, 82, 231-236.
- Wang, S., Shi, X., 2001. Molecular mechanisms of metal toxicity and carcinogenesis. Mol. Cell Biochem. 222, 3-9.
- Wanh, W-X., Dai, R. C. H., 2001. Influences of Phosphate and Silicate on Cr (VI) and Se (IV) Accumulation in Marine Phytoplankton. Aquatic Toxicology, 52: 39- 47.

- Ward, T. J., 1989. The Accumulation and Effects of Metals in Seagrass Habitats in: Larkum, A. W. D., McComb, A. J., Shepherd, S. A., (Eds.), *Biology of Seagrasses: A Treatise on the Biology of Seagrasses with Special Reference to the Australian Region*. Elsevier, New York. 797- 820.
- Wei, Y.H., Pang C.Y., 2005. The Role of Mitochondria in human aging process. *Biotech International*, 17: 8-13.
- Wong, P. K., Chang, L., 1991. Effects of Copper, Chromium and Nickel on Growth, Photosynthesis and *Chlorophyll a* Synthesis of *Chlorella pyrenoidosa* 251. *Environmental Pollution*. 72: 127- 139.
- Wood, J.M., Wang, H.E., 1985. Strategies for microbial resistance to heavy metals, *Chemical Processes in Lakes*, ed: Stumm V., Wiley, Pp: 81-98.
- Wu, T. M., Lee T. M., 2008. Regulation of activity and gene expression of antioxidant enzymes in *Ulva fasciata* Delile (Ulvales, Chlorophyta) in response to excess copper. *Phycologia*, 47: 346-360.
- Xylander, M., Braune, W., 1994. Influence of nickel on the green alga *Haematococcus lacustris* Rostafinski in phases of its life cycle, *J. Plant Physiol.*, 144, 86-93.
- Yang, S., Rudolf, S. S. Wu, K., Richard Y. C., 2002. Physiological and Cytological Responses of The Marine Diatom *Skeletonema costatum* to 2,4- Dichlorophenol. *Aquatic Toxicology*., 60: 33- 41.
- Yılmaz, A.B., Toker, T., Sayın, S., Doğanay, G., 2006. *Spirulina platensis* (Cyanophyta) "in gelişimine selenyum"un etkisi, Mustafa Kemal Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, s, 2-3.
- Yu, Q., Matheickal, J. T., Yin, P., Kaewsarn, P., 1998. Heavy Metal Uptake Capacities of Common Marine Macro Algal Biomass. *Wat. Res.*, 33: 1534- 1537.
- Zamocky, M., Furtmuller, P.G., Obinger, C., 2008. Evolution of catalases from bacteria to humans, *Antioxidants and Redox Signaling*, 10, 1527–1548.
- Zengin, F.K. ve Munzuroğlu, Ö., 2004. Effects of lead (Pb) and copper (Cu) on the growth of root, shoot and leaf of bean (*Phaseolus vulgaris*) seedlings. *G.U. J. Sci.*, 17, 1-10.
- Zhang, W. X., Majidi, V., 1994. Monitoring the Cellular Response of *Stichococcus bacillaris* to Exposure of Several Different Metals Using *in vivo* P- 31 NMR and Other Spectroscopic Techniques. *Environ. Sci. Technol.* 28: 1577- 1581. 199-223.

ÖZGEÇMİŞ

Burçin Önem, 13.04.1991'de İstanbul Üsküdar'da doğdu. İlk ve orta eğitimini İstanbul Pendik'te, lise eğitimini ise İstanbul Tuzla'da tamamladı. 2005 yılında Pendik Gülizar ve Zeki Lisesinden mezun oldu. 2009 yılında başladığı Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü 2013 yılında, bölüm ikinciliği ile bitirdi. 2013 yılında Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümünde Yüksek Lisans eğitimine başladı. Şu anda Yüksek Lisans eğitimine devam etmektedir.