

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özge ÖZDİŞ

**KROM (VI) BİRİKİMİNİN *Chlorella vulgaris*'TE HÜCRE SAYISI,
KLOROFİL, BÜYÜME HIZI, PROTEİN VE ŞEKER MİKTARLARINA
ETKİLERİ**

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2005

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KROM (VI) BİRİKİMİNİN *Chlorella vulgaris*'TE HÜCRE SAYISI,
KLOROFİL, BÜYÜME HIZI, PROTEİN VE ŞEKER MİKTARLARINA
ETKİLERİ**

Özge ÖZDİŞ

YÜKSEK LİSANS

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Bu tez 18 / 08 / 2005 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.**

İmza.....

İmza.....

İmza.....

Doç.Dr.Saadet SAYGIDEĞER
DANIŞMAN

Prof.Dr.Cahit ERDEM
ÜYE

Yrd.Doç.Dr.Fatma ÇEVİK
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
Desteklenmiştir.

Proje No: FBE.2005.YL.13

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların
kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS

KROM (VI) BİRİKİMİNİN *Chlorella vulgaris*'TE HÜCRE SAYISI, KLOROFİL, BÜYÜME HIZI, PROTEİN VE ŞEKER MİKTARLARINA ETKİLERİ

Özge ÖZDİŞ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Doç.Dr. Saadet SAYGIDEĞER
Yıl: 2005, Sayfa: 101

Jüri : Doç.Dr. Saadet SAYGIDEĞER
Prof.Dr. Cahit ERDEM
Yrd.Doç.Dr. Fatma ÇEVİK

Bu araştırmada, 0.1, 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde krom (VI) içeren ortama 9 gün süreyle bırakılan *Chlorella vulgaris* hücreesindeki krom (VI)'nın birikimi ve krom (VI)'nın *C. vulgaris*'in biyokonsantrasyon faktörleri (BKF), hücre sayısı, büyüme hızı, protein, şeker, klorofil a, klorofil b ve pH üzerine etkisi incelenmiştir.

Çalışmada krom (VI) birikimi, BKF, hücre sayımı, klorofil a, b ve pH analizleri her gün; protein ve şeker analizleri 1, 3, 6 ve 9. günlerde yapılmıştır. Denenen tüm koşullarda *C. vulgaris*'teki krom (VI) birikimi, süreye ve ortam derişimlerine bağılı olarak artmıştır. BKF değerleri, 10 ve 25 mg/L'lik derişimler hariç diğer derişimlerde 1'in üstüne çıkmıştır. Krom (VI) etkisinde, *C. vulgaris*'te hücre sayısı, büyüme hızı, klorofil a, klorofil b miktarları azalmıştır. Bu prosesler üzerine krom (VI)'nın toksik etkisinin düşük derişimlere (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Araştırmada, *C. vulgaris*'in fizyolojik ve biyokimyasal prosesleri üzerine krom (VI)'nın toksik etkisinin algdeki krom (VI) birikimiyle doğrudan ilişkili olduğu, algdeki krom (VI) birikimi artıkça bu proseslerdeki inhibisyonun arttığı belirlenmiştir. Ortamın pH'ı da krom (VI)'nın derişimine bağılı olarak azalmıştır.

Araştırmada, *C. vulgaris*'in krom (VI)'ya oldukça hassas olduğu ve ortamdaki krom (VI)'nın toksik etkisini değerlendirmek için biyoindikatör bir tür olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Krom (VI), *Chlorella vulgaris*, alg, fizyolojik etki, biyokimyasal etki

ABSTRACT

MSc THESIS

THE EFFECTS OF ACCUMULATION OF CHROMIUM (VI) ON CELL NUMBER, CHLOROPHYLL, GROWTH RATE, PROTEIN AND SUGAR CONTENTS OF *Chlorella vulgaris*

Özge ÖZDİŞ

DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor: Assoc.Prof.Dr. Saadet SAYGIDEĞER
Year: 2005, Pages: 101

Jury : Assoc.Prof.Dr. Saadet SAYGIDEĞER
Prof.Dr. Cahit ERDEM
Assist. Prof.Dr. Fatma ÇEVİK

Accumulation of chromium (VI) in *Chlorella vulgaris* and the effects of chromium (VI) on bioconcentration factors (BCF), cell number, growth rate, protein, sugar, chlorophyll-a, chlorophyll-b and pH of *Chlorella vulgaris* were investigated over nine days period at concentrations of 0.1, 1, 5, 10, 25 and 50 mg/L.

The analysis of chromium (VI) accumulation, BCF, cell numbers, chlorophyll a and b and pH were determined each day, protein and sugar contents were determined at 1, 3, 6 and 9 days. BCF rates were over 1 at all concentrations except 10 and 25 mg/L. Cell number, growth rate, chlorophyll-a and b, protein and sugar contents decreased under chromium (VI) exposure. The toxic effects of chromium (VI) on these processes were observed at high medium concentrations (10, 25 and 50 mg/L) rather than at low medium concentrations. (0.1, 1 and 5 mg/L)

It was determined that chromium (VI) effects on physiological and biochemical of *C. vulgaris* were directly related with chromium (VI) accumulation by the algae and inhibition in this process increased with increasing of chromium (VI) accumulation in the algae. pH of medium decreased due to chromium (VI) concentrations too.

It was determined that *C. vulgaris* was rather sensitive to chromium (VI) and it can be used as bioindicator to assess the effects chromium (VI) toxic in medium

Key Words: Chromium (VI), *Chlorella vulgaris*, algae, physiological effect, biochemical effect.

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde ve tez çalışmalarım esnasında büyük yardımlarını ve desteğini gördüğüm danışman hocam sayın Doç. Dr. Saadet SAYGIDEĞER'e içtenlikle teşekkür ederim. Deneysel analizlerimi kendi laboratuvarında yapma imkanı sağlayan ve ilgi ve desteklerini benden esirgemeyen Fizik Bölümü Öğretim Üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. Cebrail GÜMÜŞ'e teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım esnasında bilgileri ve yardımlarından faydalandığım, her zaman ilgi ve desteklerini gördüğüm Uzman Biyolog Özgür FIRAT ve Uzman Biyolog Osman GÜLNAZ'a içtenlikle teşekkür ederim.

Yine çalışmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı Uzman Biyolog Özlem OKKAY, Araş. Gör. Hikmet Y. ÇOĞUN, Biyolog Uğur KARADUMAN, Dr. Muhittin DOĞAN ve Biyolog Nurşen YILDIRIM'a da teşekkür ederim.

Çocukları olmaktan her zaman onur duyduğum ve sadece tez çalışmamda değil diğer zamanlarda da büyük yardım ve desteklerini gördüğüm sevgili annem Ayten ÖZDİŞ ve babam Hüseyin ÖZDİŞ'e ve diğer değerli aile üyelerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarımızı maddi olarak destekleyen Ç. Ü. Araştırma Fonuna da teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
1.GİRİŞ	1
1.1. Ağır Metaller.....	1
1.1.1. Ağır Metallerin Biyolojik Bulunurluluğu, Alınım Biyolojisi ve Toksisitesi.....	2
1.1.2. Ağır Metallerin Sınıflandırılması.....	4
1.2. Alglerde Ağır Metal.....	4
1.2.1. Metallerin Adsorpsiyonu ve Alınımı.....	6
1.2.2. Metallerin Birikim Bölgeleri.....	7
1.2.2.1. Hücre Yüzeyleri.....	7
1.2.2.2. Organeller ve Hücre Altı Bileşenleri.....	7
1.2.3. Biyomonitöring ve Biyokonsantrasyon Faktörü.....	8
1.2.4. Algler Üzerine Ağır Metal Stresinin Etkileri.....	8
1.2.4.1. Hücreye Etkileri.....	9
1.2.4.1.(1). Enzim Aktivitesi ve Metabolik Yollar.....	9
1.2.4.1.(2). Fotosentez.....	9
1.2.4.1.(3). Pigmentler.....	9
1.2.4.1.(4). Biyolojik Makromoleküller.....	10
1.2.4.1.(5). Büyüme ve Yoğunluk.....	10
1.2.4.2. Tolerans Mekanizmaları.....	10
1.3. Krom.....	11
1.3.1 Krom Tayininde Kullanılan Analitik Metotlar.....	12
1.3.2. Krom Alınımı, Translokasyonu ve Birikimi.....	13
1.3.2.1. Mikrobiyal Krom Transportu ve Birikimi.....	14

1.3.2.2. Bitkilerde Krom Transportu ve Birikimi.....	15
1.3.3. Kromun Canlılar Üzerine Toksik Etkileri.....	15
1.3.3.1. Mikroorganizmalar Üzerine Toksik Etkisi.....	16
1.3.3.2. Bitkiler Üzerine Etkisi.....	17
1.3.3.2.(1). Büyüme ve Gelişme Üzerine Etkisi.....	18
1.3.3.2.(2). Fotosenteze Etkisi.....	18
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	20
3. MATERYAL ve METOD.....	28
3.1. Materyal.....	28
3.1.1. Kullanılan Materyal.....	28
3.1.1.1. <i>Chlorella vulgaris</i>	28
3.1.2. Kullanılan Çözeltiler.....	29
3.2. Metot.....	30
3.2.1. Deney Ortamı.....	30
3.2.2. Krom Analizi.....	32
3.2.3. Biyokonsantrasyon Faktörleri (BKF).....	32
3.2.4. Hücre Sayımı.....	32
3.2.5. Büyüme Hızı.....	32
3.2.6. Protein Analizi.....	33
3.2.7. Şeker Analizi.....	33
3.2.8. Pigment Analizi.....	33
3.2.9. pH Analizi.....	34
3.2.10. İstatistiksel Hesaplamalar.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Krom Birikimi.....	35
4.2. BKF Değerleri.....	39
4.3. Hücre Sayımı.....	43
4.4. Büyüme Hızı Değerleri.....	47
4.5. Protein Miktarları.....	49
4.6. Şeker Miktarları.....	53
4.7. Pigment Miktarları.....	58

4.7.1. Klorofil a Miktarları.....	58
4.7.2. Klorofil b Miktarları.....	62
4.8. pH Değerleri.....	65
5. TARTIşMA VE SONUÇ.....	69
KAYNAKLAR.....	70
ÖZGEÇMİş.....	101

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1.	Krom elementinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	13
Çizelge 3.1.	Kullanılan materyallerin sistematığı.....	28
Çizelge 3.2.	<i>C. vulgaris</i> ' in kimyasal kompozisyonu.....	29
Çizelge 3.3.	Jaworsky besin çözeltisi.....	30
Çizelge 3.4.	Protein analizi pipetleme tablosu.....	33
Çizelge 4.1.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'te farklı ortam derişimlerine ve günlere bağlı krom birikimi.....	38
Çizelge 4.2.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in krom etkisinde BKF miktarının günlere ve derişimlere bağlı değişimi.....	42
Çizelge 4.3.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in krom etkisinde günlere ve derişimlere bağlı hücre sayısı değişimi.....	46
Çizelge 4.4.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in krom etkisinde günlere ve derişimlere bağlı büyüme hızı değerleri.....	48
Çizelge 4.5.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in protein miktarının krom etkisinde günlere ve derişimlere bağlı değişimi.....	52
Çizelge 4.6.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in krom etkisinde şeker miktarının günlere ve derişimlere bağlı değişimi.....	57
Çizelge 4.7.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in krom etkisinde klorofil-a miktarının günlere ve derişimlere bağlı değişimi.....	60
Çizelge 4.8.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in krom etkisinde klorofil-b miktarının günlere ve derişimlere bağlı değişimi.....	63
Çizelge 4.9.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in krom etkisinde pH miktarının günlere ve derişimlere bağlı değişimi.....	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1.	<i>Chlorella vulgaris</i>	28
Şekil 3.2.	Deney ortamı.....	31
Şekil 4.1.	Krom derişimi ve absorbands arasındaki doğrusal ilişki.....	35
Şekil 4.2.	<i>C. vulgaris</i> 'te farklı ortam derişimlerine ve günlere bağlı krom birikimi.....	39
Şekil 4.3.	<i>C. vulgaris</i> 'te krom etkisinde günlere ve derişimlere bağlı BKF değerleri.....	43
Şekil 4.4.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in günlere ve farklı krom derişimlerine bağlı hücre sayısı.....	47
Şekil 4.5.	<i>C.vulgaris</i> 'in farklı krom derişimlerine bağlı büyüme hızı değerleri.....	49
Şekil 4.6.	Protein derişimi ve absorbands arasındaki doğrusal ilişki.....	50
Şekil 4.7.	<i>C. vulgaris</i> 'te krom derişimlerine ve günlere bağlı protein miktarları.....	53
Şekil 4.8.	Şeker derişimi ve absorbands arasındaki doğrusal ilişki.....	54
Şekil 4.9.	<i>C. vulgaris</i> 'te farklı krom derişimlerine ve günlere bağlı şeker miktarları.....	58
Şekil 4.10.	<i>C. vulgaris</i> 'in krom etkisinde klorofil-a miktarının günlere ve derişimlere bağlı değişimi	61
Şekil 4.11.	<i>C. vulgaris</i> 'in krom etkisinde klorofil-b miktarının günlere ve derişimlere bağlı değişimi.....	64
Şekil 4.12.	<i>C. vulgaris</i> 'in krom etkisinde pH değerlerinin günlere ve derişimlere bağlı değişimi.....	68

1. GİRİŞ

1.1. Ağır Metaller

Günümüzde çevreye verilen toksik maddeler doğanın ekolojik dengesini bozacak düzeye ulaşmıştır. Antropojenik aktivitelerin yoğun olduğu kentsel alanlardan ve çeşitli endüstri kuruluşlarından ortama yayılan toksik maddeler çevre kirliliğine neden olmaktadır. Meydana gelen bu kirliliğin önemli kaynaklarından birini de ağır metaller oluşturmaktadır.

Ağır metaller, yoğunlukları 5 g/cm^3 'den büyük olan elementlerin oluşturduğu bir grup olarak tanımlanmakta ve bu kategoriye giren yaklaşık 40 kadar elementten oluşmaktadır (Srivastav ve ark., 1994; Zenk, 1996). Cu, Zn, Cd, Pb, Hg, Ni, Co ve As gibi bu sözü edilen ağır metaller, endüstriyel aktiviteler, atık su deşarjları ve asit yağmurlarıyla su ekosistemlerine girmektedirler (Moiseenko ve Kudryavtseva, 2001). Su ortamlarına giren bu metaller, besin zincirinde birikebilmekte ve ekolojik zararlara neden olmakta ve hatta insan sağlığını tehdit edebilmektedirler (Grimanis ve ark., 1978; Adams ve ark., 1992; Ermosele ve ark., 1995). Bir çok insan hastalıklarının artan ağır metal kirliliğiyle ilişkili olduğu zaten bilinmektedir; örneğin, Hg nörolojik etkilere, Cd ve Pb kanserojenik etkilere, Sr kemik dokularında patolojiye ve Cu ise anemiye neden olmaktadır (Kovalsky, 1974; Alabaster ve Lloyd, 1982; Foulkes, 1990; IPCS,1992). Bununla birlikte aşağıda verilen nedenlerden dolayı ortamdaki tehlikeli ağır metal düzeylerini belirlemek oldukça güçtür: 1. Çoğu metaller (Cu, Zn, Co, Sr ve Ni gibi) gerekli yani organizmada zaten doğal olarak mikro düzeylerde bulunmaktadır. 2. Metalle zehirlenme hem metalin direkt toksisitesine hem de mutajenik, embriyotoksik, gonadotoksik ve kanserojenik etkilerini içeren uzun dönem biyobirikiminin sonucu olabilmesi. 3. Toksik etkilerin metalin özelliğine, metal kombinasyonlarına (yani sinerjik ve antagonistik etki) ve diğer faktörlere bağlı olabilmesidir (Moiseenko ve Kudryavtseva, 2001).

Günümüzde su ekosistemlerinin ağır metallerle kirlenmesi en kritik çevresel sorunlardan biridir (Nriagu, 1998; Silva ve ark., 1999). Bu metallerin toksisiteleri ve biyolojik bulunurlulukları hedef organizmanın türüne, metalin özelliklerine ve ortam

faktörlerine bağlıdır (Tao ve ark., 1999). Endüstriyel atıklar, evsel atıklar ve diğer kirleticilerin ortama gelişigüzel boşaltılması çevrenin kirlenmesine ve hedef organizmaların fizyolojik ve biyokimyasal aktivitelerinin olumsuz etkilenmesine neden olmaktadır.

Ağır metaller su kirliliğinin büyük bir kısmından sorumlu tutulmaktadır; çünkü dünyanın bir çok bölgesinde kritik düzeylerde buldukları saptanmıştır. Ağır metaller her zaman her yerde bulunmakta ve proteinlerin sülfidril gruplarına bağlanarak protein ve enzimlerin yapısını değiştirerek organizmaya toksik etki yapmaktadır (Hodson, 1988).

1.1.1. Ağır Metallerin Biyolojik Bulunurluluğu, Alınım Biyolojisi ve Toksisitesi

Doğal yada antropojenik kaynaklarla su ekosistemlerine giren ağır metaller, suda serbest iyon şeklinde veya inorganik ve organik anyonların çözünmüş kompleksleri şeklinde bulunmaktadır. Buna ek olarak çözünmemiş kompleks ya da organik partiküller şeklinde de bulunabilmektedirler. Bunun sonucu olarak organizmalar ağır metallerin serbest iyon şeklinde olanlarını sudan doğrudan alırken ağır metallerin bazılarını besin zinciri yoluyla bazılarını da sedimentten doğrudan aldıkları belirlenmiştir (Hodson, 1988; Klerks ve Fraleigh, 1997). Hücreler, metal iyonlarını hücre içine aktif ya da pasif taşınma ile hücre yüzeyi aracılığıyla almaktadırlar. Önce metal iyonları hücre yüzeyine difüze olur ve metale kimyasal affinite gösteren hücre yüzeyindeki bölgelere bağlanırlar. A sınıfı metaller (K, Ca, Mg gibi) esas olarak oksijen bakımından zengin ligandlara (karboksil grupları gibi), B sınıfı metaller (Hg, Pb, Pt, Au gibi) sülfür ve nitrojen bakımından zengin ligandlara (amino asitler gibi) bağlanarak, geçiş metalleri (Cd, Cu, Zn gibi) ise B sınıfı metalleri 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 içerir. Hücre içine alınan metal iyonları ise metal bağlayıcı proteinlere ya da diğer hücre içi bölgelere bağlanırlar (Dönmez ve Aksu, 2002).

Genelde ağır metal alımın kapasiteleri çalışılan türe bağlı olarak önemli farklılıklar göstermektedirler. Divalent ağır metal iyonları için rapor edilen bu değerler; bakteriler için 0,05-0,2 mmol/g, mantar ve mayalar için 0,2-0,5 mmol/g, tatlı su algleri için 0,5-1,0 mmol/g ve deniz algleri için 1-1,5 mmol/g aralığındadır (Yu ve ark., 1998). Kennish'in (1992) listesinde deniz flora ve faunası üzerine ağır metallerin göreceli toksisiteleri şöyle sıralanmıştır; Hg>Cd>Cu>Zn>Ni>Pb>Cr>Al>Co. Ağır metallerin biyolojik bulunurlulukları sedimentin katyon değiştirme kapasitesine, su ve sedimentin pH'sına, redoks potansiyeline, suyun sıcaklığına, tuzluluğuna, organik içeriğine ve diğer ağır metallerin konsantrasyonuna bağlıdır (Wahbeh, 1984; Ward, 1989).

Ortamda bulunan ağır metal iyonları canlılar için oldukça toksiktir. Aşırı metal konsantrasyonları: 1. Hücre membranının permabilitesini değiştirerek 2. (-SH) sülfidril gruplarıyla reaksiyona girerek 3. Fosfat grupları ve aktif ADP ya da ATP gruplarıyla reaksiyon affiniteleriyle 4. Gerekli iyonlarla yer değiştirerek toksisiteye neden olmaktadır (Patra ve ark., 2004). Sunda ve Huntsman (1998) ağır metallerin toksik etkilerinin genellikle, metabolik bölgelerdeki besin elementleri ile toksik metallerin yer değiştirmesi sonucu gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Metallerin toksik etkileri; metalin kimyasal formuna, biyolojik bulunurluğuna, alımın yoluna, metalin aksiyon etkisine ve metabolizmasına, diğer metallere etkileşimine, metalin akut ve kronik etkisine, toksik etkisini göstereceği hedef bölgeye, hücre içi fizyolojik proseslere (solunum, fotosentez gibi) ve genetik adaptasyonlara bağlıdır. Metallerin bu toksik etkilerine karşı gösterilen yanıt mekanizmaları; 1. Özel olarak üretilen organik bileşiklerce metallerin depolanması 2. Bazı hücre bölümlerindeki kompartmantalizasyonu 3. Metal iyonlarının tekrardan dışarı atılmasıyla olmaktadır. Metallothioneinler, ferritinler ve fitoşelatinler gibi canlı organizmalarda bulunan yapılar metallere bağlayarak metallere hücreye vereceği zararlı etkileri önlemektedirler (Patra ve ark., 2004).

1.1.2. Ağır Metallerin Sınıflandırılması

Ağır metaller metabolik fonksiyonlarındaki rollerine göre ikiye ayrılmaktadırlar. Bunlardan ilki mikroelementlerdir. Bunlar Zn ve Cu gibi gerekli metaller olup birçok fizyolojik proseste görev yapmaktadırlar. Düşük konsantrasyonlarda gerekli olan bu metaller yüksek konsantrasyonlarda oldukça toksik olup canlı hücrelere zarar vermektedirler. Ağır metallerin ikinci grubu Cd ve Hg gibi metallerin girdiği gereksiz metaller grubu olup hücrede herhangi bir fizyolojik görevleri olmayan ve düşük konsantrasyonlarda bile oldukça toksik olan metallerdir.

1.2. Alglerde Ağır Metal

Algler su ekosistemlerindeki organik metal döngüsünde önemli bir rol oynamaktadırlar. Bazı ağır metallerin, tatlı su ve deniz kirleticileri oldukları iyi bilindiğinden son zamanlarda bu metallerin algler üzerine olan toksik etkilerini araştırmaya daha fazla önem verilmektedir (Reed ve Gadd, 1990; De Fillips ve Pallaghy, 1992).

Besin zincirinin en temel elemanları ve tatlı su ve deniz ekosistemlerindeki üretimin önemli öğeleri olduklarından algler, su ekosistemlerinin önemli bir canlı grubudur. Birincil üreticiler olan algler yeryüzündeki karbonun önemli bir kısmını bağlamakta ve fotosentez yoluyla atmosferdeki oksijenin büyük bir kısmını oluşturmaktadırlar. Algler üzerine herhangi olumsuz bir etki, daha yüksek seviyelerdeki organizmaları olasılıkla etkileyecektir ve sonuç olarak tüm sucul ekosistem bundan zarar görebilecektir (Franklin ve ark., 2000).

Algler kolay bulunurlukları, yüksek yüzey alanı ve yüksek bağlama affinitesi (Royd ve Shane, 1993; Bakkaloglu ve ark., 1998) nedeniyle metal alımı çalışmalarında sıklıkla başvurulan organizma grubudur. Algler yaşadığı ortamlardaki ağır metalleri almaları ve biriktirmeleri bakımından oldukça büyük bir yeteneğe sahiptirler (De Fillips ve Pallaghy, 1992). Algler, çoğu karasal türevli olan hem organik hem de inorganik kirleticilere oldukça duyarlıdırlar (Bringmann ve Kuhn,

1980). Fitotoksisite üzerindeki gözlemler, çoğunlukla tatlı su algleri kullanarak laboratuvar ortamında yapılan deney verilerine dayanmaktadır. Bu deneyler alg populasyonları üzerine kirleticilerin etkilerini belirlemek için yeterli olabilmektedirler. Doğal mikroorganizma populasyonları üzerine kirleticilerin toksik etkileri kısa-dönem testlerle belirlenmektedir ki bu, algler gibi mikrobiotanın aktivitesinin inhibisyonu olarak belirlenmektedir (Nyström, 1997; Paulsson, 2000).

Fitoplanktonlardaki metal birikimini anlamak sucul ekosistemlerdeki metallerin biyolojik akibetinin belirlenmesinde oldukça önemlidir (Wang ve Dei, 2001). Algler üzerine olan laboratuvar çalışmalarında alglerdeki metal alım ve toksisitesinin serbest metal konsantrasyonlarına bağlı olduğu gözlenmiştir (Campbell, 1995). Ayrıca metal alım ve toksisitesi, organizmanın tolerans yeteneğine ve metal etkileşimine vereceği detoksifiye edici yanıt yeteneğine de bağlıdır (Soldo ve Behra, 2000).

Algler tarafından metal iyonlarının alınımı, metal solüsyonunun kimyasal kompozisyonuna, alg türüne, metalin iyonik yüküne ve metal türlerine bağlı olarak değişmektedir (Sing ve ark., 2001; Gupta ve ark., 2001; Aksu, 1998; Holan ve Volesky, 1994). Ayrıca, ışık, pH, sıcaklık ve şelatlayıcı ajanlar gibi fizikokimyasal faktörler de alglerdeki ağır metal alımını etkilemektedirler (Depledge ve ark., 1995; Phillips, 1995).

Alglerde metal etkileşiminde intraspesifik ve interspesifik değişiklikler meydana gelmektedir (Blanck ve ark., 1984; Blanck ve Wangberg, 1988a). Algler metallerin toksik etkilerinden korunmak için; 1. Metal alımını kontrol altına almakta, 2. İçeriye alınan metalleri geri dış ortama vermekte, 3. Alınan metalleri hareketsiz bir formda hücre içinde biriktirmektedirler. Bu korunma mekanizmalarının asıl amacı reaktif metallerin duyarlı hedeflere (DNA ve proteinler gibi) yapacağı olası toksik etkileri önlemektedir. Hücresel ligandlar tarafından metallerin depolanması ökaryotik su organizmalarındaki yüksek metal toleransını gösteren en yaygın adaptasyon mekanizmalarından biridir (Mason ve Jenkins, 1995). Hücresel ligandlar örneğin fitoşelatinler bitki ve alglerdeki metallerin depolanmasında oldukça önemlidirler. Gerçekten de, hem tatlı su algleri (Pawlik-

Skowronska, 2001) hem de deniz alglerindeki (Ahner ve Morel, 1995; Grill ve ark., 1985) artan ağır metal etkisine yanıtta fitoşelatinlerin üretiminin arttığı gözlenmiştir.

Mikroalgler, negatif yüzey yüküne sahip olduklarından ağır metal iyonlarına karşı yüksek bir affiniteye sahiptirler (Ramani, 1974). Mikroalgler diğer mikrobiyal canlılar gibi adsorpsiyon ya da absorpsiyon mekanizmalarıyla ağır metal iyonlarını akümüle edebilmektedirler. Bu nedenle algler atık sulardaki ağır metallerin uzaklaştırılması çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Yine alglerin kullanılma nedenlerinden biri de enerji kaynağı olarak ışığı kullanmaları ve organik karbon kaynağının yokluğunda bile metabolizmalarının devamlılığını sağlayabilmeleridir. Son 200 yıllık sürede binlerce alg türü belirlenmiş olmasına rağmen toksik metal iyonlarının depolanmasındaki yetenekleriyle ilgili az bir çalışma vardır (Dönmez ve ark., 1999).

1.2.1. Metallerin Adsorpsiyonu ve Alınımı

Algler, adsorpsiyon, presipitasyon ve metabolizmaya-bağlı proseslerle fiziksel, kimyasal ve biyolojik mekanizmalarla dış ortamdakinden çok daha yüksek miktarlarda ağır metal iyonlarını biriktirmektedirler (Gadd, 1988). Ağır metaller canlı hücreler, ölü hücreler ve hücre yüzeyinin yapısal elemanları, hücreden dışarı verilen metabolitler ve polisakkaritler gibi biyokimyasal ürünler tarafından konsantre edilebilmektedirler (Wong ve ark., 1984).

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

Metabolizmadan-bağımsız alımda metallerin alınımı hücre duvarı bileşenlerince gerçekleşmektedir. Alglerde metalin biyosorpsiyonu genellikle hızlı, geri dönüşümlü ve yaklaşık 5-10 dakikada tamamlanmaktadır (Gadd, 1988; Zhang ve Majidi, 1994). Öldürülmüş alg ya da metabolik olarak inaktive edilmiş algler, biyosorpsiyon miktarının belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadırlar.

Metabolizmaya bağımlı alınımlar ise genellikle daha yavaş (saatlerce hatta günlerce) olup düşük sıcaklık, enerji kaynaklarının (örneğin ışık gibi) yokluğuyla ve metabolik inhibitörlerle inhibe edilmekte ve ortam koşullarından etkilenmektedir (Gadd, 1988; Garnham ve ark., 1992).

1.2.2. Metallerin Birikim Bölgeleri

Alglerde metal birikimi hücre yüzeyindeki (hücre duvarı, membran ya da musilajlarla) adsorpsiyon (biyosorpsiyon) ya da organeller, sitoplazmik ligandlar ve sitoplazmik yapılarca iç adsorpsiyonla olmaktadır.

1.2.2.1. Hücre yüzeyleri

Metaller hidroksil (-OH), fosforil (-PO₃O₂), amino (-NH₂), karboksi (-COOH), sülfidril (-SH) ve tiyol gruplarını içeren spesifik fonksiyonel gruplara bağlanmaktadır (Rai ve ark., 1981). Örneğin; *Chlorella vulgaris*'te Cd'ye oranla Zn adsorpsiyon bölgeleri daha fazla olup karboksil grupları da hücre duvarındaki metal adsorpsiyonunun en önemli bölgeleridir; bununla birlikte amino grupları da bu alımda rol oynamaktadırlar (Cho ve ark., 1994).

1.2.2.2. Organeller ve Hücre Altı Bileşenleri

Bir metal hücre içine girdiğinde ya hücre içi bileşenlere bağlanır ya da presipite edilir (Gadd, 1988). Biyolojik makromoleküller ve enzimler fonksiyonel gruplar olarak ya da kofaktör olarak metallere gereksinim duyarlar. 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) akümülyasyon yoluyla detoksifiye edilmektedirler.

1.2.3. Biyomonitöring ve Biyokonsantrasyon Faktörü

Deniz ve tatlı su algleri buldukları ortamlardaki ağır metalleri biriktirme yetenekleri nedeniyle antropojenik atıkların biyolojik monitörü olarak önemli bir potansiyele sahiptirler (Rai ve ark., 1981). Algler sudaki metalleri biriktirme yeteneğine sahip olup bu özellikleriyle diğer organizmalarla karşılaştırılabilirler (Flegal ve ark., 1993; Stronkhorst ve ark., 1994). Alglerin metal akümülyasyon hızları metal bağlama bölgelerinin selektivitesine ve miktarına bağlıdır (Ramelow ve ark., 1987).

Biyokonsantrasyon faktörleri (BKF) regülatör amaçlar için oldukça yararlı olmaktadır (Eisler, 1985; Moore, 1991). BKF, alg biyomasındaki metal miktarının ($\mu\text{g/g}$ k.a.) sudaki metal miktarına ($\mu\text{g/L}$) oranıdır (Stevenson ve ark., 1996). Skowronski ve Przytocka- Jusiak (1986), bu oranın pH'daki değişimlere, suyla ilişkideki algin göreceli biyomasındaki değişikliklere duyarlı olduğunu ve diğer faktörlerin de bu denge konsantrasyonunu etkileyebileceğini belirtmiştir.

1.2.4. Algler Üzerine Ağır Metal Stresinin Etkileri

Büyüme ve metabolizma için gerekli olan besleyici metaller de dahil tüm metaller, yüksek konsantrasyonlarda alglerin metabolik sistemlerinin üzerine toksik etki yapmaktadırlar (Rai ve ark., 1981). Ağır metallerin bu toksisite mekanizmaları; örneğin enzimler, polinükleotidler, gerekli nütrient ve iyonların transport sistemleri gibi önemli moleküllerin fonksiyonel gruplarını bloklayarak, hücresel bölgelerdeki gerekli iyonları çıkartarak ve / ya da onlarla yer değiştirerek, enzimleri denatüre ya da inaktive ederek, hücre ve organellerin membran bütünlüğünü bozarak toksik etkilerini göstermektedirler. Ayrıca metaller, serbest radikal oluşumuna neden olarak da toksik etkilerini göstermektedir. O^{2-} ve OH^- gibi radikaller de amino asitler, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler ve lipidlere saldırarak zarar vermektedirler (Mallick, 2004).

1.2.4.1. Hücreye Etkileri

1.2.4.1.(1). Enzim Aktivitesi ve Metabolik Yollara Etkileri

Yüksek metal konsantrasyonları, fotosentez, solunum ve biyolojik moleküllerin sentezi gibi biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonları kontrol eden enzim sistemleri üzerine toksik etkilere neden olmaktadır (Rai ve ark., 1981).

1.2.4.1.(2). Fotosentez

Fotosentez hızı alglerdeki metal stresini değerlendirmek için sıklıkla ölçülmektedir. Çoğu ağır metallerin alglerdeki CO₂ alınımını ya da O₂'in evolüsyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir (Rai ve ark.,1981). Metaller tarafından fotosentezin etkilenmesi ya metalin doğrudan fotosentez yoluna zarar vermesi ya da iyon dağılımını bozarak, enzim aktivitesini engelleyerek ve non-fotosistem membran permabilitesi üzerine yapacakları dolaylı etkinin yanıtı olarak gözlenmektedir (Heath, 1994).

1.2.4.1.(3). Pigmentler

Fotosentetik pigment konsantrasyonları, kolayca ölçülebilir ve bu nedenle de regülatör amaçlar için stres ölçümünde sıklıkla kullanılırlar. Klorofil a sıklıkla ölçülen pigment olmasına rağmen karotenoidler de ağır metal stresinden sorumludurlar (Rai ve ark, 1992). Alglerde klorofil içeriğindeki bir düşüş, pigmentte herhangi bir zarar olmaksızın yoğunluktaki bir değişmeye bağlı olabilir. Saint-Louis ve ark. (1994), *Pavlova lutheri* popülasyonunda hücre yoğunluğundaki azalmaların klorofil konsantrasyonunun düşmesine neden olduğunu rapor etmişlerdir.

1.2.4.1.(4). Biyolojik Makromoleküller

Ağır metaller, hücrelerdeki organik makromoleküllerin göreceli miktarında değişikliğe neden olabilmektedirler. Yüksek Ni düzeyleri, *Heamatococcus*'un protein ve karbonhidrat içeriğini düşürmüştür (Xylander ve Braune, 1994). *Selesnastrum capricornutum*'da düşük Cd düzeyi, lipid ya da proteinden daha yüksek olacak şekilde karbonhidrat sentezine neden olmuştur (Thompson ve Couture, 1993).

1.2.4.1.(5). Büyüme ve Yoğunluğa Etkileri

Toksikantların moleküler düzeydeki etkileri sıklıkla büyüme hızındaki düşüşe ya da büyümenin lag fazının bozulmasına atfedilmektedir. Büyüme hızındaki değişiklikler, standart toksisite testleri için oldukça uygundur. Çünkü; azalan alg büyümesi daha yüksek düzeylerdeki tüketicileri de etkilemektedir (Nyholm ve Kallqvist, 1989).

1.2.4.2. Tolerans Mekanizmaları

Algler, hücre yüzeyindeki metallerin bağlanma bölgelerinin azalması, metabolizmaya bağımlı alınının inhibisyonu, genetik adaptasyon, morfolojik değişiklikler ve hücre içi detoksifiye edici mekanizmalar ya da hücre içi depolama bölgeleriyle hücresel düzeyde ağır metal stresini tolere edebilmektedirler (Rai ve ark, 1981).

Mikroorganizmalar, düşük hücre içi konsantrasyonları korumakla ya da enzimatik detoksifikasyon, hücre içi metal-bağlayıcı polimerleri senteziyle, hücre yüzeyine bağlamayla ya da hücre yüzeyindeki çözünmez metal komplekslerinin presipitasyonunu içeren mekanizmalarla ağır metal stresini tolere edebilmektedirler (Wood ve Wang, 1985). Metallothioneinler gibi sitoplazmik şelatörler mavi-yeşil alglerdeki metal stresinin detoksifiye edilmesinde önemli bir rol oynarlar (Gadd, 1988).

1.3. Krom

Krom, ilk kez Fransız kimyacı Vauquelin tarafından 1798'de Sibiryadaki kırmızı kurşun madenlerinde keşfedilmiştir. Cr, $Ar3d^54s^1$ elektronik kofigürasyon durumuyla periyodik tablonun VI-B grubunda yer alan bir geçiş elementidir. Cr'un stabil olmayan ve biyolojik sistemlerdeki kısa ömre sahip diğer değerlikteki durumlarına rağmen Cr'un stabil formları Cr(III) ve Cr(VI)'dır. Cr(VI), kromun en toksik formu olup genellikle kromat (CrO_4^{-2}) olarak oksijenle ya da dikromat ($Cr_2O_7^{2-}$) olarak oksianyonlarla kompleks yapmış formda bulunmaktadır (Shanker ve ark., 2005). Cr(III) ise oksit, hidroksit ve sülfat formlarında bulunup çok daha az hareketli, su ve topraktaki organik materyale güçlü bir şekilde bağlı olarak bulunur. Cr(VI) güçlü bir okside edici ajan olup organik madde varlığında Cr(III)'e indirgenmektedir. Bu dönüşüm asidik topraklar gibi asidik ortamlarda daha hızlı olmaktadır (McGrath ve Smith, 1990). Bununla birlikte Cr(VI)'nın yüksek düzeyleri, ortamın indirgeme kapasitesinin üstünde olup bir kirletici olarak davranmaya başlar. Ayrıca Cr(III) de aşırı oksijen varlığında Cr(VI)'ya oksitlenebilir ve çok toksik bir forma tekrardan dönüşmüş olur (Vajpayee ve ark., 1999).

Krom dünyada en çok bulunan yedinci elementtir (McGrath ve Smith, 1990). Yeryüzündeki Cr miktarı 100-300 $\mu\text{g/g}$ aralığında değişmektedir. Cr hava, toprak ve su ekosistemlerinde doğal olarak bulunmaktadır. Topraktaki doğal bulunurluğu 10-50 mg/kg arasındadır. Tatlı sulardaki konsantrasyonu genellikle 0.1-117 $\mu\text{g/L}$ arasındayken denizlerdeki konsantrasyonu 0.2-50 $\mu\text{g/L}$ arasındadır. Atmosferdeki Cr konsantrasyonu ise oldukça farklılık göstermekte olup 5×10^{-6} - 1.2×10^{-3} $\mu\text{g/m}^3$ arasındayken kirli alanlarda 0.015-0.03 $\mu\text{g/m}^3$ arasındadır (Nriagu, 1988).

Krom, tabak yapımı, boyama, alaşım, kimyasal maddelerin yapımı (Palmer ve Wittbrodt, 1991), maden sanayii, pigment, tekstil ve elektro kaplamacılıktaki (Vajpayee ve ark.,1999) yaygın kullanımına bağlı olarak çeşitli endüstriyel alanlardan doğal su ekosistemlerine girmektedir. Dünyadaki kullanımı her yıl yaklaşık 10^7 ton civarındadır; bunun yaklaşık %60-70'i çelik ve %15'i de tabak yapımı, pigment ve elektrokaplama gibi kimyasal endüstri prosesinde kullanılmaktadır (Stern, 1982; Papp, 1985). Bu antropojenik aktiviteler kromu, su,

toprak ve hava ekosistemlerinde ciddi bir kirletici potansiyeli haline getirmiş ve Cr'un çevredeki biyolojik bulunurluğunu ve biyohareketliliğini artırmıştır. Çevredeki kromun kritik değerlendirmeleri üzerine detaylı derlemeler Kimbrough ve ark. (1999) ve Kotas ve Stasicka (2000) tarafından yapılmıştır. Atık sularındaki izin verilen Cr miktarı 2.0 µg/mL iken bu değer genellikle 2000-5000 µg/mL'yi bulmaktadır (Vajpayee ve ark.,1999). Kaplamacılık endüstrisi atık sularındaki Cr(VI) ve Cr (III) derişimleri sırasıyla 25-100 ve 5-50 µg/L arasındayken tabak yapımı endüstrisindeki Cr(III) konsantrasyonu 1500 µg/L olarak tespit edilmiştir (Dirilgen ve Doğan, 2002). Atık sularındaki Cr türlerinin konsantrasyonları Cr'un kullanıldığı endüstriyel proseslerdeki çeşitliliğe bağlı olarak değişmektedir (Nriagu, 1988). Bu nedenle Cr(VI) maden sanayiinde Cr(III) ise tabak yapımı, tekstil ve dekoratif kaplama endüstrisi atık sularında daha yüksek düzeylerde bulunmaktadır (Dirilgen ve Doğan, 2002).

1.3.1. Krom Tayininde Kullanılan Analitik Metodlar

Doğal ve kirlenmiş sularındaki krom konsantrasyonlarını belirlemek için kullanılan esas analitiksel yöntem Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS)'dir (Burrell, 1974; Welz, 1975). Bununla birlikte grafit fırını (Martin ve ark., 1975) ve kolorimetre (APHA, AWA, WPCF, 1980) de Cr derişimlerinin tayininde kullanılmaktadır. Deteksiyon limitleri, kullanılan tekniklere bağlı olarak farklılık göstermektedir; Flame AAS'de 0.01 mgCr/L, kolorimetrik metotta ise 0.1 mg/L'dir. Son zamanlarda nötron aktivasyon, X-ray fluorescence, atomik fluorescence gibi tekniklerle de Cr tayini yapılmaktadır.

Çizelge 1.1. Krom elementinin fiziksel ve kimyasal özellikleri (<http://e-egitim.teknolojikarastirmalar.com/Periyodik/PERIODIC/PERIODIC/Cr.html>)

Ortalama atomik kütle	51.9961
Kaynama noktası	294 K 2672°C 4828°F
Boyca genleşme katsayısı	$62 \times 10^{-7} \text{ cm/cm/}^\circ\text{C}(0^\circ\text{C})$
Yoğunluğu	7.19 g/cc
Elektrik iletkenliği	$0.0744 \times 10^6 / \text{cm}$
Isı iletkenliği	0.937 W/cmK
Niteliği	Sert kırılğan gri renkli geçiş metali
Yanabilirlik sınıfı	Yanıcı olmayan katı
Erime noktası	2130K 1857°C 3375°F
Molar hacmi	$7.78 \text{ cm}^3 / \text{mol}$
Fiziki hali	Katı (20°C 1 atm)
Isınma ısısı	0.45 J/gK
Nötron/proton/elektron sayısı	28/24/24
Atomik yarı çapı	1.85 Å
Atomik hacim	$7.23 \text{ cm}^3 / \text{mol}$
İyonik yarı çapı	0.52 Å
Kovalent yarı çapı	1.18 Å
Kristal yapısı	Kübik merkezli
Elektron konfigürasyonu	$1s^2 2s^2 p^6 3s^2 p^6 d^5 4s^1$
Her enerji seviyesindeki elektron sayısı	2, 8, 13, 1

1.3.2. Krom Alınımı, Translokasyonu ve Birikimi

Hem prokaryot (Dreyfuss, 1964) hem de ökaryotlarda (Wiegand ve ark., 1985; Alexander ve Aashet, 1995) Cr, biyolojik membranı aktif taşıma ile geçmektedir. Bitkilerde krom ile organizma arasındaki ilk etkileşim kromun alımın prosesi esnasında olmaktadır. Cr bitkiler için gerekli olmayan ve toksik bir metal olduğu için bitkilerce alınımı için spesifik mekanizma prosesi yoktur. Kromun toksik etkileri esas olarak metalin alınımı, translokasyonu ve birikimi gibi faktörlere

bağlıdır. Cr(VI)'nın alınımları yolu sülfat gibi gerekli anyonların taşınmasına katılan aktif bir mekanizmayla olmaktadır (Cervantes ve ark., 2001). Fe, S ve P'nin taşıyıcılara bağlanmak için Cr ile rekabet ettiği bilinmektedir (Wallace ve ark., 1976). Kimyasal özelliklerindeki (oksianyon yükü gibi) benzerliklerinden dolayı Cr alınımları sülfat ve fosfat analogları olarak anyonik kanallar yoluyla olmaktadır (Simkiss ve Taylor, 1995). Metabolik inhibitörler Cr(VI)'nın alınımlarını azaltırken Cr(III) bu durumdan etkilenmemektedir. Bu da iki kromdan Cr(VI)'nın metabolik enerjiye bağlı olarak alındığını göstermektedir (Skeffington ve ark., 1976).

1.3.2.1. Mikrobiyal Krom Transportu ve Birikimi

Sülfat transport sistemiyle krom transportu ilk kez *Salmonella typhimrium* (Dreyfuss, 1964; Pardee ve ark., 1966; Hryniewicz ve ark., 1990) ve sonra da *Escherichia coli* (Karbonowska ve ark., 1977; Sirko ve ark., 1990), *Pseudomonas fluorescens* (Ohtake ve ark., 1987) ve *Alcaligenes eutrophus*'da (Nies ve ark., 1989) kanıtlanmıştır. Katyonik Cr(III) türevleri *Salmonella* lipopolisakkaritlerine (Synder ve ark., 1978), *Bacillus subtilis* ve *E. coli* hücre duvarlarına (Flemming ve ark., 1990) *B. licheniformis*'in kapsular polimerlerine (McLean ve ark., 1990) güçlü bir şekilde bağlanmaktadır. Alglerdeki krom taşınımıyla ilgili bilgiler pek fazla değildir (Schroll, 1978). Alglerdeki Cr birikimi üzerine farklılıklar rapor edilmiştir; örneğin, yeşil algler, kırmızı ve kahverengi algere oranla daha fazla Cr biriktirmişlerdir. Fitoplanktonlardaki Cr(VI)'nın biyokonsantrasyon faktörü 200 ila 500 arasındadır (Wang ve ark., 1997). Epifitik (bitkiler üzerinde yaşayan organizmalar) algler, atmosferik kirleticilere yüksek bir affinite göstermekte olup havadaki ağır metalleri alabilmektedirler. Karayollarına yakın yerlerde *Plasrococcus sp.* epifitik alginde Cr ve Pb içeriği yüksek bulunmuştur (Sims ve Reynolds, 1999). Mayalarda Cr(VI) non-spesifik anyonik taşıyıcılarla hücre içine alınmaktadır (Marzluf, 1970).

1.3.2.2. Bitkilerdeki Cr Transportu ve Birikimi

Bitkilerde Cr alınımı farklılık göstermektedir. Bazıları Cr (VI)'yı aktif taşıma ile Cr (III)'ü pasif taşıma ile alırken (Skeffington ve ark., 1976) bazılarında her iki Cr türünde aktif taşınma ile alınmaktadır (Ramachandran ve ark., 1980). Bazılarında da mikroorganizlardaki gibi sülfat transport sistemi CrO_4^{-2} 'nin alınımında rol oynamaktadır (Shewry ve Peterson, 1974). Bitki içinde kromun translokasyonu ve birikimi, bitki türüne, ortamdaki Cr konsantrasyonuna (Kleiman ve Cogliatti, 1998) ve krom tipine (Mishra ve ark., 1995) bağlı olarak farklılık göstermektedir. Örneğin analiz edilen 10 ekin türünden 7'sinde Cr (VI)'nın Cr (III)'e oranla daha çok biriktiği gözlenmiştir (Zayed ve ark., 1998). Bitkilerde Cr (VI)'nin Cr (III)'e dönüşümünün esas olarak köklerde olduğu rapor edilmiştir. Bitki organlarındaki krom birikimi farklılık göstermektedir. Bitki kökleri, sürgün ve diğer dokulara oranla 10-100 kat daha fazla Cr biriktirmektedir (Zayed ve ark., 1998; Srivastava ve ark., 1999).

1.3.3. Kromun Canlılar Üzerine Toksik Etkileri

Önceki çalışmalarda, oksidasyon durumuna bağlı olarak kromun biyolojik etkileri araştırılmıştır; Cr (VI) çoğu organizmalar için oldukça toksik iken Cr (III) daha az toksiktir (Wong ve Trevors, 1988; Katz ve Salem, 1993). Cr (VI) bileşikleri Cr (III) bileşiklerine oranla oldukça yüksek çözünürlüğe sahip olup biyolojik bulunurlukları daha yüksektir (Dirilgen ve Doğan, 2002). Kotas ve Stasicka (2000), Cr'nin biyolojik bulunurluğu ve hareketi kadar toksisitesinin de esas olarak kimyasal formuna bağlı olduğunu öne sürmüşlerdir. Cr (VI), Cr(III)'e oranla gerek güçlü oksidatif potansiyeli ve gerekse de hücre membranında kolayca difüze olması nedeniyle biyolojik sistemler üzerine toksik etkiler göstermektedir (Dirilgen ve Doğan, 2002).

Krom toksisitesi Cr (VI)'nın daha düşük oksidasyon durumlarına indirgenme prosesiyle ilişkilidir. Cr (VI)'nın Cr (III)'e redüksiyonu birçok biyolojik sistemlerde rapor edilmiştir; örneğin Cr (V) geçiş formu Cr toksisitesindeki olası önemli mekanizmalara katılmaktadır (Kawanishi ve ark., 1986). Cr (V) kompleksleri,

NAD(P)H, FADH₂, bazı pentozlar ve glutatyon gibi fizyolojik indirgeyici ajanlar tarafından Cr (VI)'nın redüksiyonuyla oluşmaktadır (Shi ve Dalal, 1990). Bu kompleksler, OH radikallerinin önemli miktarlarını oluşturmak için H₂O₂ ile reaksiyona girmektedirler. OH radikalleri de diğer toksik etkilerinin yanı sıra direkt olarak DNA değişikliklerine neden olmaktadır (Shi ve Dalal, 1990). Diğer hücre içi krom-indirgeyici ajanlar, vitamin C ve B₁₂, sitokrom P-450 ve mitokondriyal solunum zinciridir (Alcedo ve Wetterhahn, 1990).

İntraselüler Cr (III), DNA 'nın fosfat grupları tarafından tutulmakta ve bu da replikasyonu, transkripsiyonu etkilemekte ve mutasyona neden olmaktadır (Costa, 1991; Bridgewater ve ark., 1994). DNA üzerindeki oksidatif hasar krom tarafından üretilen genotoksik etkinin sonucunda olduğu düşünülmektedir (Itoh ve ark., 1995; Luo ve ark., 1996). Cr (III) enzimlerin karboksil ve sülfidril gruplarına bağlanarak enzimlerin yapısını ve aktivitesini değiştirmektedir (Levis ve Bianchi, 1982). DNA polimerazın modifikasyonu ve diğer enzimlerin aktivitesi Cr (III)'ün magnezyum iyonu ile yer değiştirmesi sonucunda etkilenmektedir (Travieso ve ark., 1999).

1.3.3.1. Mikroorganizmalar Üzerine Toksik Etkisi

Bakteri ve algler üzerine kromun etkileri Wong ve Trevors (1988) tarafından çalışılmıştır. Ortalama 3,6 mg/L kromun algler için toksik olduğu rapor edilmiştir (Healey, 1973). Hervey (1949), 3,2 mg/L Cr (VI)'nın *Chlorella*, 0,32 mg/L'nin ise *Euglenoidler* için inhibitör etki yarattığını rapor etmiştir. Meisch ve Smhmitt-Beckmann (1979), laboratuvar çalışmalarında 2 mg/L Cr'un *Chlorella pyrenoidosa* büyümesini ve klorofil sentezini inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. *Spirogyra* ve *Mougeotia* alglerinde Cr (VI)'nın Cr (III)'e redüksiyonu *in vivo* koşullarda gözlenmiştir (Liu ve ark., 1995). Büyüme hızı bitkilerdeki krom toksisitesini belirlemek için sıklıkla kullanılmaktadır. Algler için en düşük efektif konsantrasyon 0,3-3,6 mg/L arasında değişmektedir (EIFAC, 1983). *Chlorella vulgaris* büyümesi 45-100 ppm Cr (III) ya da Cr (VI) tarafından etkilenmemişken *Scenedesmus acutus*'ta 15 ppm'den daha yüksek Cr konsantrasyonlarında büyüme inhibe edilmiştir (Travieso ve ark., 1999). Bununla birlikte Brady ve ark. (1994), 100 ppm

Cr (III) etkisinde *Scenedesmus* ve *Selenastrum* alglerinin koloni büyümesi devam ederken 100 ppm'lik Cr (VI) 'nın bu büyümeyi inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. *Euglena gracilis*'te Cr (III)'ün büyüme hızını düşürdüğü gözlenmiştir (Brochiero ve ark., 1984). *Euglena*'daki büyüme inhibisyonu, hücre döngüsünün G-2 fazında hücrelerin depresyonuyla solunum ve fotosentezin inhibisyonu sonucunda gerçekleşmiştir (Fasulo ve ark., 1983). Cr tarafından fotosentezin inhibe edilmesi *Chlorella* (Wong ve Trevors, 1988) ve *Scenedesmus* (Corradi ve ark., 1998) için rapor edilmiştir. Işıқта büyüyen *Euglena* hücreleri, karanlıkta büyüyen hücrelere oranla Cr (VI)'ya daha hassas olduğu gözlemlenmiştir. Cr'un daha düşük konsantrasyonları her iki türde de tolere edilmiştir (Cervantes ve ark., 2001). *S. cerevisiae*'de krom toksisitesi fermante edilebilir substanslardaki büyümeye oranla fermante edilemeyen karbon kaynaklarındaki hücre büyümesi üzerinde daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. (Henderson, 1989); bununla birlikte diğer etkileri oksijen alınımının engellenmesi (Kharab ve Singh, 1987) ve küçük mutasyonların oluşması şeklinde gerçekleşmiştir. Bu sonuçlar *S. cerevisiae* mitokondrisinin krom için önemli bir hedef organel olduğunu göstermiştir (Henderson, 1989).

1.3.3.2. Bitkiler Üzerine Etkisi

Cr (VI)'nın canlı hücrelere ciddi zararlar verdiği kanıtlanmışken Cr (III) oldukça düşük çözünürlüğü nedeniyle çok daha az toksiktir. Bununla birlikte bitkilerde yapılan çalışmalar, Cr (III)'ün Cr (VI)'dan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu canlı dokularda ciddi hasarlara neden olabileceği gözlenmiştir (Cervantes ve ark., 2001). Arpa fidelerinin büyümesi üzerine 100 µM Cr (III) %40'lık bir inhibisyon etkisi yaratırken aynı derişimdeki Cr (VI), sürgünlerde %75, köklerde ise %90 büyümeyi inhibe etmiştir (Skeffington ve ark., 1976). Klorosis ve nekrosis bitkilerde Cr toksisitesi sonrasında gözlenen septomlardır. Arpa bitkilerinde 100 ppm Cr (VI)'nın 2 günlük etkileşimden sonra stress oluşturduğu ve 7-10 günden sonra tüm bitkileri öldürdüğü gözlenmiştir. Cr (VI) tarafından oluşan semptomlar Cr (III) tarafından oluşturulanlardan hem daha güçlü hem daha erken oluşmakta hem de daha düşük konsantrasyonlarda meydana

gelmektedir (Hauschild, 1993). Cr etkisinde, bitkilerde protein içeriğinde, ve nitrat redüktaz aktivitesindeki düşme in vitro olarak gözlenmiştir (Vajpayee ve ark., 1999). Mikronükleus oluşumu, kromozomal değişimler, *Vicia faba* ve *Allium cepa* kök uçlarında ağır metal etkisinde gözlenmiştir (Minissi ve ark.,1998; Rank ve Nielsen, 1998). Krom konsantrasyonlarıyla ilişkide mikronükleus oluşumu kontamine olmuş topraklardaki bitkilerde gözlenmişken topraktaki diğer ağır metal düzeylerinde bu durum gözlenmemiştir (Wang, 1999).

Cr (VI), bitkiler için oldukça toksik olup, kök indirgenmesi, fitomas, fotosentetik pigmentler, klorosis ve büyümeyi inhibe etmekte ve sonuçta da bitkinin ölümüne neden olmaktadır (Tripathi ve Smith, 1996; Gaur ve ark., 1994; Sharma ve ark., 1995).

1.3.3.2.(1). Büyüme ve Gelişme Üzerine Etkisi

Bitki büyümesi ve gelişmesi türlerin yaşaması ve üremesini devam ettirmesi için gerekli proseslerdir. Büyüme esas olarak genotip ve çevrenin bir fonksiyonu olarak gerçekleşen bir proses olup dış faktörler ve iç faktörler tarafından etkilenmektedir. Dış ortamdaki Cr bileşikleri bitkilere oldukça toksik olup büyüme ve gelişmelerine zarar vermektedir. Yapılan çalışmalarda bazı ekin türlerinin düşük krom derişiminden ($3,8 \cdot 10^{-4} \mu\text{M}$) etkilenmediği gözlenmişken (Huffman ve Allaway, 1973 a,b) $100 \mu\text{M}$ Cr/kg kuru ağırlık konsantrasyonunun çok daha yüksek bitkilere oldukça toksik olduğu gözlenmiştir (Davies ve ark, 2002). Ayrıca subletal Cr konsantrasyonlarının alg büyümesini de belirgin bir şekilde inhibe ettiği gözlenmiştir (Corradi ve Gorbi, 1993).

1.3.3.2.(2). Fotosenteze Etkisi

Cr stresi, CO₂ fiksasyonu, elektron transportu, fotofosforilasyon ve enzim aktivitelerini etkileyerek fotosenteze zarar veren önemli faktörlerden biridir (Clijters ve Van Assche, 1985). Cr etkisinde kloroplast ultra yapısının bozulduğu (Vazquez ve ark., 1987), elektron transportunun inhibe edildiği ve Calvin döngüsü enzimleri

üzerine inhibe edici etki yaptığı gözlenmiştir. Yukarıda sayılan bu proseslerin inhibe edilmesi PSI'den Cr(VI)'ya olan elektron sapsmalarıyla gerçekleştiği varsayılmaktadır (Shanker ve ark., 2005). Bu da kromun neden olduğu fotosentez hızındaki azalmayı açıklayabilir. Cr(VI)'nın oksidatif potansiyeli bilindiğinden elektronların azalmaları Mehler reaksiyonundaki moleküler oksijen redüksiyonuyla arttığı varsayılmaktadır. Cr'un fotosentez üzerine etkileri Cr(VI)'nın neden olduğu çok zayıf lameller sistemin gelişmesi gibi kloroplast anormalliklerine de atfedilmektedir (Van Assche ve Clijsters, 1983).

Triticum aestivum'da klorofil miktarındaki düşüşler, farklı krom bileşiklerinin (Cr(VI) ve Cr(III)) çeşitli konsantrasyonlarının etkisi altında gözlenmiştir (Sharma ve Sharma, 1996). *Salvinia minima*'da 1 ve 2 mg/L Cr(VI), klorofil a,b ve karotenoid miktarlarını önemli bir şekilde düşürmüştür (Nichols ve ark., 2000). Klorofil b'nin azalması Cr'un neden olduğu periferel bölgedeki protein stabilitesinin bozulmasına yada parçalanmasına bağlanmaktadır. Yine klorofil biyosentezinde görevli enzimlerin inaktivasyonu da Cr stresinde bitkilerdeki klorofil miktarının azalmasına neden olmaktadır (Shanker ve ark., 2005).

Fitoplankterlerdeki metal birikimini anlamak sucul ekosistemlerdeki metallerin biyolojik akibetinin belirlenmesi bakımından oldukça önemlidir. Metaller üzerine yapılan çalışmaların çoğu düşük düzeylerde besleyici yüksek düzeylerde toksik olan katyonik metaller (Cu, Zn, Fe ve Mn gibi) üzerine yoğunlaşırken fitoplanktonlardaki anyonik (Cr(VI), arsenat ve selenat gibi) metaller üzerine birkaç çalışma (Sanders, 1979; Riedel, 1984, 1985; Fisher ve Went, 1993; Riedel ve Sanders, 1996; Wang ve ark., 1997) vardır. Bu nedenle bu araştırmada farklı krom derişimlerinin etkisinde laboratuvar koşullarında kültüre alınan *Chlorella vulgaris*'teki krom birikimi ve kromun *C. vulgaris* hücreleri üzerine fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kromu da içeren ağır metal iyonlarının algler tarafından alınımı ve birikimiyle ilgili bir çok çalışma yapılmıştır.

Francke ve Hillebrand (1980), *Spirogyra*, *Oedogonium*, *Microspora*, *Mougeotia*, *Ulothrix* ve *Draparnaldia*'daki bakır birikimini incelemişlerdir. *Microspora* ve *Mougeotia* diğer türlere oranla daha yüksek Cu konsantrasyonlarını (0.1 mM Cu'ya kadar) tolere edebilmiştir. Hücre içinde bakırın birikimi türler arasında farklılık göstermiştir. *Ulothrix* hariç tüm türlerde bakırın yarısından fazlası hücre duvarında birikmiştir. *Ulothrix* ve *Spirogyra*'da bakır, kloroplast, nükleus ve mitokondride birikmiştir.

Fayed ve ark. (1983), *Scenedesmus obliquus* algindeki Cu, Zn, Cd ve Pb birikimini çalışmışlardır. Sonuçlar, metallerin alg tarafından çabuk bir şekilde akümüle edildiğini ve birikimin, metal-alg-etkileşim oranına bağlı olduğunu göstermiştir. Algin metallere gösterdiği bağlanma affinitesi Zn>Cu>Cd>Pb şeklinde olmuştur.

Constantinos ve ark. (1990), ICPA-ES ile solüsyonda bulunan Cr(VI)'nın *Chlorella vulgaris* tarafından alınımını hesaplamışlardır. Çalışmada 3 dakika içinde pH 3'de 5 mg alg tarafından bağlanan maksimum krom miktarı 5-100 g/mL bulunmuştur.

Muse ve ark. (1999), Güney Atlantik kıyılarındaki alg örneklerindeki Cd, Pb, Cr, Zn ve Cu miktarını atomik absorpsiyon spektrometresiyle belirlemişlerdir. Üzerinde çalışma yapılan alg örnekleri; *Ulva lactuca*, *Enteromorpha* ve *Porphyra columbina* olup Arjantin'in San Jorge Körfezinden toplanmıştır. Çalışma sonucunda *U. lactuca* ve *E. prolifera*'nın çalışılan alandaki ağır metal dağılımındaki mevsimsel eğilimleri değerlendirmek için uygun türler olabileceği gözlenmiştir. *P. columbina*'nın akümülatör olarak kullanışlı olmayacağı gözlenmiştir.

Lopez – Suarez ve ark. (2000), yaptıkları bir çalışmada, *Chlorella vulgaris*'in Mn, Cr, Ni, Zn ve Cu gibi ağır metalleri biriktirme yeteneğini araştırmışlardır. Çeşitli parametreler (algal biomas, pH ve algle metallerin etkileşim süresi gibi) çalışılmıştır. 9 mg algal biomas pH 8 ve 15 dakika kontakt zamanı, her bir metalin 1 ppm ile

optimize edilmiştir. 5 metalin belirlenmesi bir UV/V₁₃ dedektörüyle kapillar elektroforezle (EC) yapılmıştır. *C. vulgaris* çalışılan 5 metali güçlü bir şekilde bağlamıştır. En güçlü bağlanmalar Cr ve Cu için gözlenmiştir.

Wang ve Dei (2001), iki diatom *Thalassiosira pseudonana*, *Skeletonema costatum* ve bir yeşil alg *Chlorella autotrophica* türü deniz fitoplanktonlarında Se (IV)'nın ve Cr (VI)'nın birikimi üzerine önemli besleyicilerin (P, Si ve N) etkilerini incelemişlerdir. Birikim oranı 5 saatlik kısa bir periyot üzerinden alg hücrelerindeki metal konsantrasyon faktörünün ölçülmesiyle belirlenmiştir. Se(IV) *C. autotrophica* ve *S. costatum*'da az birikmişken *T. pseudonana*'da oldukça yüksek birikmiştir. Se(IV) bu üç türde birikimi çevresel P ve Si konsantrasyonlarına bağlı olmuştur. Buna karşın Cr (IV)'ün yeşil alg ve iki diatomdaki birikimi çevresel P ile ilişkili değilken Si ile oldukça yakından ilişkili bulunmuştur. Bu sonuçlar anyonik metal birikimi üzerine önemli nütrientlerin etkilerinin hem metale hem de fitoplankton türüne özgü olduğunu göstermiştir.

Dirilgen ve Doğan (2002), Cu, Zn ve bunların kombine toksisitelerindeki krom özelleşmesi çalışmalarında *Lemna minor* bitkisindeki metal iyon konsantrasyonlarını FAA spektrometresiyle belirlemişler ve bu bitkinin Cr⁺³ metalini çok miktarlarda biriktirdiğini ve bu metalin etkisinde büyümesinin önemli olduğunu buna karşın Cr⁺⁶'yı büyük miktarlarda biriktirdiğini ve bu metalin etkisinde büyümenin yavaş olduğunu rapor etmişlerdir.

Dönmez ve Aksu (2002), *Dunaliella* türleri tarafından tuzlu atık sulardan kromun (VI) uzaklaştırılması çalışmalarında laboratuvar koşulları altında *Dunaliella* alglerinin pH ve NaCl konsantrasyonlarının fonksiyonu olarak Cr (VI) alınımına bakılmıştır. Alglerin krom alınımı hem pH hem de tuzla güçlü bir ilişki halinde bulunmuştur. Krom (VI) alınımı pH 2.0'de ve artan tuz konsantrasyonlarının varlığında ve yokluğunda gözlenmiştir. Krom alınımı ortam krom konsantrasyonunun artmasıyla artmış fakat tuz konsantrasyonunun artmasıyla önemli bir şekilde azalmıştır.

Tien (2002), farklı yüzey karakteristikliğine sahip dört farklı tatlı su algindeki (*Oscillatoria limnetica*, *Anabaena spiroides*, *Eudorina elegans* ve *Chlorella vulgaris*) metal iyonlarının (Cu, Cd, Pb) biyosorpsiyonunu incelemiş ve tüm alglerin

üç metal arasında en çok Pb'yi aldıklarını gözlemlemiştir. Alg yüzeyindeki bağlanma bölgeleri üzerine metal iyonlarının rekabeti, alg ve metal türüne bağlı olarak farklılık göstermiştir.

Sheng ve ark. (2004), deniz algleri *Sargassum* sp., *Padina* sp., *Ulva* sp. ve *Gracilloria* sp.'nin ortamdaki Pb, Cu, Cd, Zn ve Ni'nin uzaklaştırılması üzerine biyosorpsiyon performanslarını incelemiştir. *Sargassum* sp. ve *Padina* sp. metal iyonlarının alınımı için en yüksek potansiyele sahip olup maksimum alım kapasiteleri *Sargassum* sp. için 0.61-1.61 mmol/g, *Padina* sp. için ise 0.63-1.25 mmol/g arasındadır. *Padina* sp.'nin metallere olan genel affinite sırası Pb>Cu>Cd>Zn>Ni iken *Sargassum* sp. Pb> Zn>Cd>Cu>Ni şeklinde bulunmuştur. Karboksi, eter, alkolik ve amino gruplarının metal iyonlarının bağlanmasından sorumlu olduğu da çalışmada gözlenmiştir.

Merrifield ve ark. (2004), kahverengi alg ailesinden olan *Fucus vesiculosus*'da arsenik ağır metalinin hücre içi bağlanmasından sorumlu olan düşük molekül ağırlıklı, yüksek sistein içerikli ve metalloprotein ailesinden olan metallothionein adlı metal bağlayıcı protein sentezini gözlemlemiştir.

Kadukova ve Vircikova (2005), örnek solüsyonlarındaki Cu biyobirikimi ve biyosorpsiyonu arasındaki farklılıkları araştırmışlardır. Cu, önemli olacak şekilde canlı hücre yüzeyine zarar vermiştir ki bu, hücrenin metal bağlama yeteneğinin kısmi kaybına ve alınan bakırın solüsyona tekrar verilmesine neden olmuştur. Canlı hücrelerin metal bağlama kapasitesi önemli ölçüde ölü hücrelerden daha düşüktür.

Arıca ve ark. (2005), mikroalg *Chlamydomonas reinhardtii*'de Cr (VI) iyonlarının alınımı üzerine sıcaklığın ve asit muamelesinin etkisini incelemişler ve alg tarafından maksimum Cr (VI) alınımının pH 2.0'de olduğunu gözlemlemiştir. Doğal sıcaklık ve asit muamelesinde alglerdeki maksimum alım sırasıyla; 18.2, 25.6 ve 21.2 mg Cr/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur.

Alglerin büyüme, hücre sayısı, protein, şeker, klorofil a ve b, pH v.b. gibi fizyolojik ve biyokimyasal prosesleri üzerine kromu da içeren ağır metal iyonlarının toksik etkilerini inceleyen bir çok çalışma yapılmıştır.

Tripathy ve ark. (1981), Zn ve Pb'nin aksine Ni'nin, kloroplast fotosentez sisteminde dönüşümsüz olarak elektron transport aktivitesinin kaybolmasına neden olarak fotosenteze olumsuz etki ettiğini gözlemlemişlerdir.

Jouany ve ark. (1982), *Chlorella vulgaris* ve *Daphnia magna* üzerine Cr(VI)'nın toksik etkilerini incelemişlerdir. *Chlorella vulgaris* üzerine Cr(VI) toksik etkileri; Krom birikimi, ATP inhibisyonu ve alg büyümesinin inhibe edilmesi şeklinde olmuştur.

Baker ve ark. (1983), tatlı su algine ağır metalleri ve bisülfidin etkileri üzerine pH'ın etkisi çalışmalarında düşük pH'ın alg büyümesini ve fotosentetik aktiviteyi düşürdüğünü rapor etmişlerdir. Alg büyümesi ve fotosentez aktivitesi Hg ve bisülfid etkisinde pH 5 ve 7'den yukarıda azaltıcı etki yapmıştır.

Mishra ve ark. (1985), mavi-yeşil algdeki DNA, RNA, protein ve nitrojen miktarının ağır metal içeren atık su ile muamelesi sonucunda önemli ölçüde azaldığını rapor etmişlerdir. Bu azalma zamanla artmıştır. Alglar sudan oldukça fazla miktarda Hg almışlardır.

Irmer ve ark. (1986), yaptıkları çalışmada *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyta)'yi Pb etkisine bırakmışlardır. Araştırmacılar fotosentetik oksijen evölüsyonu, klorofil miktarı, kuru ağırlık ve Pb birikimini incelemişlerdir. 3 saat süreyle 1 M Pb ile etkileşim fotosentezde belirgin azalmalara neden olmuştur. Yaklaşık %50'lik azalma 5 M Pb ortamında elde edilmiştir. 24 saat süreyle 20 M Pb'ye maruz bırakılma alg için letal etki yapmıştır. Alg tarafından dış ortamdaki 1,5 ve 20 M Pb ortamında alınan Pb miktarı sırasıyla; 26.3, 99.1 ve 339.3 M Pb/g kuru ağırlık olmuştur. 5 M Pb'nin toksik etkileri transmisyon elektron mikroskopuyla incelenmiş ve kurşunun şiddetli ultra strüktürel zararlar verdiği gözlenmiştir. Örneğin kloroplastların tilakoid sistemleri hasar görmüştür. Nükleus ve mitokondrinin yapısında değişikliklere yol açmıştır. EDAX tekniği kullanılarak Pb'nin hücre duvarında, kloroplast, stigma ve vakuolde lokalize olduğu gözlenmiştir.

Puddu ve ark. (1988), kromun deniz algine olan toksik etkisi çalışmalarında Cr(VI)'nin minimum efektif konsantrasyonu (FC) 1.10^{-4} M olarak bulmuşlardır.

4.10^{-4} M'den daha düşük Cr(III) konsantrasyonlarının hücre büyümesi üzerine önemli bir şekilde inhibisyon etkisi yapmamıştır.

Cvetkovic ve ark. (1991), *Selenastrum capricornutum*'da 0.5 mg/L Cu derişiminden daha yüksek Cu derişimlerinin 96 saatlik etkileşiminden sonra fotosentezle ilişkili olan biyokimyasal ve fizyolojik prosesleri geri dönüşümsüz olarak inhibe etmiştir.

Wong ve Chang (1991), *Chlorella pyrenoidosa* yeşil alginin büyüme, fotosentez ve klorofil a sentezi üzerine üç ağır metalin (Cu, Cr, Ni) tek tek ve kombine etkilerini incelemişlerdir. Bu üç metalin yeşil alge uygulanan derişimi 0.1-1.0 mg/L aralığında olmuştur. Algdeki incelenen bu parametreler üzerine ağır metallerin toksik etki sırası Cu>Cr>Ni şeklinde olduğu belirlenmiştir.

Corradi ve Gorbi (1993), 1,5 ve 10 mg/L Cr(VI) ($K_2Cr_2O_7$ olarak) etkisi altında *Scenedesmus acutus*'daki morfofizyolojiksel etkileri incelemişlerdir. Cr(VI) hücre çoğalmasını inhibe etmiştir. Keza doza bağlı olarak hücre morfolojisini de değiştirmiştir. Metilen mavisi boyamasıyla alg hücrelerinin dönüşümsüz olarak zarar gördüğünü kanıtlamıştır.

Rai ve ark. (1996), NaF, $AlCl_3$ ve AlF_3 'un sırasıyla yada kombine ($AlCl_3$ +NaF) olarak *Nostoc linckia*'nın büyüme, fotosentez, elektron transportu, nitrojen ve fosfor metabolizması ve ATP_{az} aktivitesi üzerine toksisitelerinin , $AlCl_3$ varlığında ve özellikle pH 6.0 ve pH 4.5'de arttığını gözlemlemişlerdir.

Ralph ve Burchett (1998), dört ağır metalin (Pb, Zn, Cu, Cd) etkisi altında laboratuvar koşullarında *H. ovalis*'teki fotosentetik yanıtları incelemişlerdir. Sonuçlar açıkça, klorofil a'nın ağır metal stresinin belirlenmesinde etkili olduğunu göstermiştir. 1'den 10 mg/L olan ağır metal derişimleri bazı akut toksik yanıtlara neden olmuştur. Fotosentez üzerine ağır metallerin etkileri karşılaştırıldığında Cu ve Zn, Pb ve Cd'ye oranla daha büyük etkilere sahip olduğu görülmüştür. Bazı istisnalar hariç fotosentetik pigment içeriği genellikle klorofil a fluorescence yanıtlarını doğrulamıştır.

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

Rai ve ark. (1998), *Chlorella vulgaris*'in büyüme, besin alınımı, fotosentez, fotosentetik elektron transportu, nitrojen enzimleri, fosfor metabolizması ve ATPaz aktivitesi üzerine $AlCl_3$, AlF_3 , NaF ve $AlCl_3 + NaF$ kombinasyonu ile inhibe edildiğini bulmuşlardır.

Vajpayee ve ark. (1999), *Nelumbo nucifera* Gaertn'de krom birikimini ve bunun fotosentetik pigment, nitrat redüktaz aktivitesi ve protein içeriğine etkilerini çalışmışlardır. Farklı krom konsantrasyonlarında (50-200 μ m) büyütülmüş bitki dokularında benzer birikim miktarları gözlenmiştir. Bununla birlikte en yüksek birikim köklerde gözlenmiştir. Bitki dokularındaki çok yüksek krom birikimi klorofil, protein içeriği ve in vitro nitraz redüktaz aktivitesini önemli ölçüde inhibe etmiştir.

Lu ve ark. (2000), klorofil fluorescence analizi ile *S. plantensis* siyanobakterin fotosentetik performansı üzerine yüksek civa derişimlerinin akut toksisitesini araştırmışlardır. Çalışmada *S. plantensis* iki saat süreyle 20 μ M Hg etkisine bırakılmış ve çalışma sonucunda fotosentezi önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. Civadan özellikle PS II elektron transport sistemi etkilenmiştir.

Nichols ve ark. (2000), 1 ve 2 mg/L Cr(VI)'a maruz bıraktıkları *Salvinia minima*'da bitkinin kroma karşı vermiş olduğu fizyolojik cevapları incelemişlerdir. Krom varlığında *Salvinia*'nın büyümesi ve CO_2 alınımı belirgin ölçüde azalmıştır. Aynı sonuçlar klorofil a, klorofil b ve karoten konsantrasyonları için de elde edilmiştir. Cr(VI)'nın olumsuz etkilerinin büyük bir çoğunluğu deneyin 2. haftasında gözlenmiştir. Bitkinin özellikle mavi ve kırmızı dalga boyundaki ışığı alma kapasitesi Cr(VI)'nın konsantrasyonundaki artma ile azaldığını ve Cr(VI) artışında çözülebilir şeker, nişasta ve toplam yapısal olmayan karbonhidrat konsantrasyonu belirgin bir biçimde arttığını rapor etmişlerdir.

Soldo ve Behra (2000), tatlı su perifitonlarının kommunité yapıları üzerine uzun-dönem bakır etkilerini ve Cu, Zn, Ni ve Ag'ye kısa-dönem fotosentetik yanıtları incelemişlerdir. Tatlı su perifitonların 0, 0.05, 0.1, 0.5, 1 ve 5 μ M Cu'ya uzun dönemli etkilerine bırakılmıştır. 12 hafta sonra taksonomik kompozisyonların, fotosentezin Cu'dan nasıl etkilendiğine bakılmıştır. *Oocystis nephrocytioides* miktarı 5 μ M Cu ortamında kontrole göre %56 artmıştır. En yüksek Cu etkileşimi dışında,

kommunitte, fotosentez hızı bakımından önemli farklılık göstermemekle birlikte metallere kısa dönemlik etkileşimde fotosentez toleransı etkilemiştir. Cu'ya toleranstaki önemli artışlar 0.1 μM 'dan daha yüksek Cu konsantrasyonlarında gözlenmiştir.

Bajguz (2000), *Chlorella vulgaris* alg hücreesindeki ağır metal (Cu, Pb, Cd, Zn) birikimi ve büyüme üzerine bu metallerin çeşitli konsantrasyonlarıyla karıştırılmış 24-epibrassinolide (24-epiBL)'nin etkilerini incelemiştir. 10^{-3} M ağır metal konsantrasyonunun tek yada 24-epiBL ile karıştırılmış şeklinin *C. vulgaris* üzerine öldürücü bir etki göstermiştir. 10^{-6} ve 10^{-4} M metal konsantrasyonları 24-epiBL ile birlikte tek bir metalin yaptığı etkiye oranla hücre sayısı üzerine oldukça güçlü bir şekilde stimüle edici etki yapmıştır. Çok düşük pH'da *C. vulgaris* hücrelerindeki ağır metal birikimi artmıştır.

Gorbi ve ark. (2001), krom zehirlenmesi ve ışık yoğunluğu için farklı hassasiyete sahip tatlı su algi *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae)'un iki ırkında krom alınımı üzerine ışık yoğunluğunun etkilerini çalışmışlardır. Cr toksisitesi, alg büyüme hızı, metilen mavisi ile boyama ve fotosentetik aktivitenin belirlenmesiyle değerlendirmişlerdir. 2 ve 4 günlük muameleden sonra Cr birikimi, hücre kuru ağırlığı, protein ve karbonhidrat içeriği değerlendirilmiştir. Cr içeriği ile mortalite arasında direkt bir ilişki yalnızca Cr miktarı ile protein içeriği arasında gözlenmiştir. Her iki türde de düşük yoğunluktaki ışıkta krom alınımı daha az olmuştur.

Prasad ve ark. (2001), bir su bitkisi olan *Lemna trisulca*'da artan Cd (10 mM'a kadar) ve Cu (50 μM 'a kadar) derişimlerinin etkisinde meydana gelen çeşitli fizyolojik yanıtları incelemişlerdir. *L. trisulca*, Cd'nin artan konsantrasyonlarına karşı fotosentetik pigment konsantrasyonlarında önemli değişiklik olmadan tolere ederken 25 ve 50 μM Cu konsantrasyonlarında bitkide pigment degradasyonu gözlenmiştir. Cd'nin esas etkilediği prosesler, toplam gaz değişimi ve net fotosentez iken Cu klorofil a ve karotinoid konsantrasyonunun düşmesine ve PSII'nin bozulmasına bağlı olarak toplam gaz değişimi ve net fotosentezi inhibe etmiştir. Cd etkisinde 7 ve 8 kDa ağırlığında iki polipeptit sentezi gözlenmişken Cu etkisinde herhangi bir ekstra protein sentezi gözlenmemiştir.

Bossuyt ve Janssen (2004) tatlı su yeşil algı *Pseudokirchnerrella subcapitata* 0.5'den 1000µg Cu/L'ye 3 ay süreyle bırakılmıştır ve metal etkilenmesine bağlı olarak algde meydana gelen fizyolojik yanıtları incelemiştir. Klorofil a içeriği 8,4 ±3,1'den 28,6±7,5.10⁻¹⁴ g/hücre, karotenoid içeriği 3,7 ±0,8'den 7,1±1,2.10⁻¹⁴ g/hücre yükselmiştir. Hücre içi Cu konsantrasyonu ise 0,099'dan 20,6.10¹⁵ g Cu/hücre'ye yükselmiştir.

Soldo ve ark. (2005) *Oocystis nephrocytioides* yeşil algini 0.04 µM Cu ve 2 µM Cu konsantrasyonlarına bırakmışlardır. Büyüme, fotosentez hızı, klorofil a ve b içeriği, bakır birikimi, bakırın hücresel dağılımı ve ultrastrüktürel lokasyonu belirlenmiştir. Hem klorofil a hem de b içeriği azalmıştır. Hücre içi bakır konsantrasyonu (0.04 µM Cu için) %8'den (2 µM Cu için) %60'a çıkmıştır. Ayrıca çalışmada hücre içi Cu'nun *O.nephrocytioides* hücrelerinin tilakoidlerinde ve pirenooidlerinde lokalize olduğu da kanıtlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

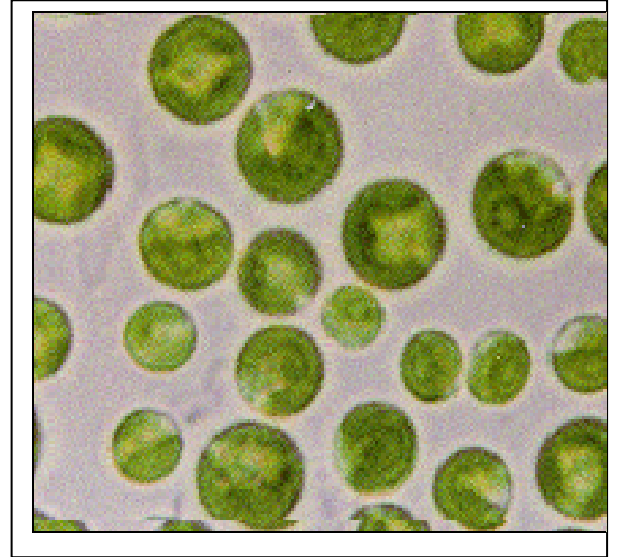
3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Materyal

Çalışmada kullanılan alg türü *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta) Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Temel Bilimler Bölümü, Plankton laboratuvarı'ndan sağlanmıştır.

Çizelge 3.1. *C. vulgaris*'in sistematığı
(Güner ve Aysel,1989)

Alem	Bitkiler
Şube	Chlorophyta (Yeşil Algler)
Sınıf	Chlorophyceae
Takım	Chlorococcales
Familiya	Oocystaceae
Cins	Chlorella
Tür	<i>Chlorella vulgaris</i>



Şekil 3.1. *Chlorella vulgaris*

3.1.1.1. *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris, mikroskobik boyutta (2-8 μ çapında), tek hücreli, Chlorophyta (Yeşil algler) grubundan bir alg türüdür. Eski zamanlardan beri besin olarak kullanılmaktadır. *Chlorella*'nın tek hücreli yapısı; vitamin, protein, mineral, amino asitler, nükleik asitler (RNA,DNA), temel yağ asitleri, enzimler ve karotenoidlerin yoğun bir kaynağı olmasına büyük bir avantaj sağlamaktadır. *Chlorella* bu besinleri saf, katkısız ve doğal olarak mükemmel bir denge içerisinde

barındırır ve tek başına bile tam bir besindir. *Chlorella*, %50-60 oranında proteinden oluşmakta olup klorofil'in doğada bilinen en yüksek oranlı kaynağıdır. Ayrıca demir, iyot, çinko, magnezyum, fosfor ve kalsiyum da içermektedir. *Chlorella*, sığır karaciğerinin içermekte olduğu B₁₂ vitamininden daha fazla B₁₂ vitamini içerir (Jensen,1987, Singh, 1998).

Çizelge 3.2. *C. vulgaris*' in kimyasal kompozisyonu (% kuru ağırlık) (Phang, 1992).

Protein	%51-58
Lipid	%14-22
Karbonhidrat	%12-17
Mineral	%5-10

3.1.2. Kullanılan Çözeltiler

- a) **% 2 Na₂CO₃ Çözeltisi:** 2 g Na₂CO₃ 100 ml 0.1 N NaOH içinde çözülmüştür.
- b) **% 1 NaK Tartarat Çözeltisi:** 1 g NaK Tartarat 100 ml saf su içinde çözülmüştür.
- c) **% 5 CuSO₄. 5H₂O Çözeltisi:** 5 g CuSO₄.5H₂O 100 ml saf su içinde çözülmüştür.
- d) **D ayıracı:** 48 ml. a + 1 ml. b + 1 ml. c
- e) **Folin Ciocalteu's Ayıracı:** 1 ml. Folin ayıracı + 1 ml saf su.
- f) **0.1 N NaOH Çözeltisi:** 4 g NaOH bir miktar saf suda çözülüp son hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.
- g) **% 1'lik MgCO₃ Çözeltisi:** 1 g MgCO₃ bir miktar saf suda çözülüp son hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- h) **Krom Çözeltileri:** Çalışma materyali *C. vulgaris* (Chlorophyta)'te kromun etkilerini incelemek amacıyla potasyum dikromat (K₂Cr₂O₇) kullanılmıştır. Bu amaçla 1000 mg/L'lik krom stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stoktan, 0.1, 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimler hazırlanmıştır.

- i) **Jaworsky Besin Çözeltisi:** *Chlorella vulgaris*'in üretiminde kullanılan besin ortamı, Jaworsky ortamı olup içeriği Çizelge 3.3.'de belirtilmiştir. (Thompson ve ark., 1988)

Çizelge 3.3. Jaworsky besin çözeltisi (Thompson ve ark., 1988)

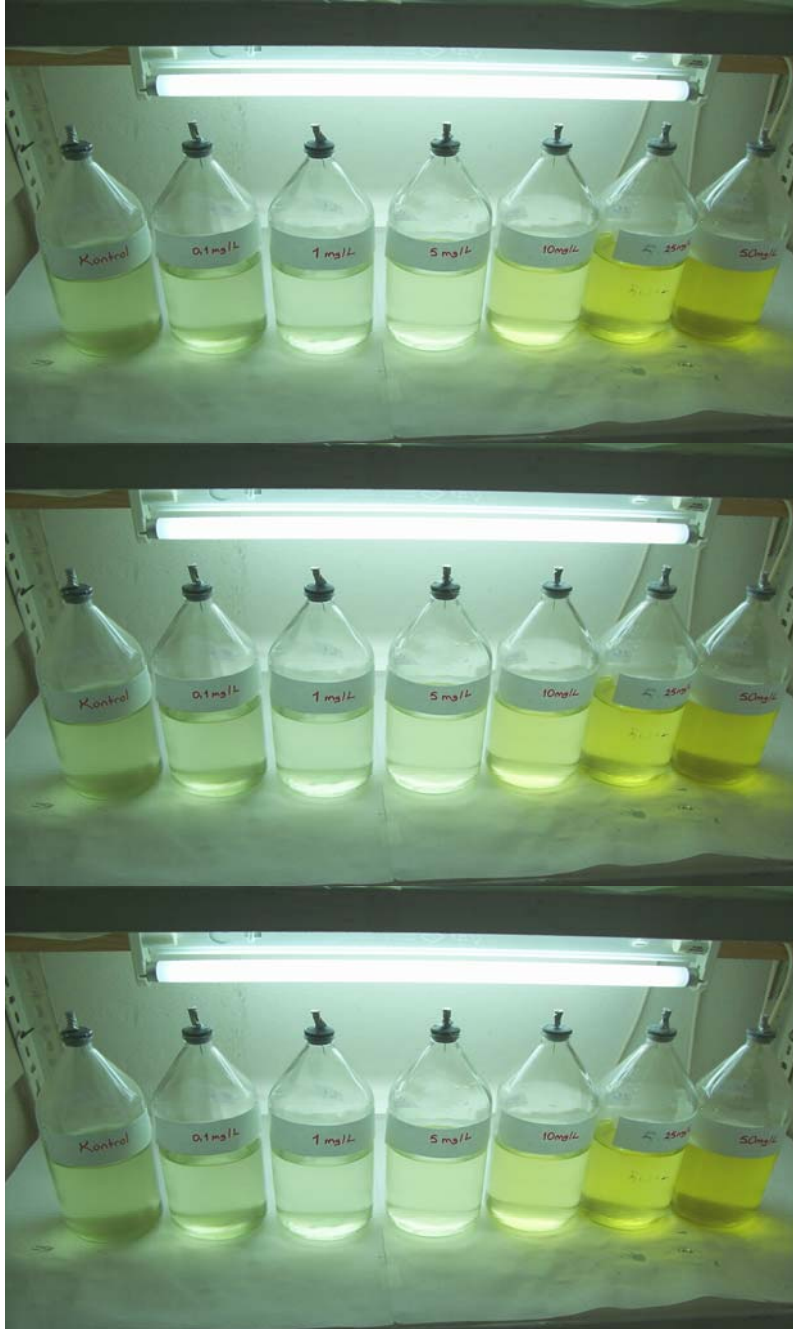
Stok Çözeltiler	200 ml
1. Ca(NO ₃) ₂ . 4H ₂ O	4.00 g
2. KH ₂ PO ₄	2.48 g
3. MgSO ₄ .7H ₂ O	10.00 g
4. NaHCO ₃	3.18 g
5. EDTA FeNa	0.45 g
EDTA Na	0.45 g
6. H ₃ BO ₃	0.496 g
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0.278 g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ . 4H ₂ O	0.20 g
7. Cyanocobalamin	0.008 g
Thiamine HCl	0.008 g
Biotin	0.008 g
8. NaNO ₃	16.0 g
9. Na ₂ HPO ₄ . 12H ₂ O	7.2g

Besin Çözeltisi: Hazırlanan stok çözeltilerden 1'er ml. alınıp saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra otoklava konmuştur.

3.2. Metod

3.2.1. Deney Ortamı

Türler 9 gün süre ile 1000 ml lik serum şişelerinde, kontrollü koşullar altında kültüre alınmışlardır. Sıcaklık 25±2°C, pH 7, aydınlatma sistemi 36 µmol/(m².sn) ve aydınlatma süresi 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır.



Şekil 3.2. Deney ortamı

C. vulgaris, krom derişimleri 0, 0.1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L olan yedi farklı ortamda üçer tekrarlı olarak kültüre alınmışlardır. Kùltürlerin hacmi az olduğundan havalandırma yapılmamıştır. Hücrelerin çökme ihtimaline karşılık, kùltürler günde üç kez çalkalanmıştır. Besin ortamı olarak Jaworsky ortamı kullanılmıştır.

3.2.2. Krom Analizi

Kültürlerin krom analizi her gün yapılmıştır. Örneklerden 10 mL alınıp cam filtrelerden (GF6) süzülüş ve süzütüden 2 mL alınıp üzerine eşit hacimde 0.01 M H₂SO₄ ilave edilmiştir (Gülnaz ve ark., 2005). Örneklerin krom analizi Ç.Ü. Jeoloji Mühendisliği Jeokimya Laboratuvarında Perkin Elmer AS 3100 Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresiyle yapılmıştır.

3.2.3. Biyokonsantrasyon Faktörleri (BKF)

C. vulgaris'in BKF değerleri algin aldığı metal miktarının solüsyonda kalan metal miktarına bölünmesiyle bulunmuştur (Stevenson ve ark., 1996). BKF değerleri denenen tüm süreler ve derişimler için hesaplanmıştır.

BKF=Algin aldığı metal miktarı (mg/L)/Solüsyonda kalan metal miktarı (mg/L)

3.2.4. Hücre Sayımı

Kültür yoğunluğunu belirlemek amacıyla, hücre sayımı hergün yapılmıştır. *C. vulgaris*'in hücre sayımı Thoma Lamı yardımıyla ışık mikroskobu altında yapılmıştır.

3.2.5. Büyüme Hızı

Kültür ortamındaki *C. vulgaris*'in büyüme hızları μ değerleri hesaplanarak bulunmuştur (Guillard, 1973).

$$\mu: \log (N_1/N_0) \times (3,332/t)$$

N₀= Başlangıç Hücre Yoğunluğu (Hücre/ml)

N₁= t zamanındaki Hücre Yoğunluğu (Hücre/ml)

t= Süre (Gün)

3.2.6. Protein Analizi

C. vulgaris'in protein analizleri 1, 3, 6 ve 9. günlerde yapılmıştır. Metot olarak Lowry yöntemi kullanılmıştır (Lowry ve ark., 1951). Bu yöntemde göre; örneklerin üzerine 0.1 N NaOH eklenerek 1 gece +4°C'de buzdolabında bekletilmiştir. Ertesi gün santrifüj edilip süpernatant kısım ayrıldıktan sonra Çizelge 3.4.'de gösterilen şekilde pipetleme yapılmıştır.

Çizelge 3.4. Protein analizi pipetleme tablosu

	Kör	Örnek
Süpernatant (µl)	--	200
D Ayırıcı (µl)	1000	1000

Oda sıcaklığında 10 dakika bekletilerek her bir tüpe 100µl Folin Ciocalteu's ayırıcı eklenmiştir. 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 750 nm. dalga boyunda absorpsiyon okunarak sonuçlar standart eğriden değerlendirilmiştir.

3.2.7. Şeker Analizi

C. vulgaris'in şeker analizleri 1, 3, 6 ve 9. günlerde yapılmıştır. Metot olarak Fenol-Sülfürik asit yöntemi kullanılmıştır (Kochert, 1978). Bu yöntemde göre; örnekler kuartz kum ve saf su ile homojenize edilmiştir. Homojenat 5000 devirde 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısım ayrılmıştır. Süpernatanttan 0,4 ml alınıp üzerine 0,4 ml fenol ve 2 ml sülfürik asit eklenmiştir. Bu karışım 10 dakika oda sıcaklığında daha sonra 20 dakika 30 °C'lik su banyosunda tutulmuştur. Örnekler 490 nm dalga boyunda okunarak sonuçlar standart eğriden değerlendirilmiştir.

3.2.8. Pigment Analizi

Kültürlerin pigment analizleri hergün yapılmıştır. Metot olarak Parsons ve Strickland (1963) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde göre; örneklerden 5'er ml

alınıp üzerlerine bir damla % 1'lik MgCO₃ damlatılmıştır. Örnekler 0,45 µ por çaplı filtre kağıdından süzülmüştür. Filtre kâğıtları katlanıp 15 ml'lik tüpler içerisine konulup üzerine 10 ml, %90'lık aseton eklenmiştir. Tüpler +4 °C'de bir gece buzdolabında bekletildikten sonra 3500 devirde 15 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra spektrofotometrede 630 nm, 645 nm, 665 nm ve 750 nm'de aseton körüne karşı absorpsanlar okunmuştur (Parsons ve Strickland, 1963).

Hesaplama:

$$\text{Klorofil a} = 11,6 \times D_{665} - 0,14 \times D_{630} - 1,31 \times D_{645}$$

$$\text{Klorofil b} = 20,7 \times D_{645} - 4,34 \times D_{665} - 4,42 \times D_{630}$$

$$\mu\text{g klorofil (a,b)} / L = \text{klorofil (a,b)} \times v / l \times V$$

$$V (L) = \text{Filtre edilen su örneği}$$

$$v (ml) = \text{Kullanılan aseton}$$

$$l (cm) = \text{Işık yolu}$$

3.2.9. pH Analizi

Kültürlerin pH analizleri her gün HI 9025 microcomputer pH metresi ile ölçülmüştür.

3.2.10. İstatistiksel Hesaplamalar

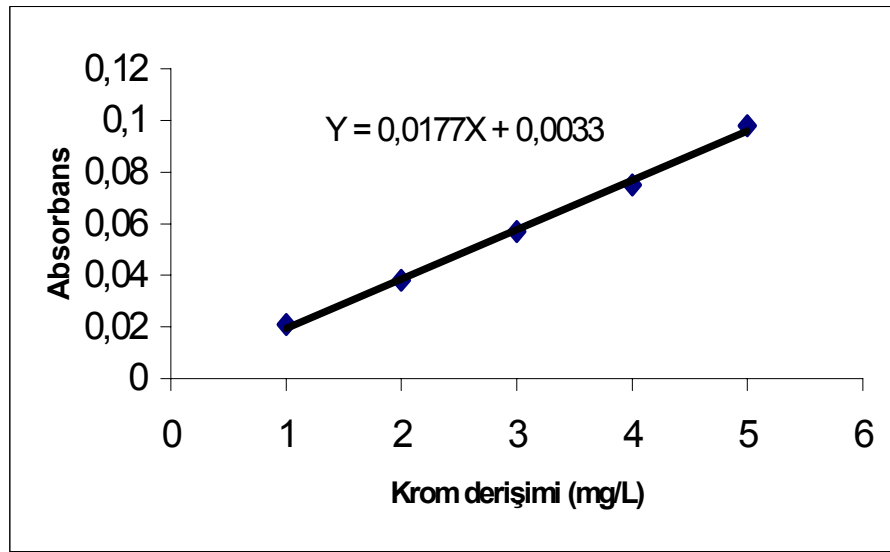
Deneylerden elde edilen verilerin istatistiksel analizleri ‘‘Regresyon Analizi’’ ve ‘‘Student-Newman Keul’s Test (SNK)’’ testleri uygulanarak yapılmıştır (Rohlf ve Sokal, 1969; Sokal ve Rohlf, 1969).

4. BULGULAR

Bu çalışmada *Chlorella vulgaris* (*Chlorophyta*) 0, 0.1, 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik krom derişimlerinin etkisine bırakılmış ve 9 gün süre ile krom birikimi, BKF, hücre sayısı, büyüme hızı, protein, şeker, klorofil-a, klorofil-b ve pH üzerine kromun etkisi araştırılmıştır.

4.1. Krom Birikimi

C. vulgaris'teki krom düzeylerini saptamak için krom standartları ile absorbans arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon doğrusu kullanılmıştır (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Krom derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki

Krom standartlarının absorbans değerlerinden $Y = 0.0177X + 0.0033$ formülü bulunmuştur. Burada X krom derişimini; Y değeri de absorbansı göstermektedir. Bu regresyon formülü kullanılarak deney çözeltilerindeki krom miktarı, oradan da *C. vulgaris*'teki krom miktarı hesaplanmıştır.

Belirlenen her derişim ve sürede üç tekrarlı olarak saptanan krom düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları Çizelge 4.1.'de verilmiştir. 9 günlük süre sonunda aynı derişimde krom birikimi bakımından günler arasındaki

ayrımı belirlemek, aynı şekilde 9 günlük süre içinde aynı gün içindeki artan krom derişimleri arasındaki ayrımı saptamak amacıyla veriler, SNK testi (Student Newman Keul's Test) ile analiz edilmiştir. Çizelgede x, y, z, t, u ve v harfleri derişimler arasında; a, b, c, d, e, f, g, h ve k harfleri ise günler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *C. vulgaris*'teki krom birikimine etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistiksel analizleri yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.2.'de verilmiştir.

Belirli bir zaman süreci dikkate alındığında kontrol grubunda Cr derişimleri düzeyin altında bulunmuşken ortamda bulunan Cr derişimi arttığında *C. vulgaris*'teki Cr birikiminin de önemli oranlarda arttığı belirlenmiştir. Birinci gün dışında tüm günlerde derişimlerdeki artışa bağlı olarak *C. vulgaris*'teki Cr birikimi artışı önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). 1. günün 1 ve 5 mg/L'lik derişimler arasında Cr birikimi bakımından önemli bir istatistik ayrım yoktur ($P > 0.05$).

1. günde 0.1, 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde *C. vulgaris* bulunduğu ortam derişimindeki Cr'un sırasıyla; %43, %51, %17, %20, %22 ve %20'sini biriktirmişken 9. günde bu birikim sırasıyla; %73, %96, %60, %50, %39 ve %50'yi bulmuştur. Bu sonuçlar, buldukları ortam derişimlerine göre *C. vulgaris*'teki Cr birikiminin yüksek derişimlerdekine (10, 25 ve 50 mg/L) oranla düşük derişimlerde (0.1, 1 ve 5 mg/L) daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Aynı derişimin günleri arasındaki istatistiksel değerlendirmede 0.1 mg/L'lik derişimde 1. ve 2. gün ve 5. ve 6. gün arasında krom birikimindeki artış önemsiz bulunmuşken ($P > 0.05$), diğer günler arasındaki artış önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

1 mg/L'lik derişimde 1. ve 2. günler arasındaki krom birikimi artışı önemsiz bulunmuşken ($P > 0.05$), diğer günler arasındaki artış önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

5 mg/L'lik derişimde 5. ve 6. günler arasındaki krom birikimi artışı önemsiz bulunmuşken ($P > 0.05$), diğer günler arasındaki artış önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

10 mg/L'lik derişimde 1. ve 2. ve 5. ve 6. günler arasındaki krom birikimi artışı önemsiz bulunmuşken ($P > 0.05$), diğer günler arasındaki artış önemli bulunmuştur.

25 mg/L'lik derişimde 6. ve 7. günler arasındaki krom birikimi artışı önemsiz bulunmuşken ($P>0.05$), diğer günler arasındaki artış önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

50 mg/L'lik en yüksek derişimde ise tüm günler arasındaki krom birikimindeki artış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Süreye bağılı olarak krom miktarı artmıştır.

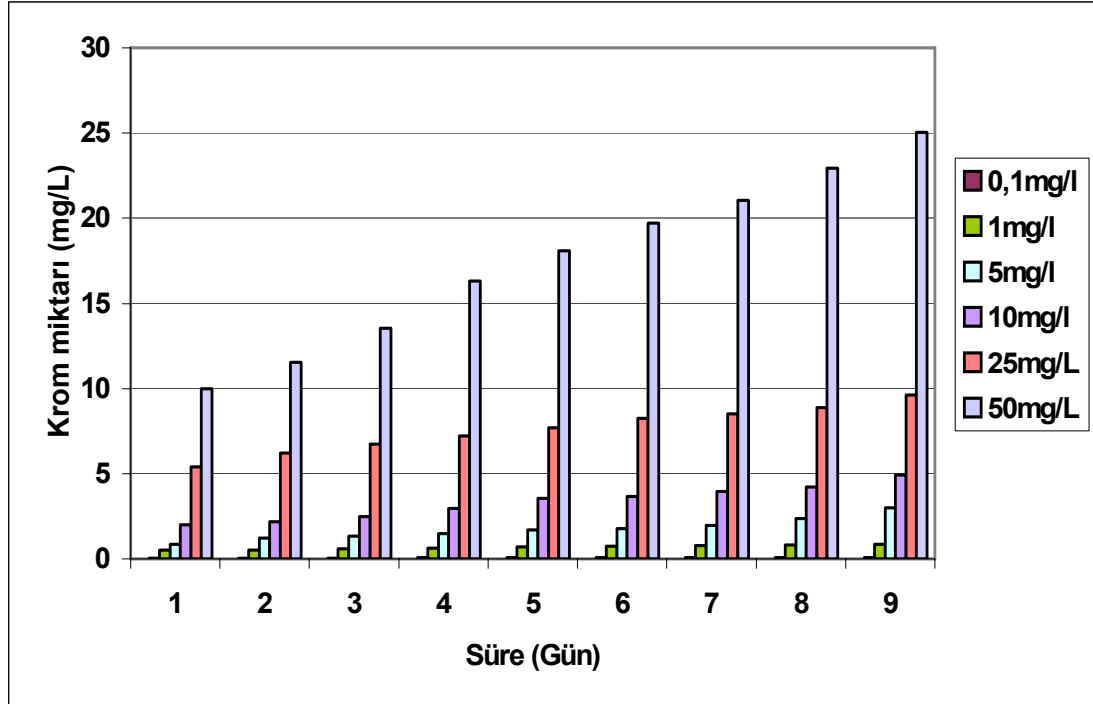
Süreye bağılı olarak *C. vulgaris*'teki Cr birikimi artışının düşük derişimlere (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu bulunmuştur. 0.1, 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde *C. vulgaris*'teki Cr birikimi 1. güne göre 9. günde sırasıyla; %69, %68, %253, %147, %78 ve %150 oranında artmıştır.

Çizelge 4.1. *Chlorella vulgaris*'de farklı ortam derişimlerine ve günlere bağı krom birikimi (mg/L)

Derişim (mg/L)	1. Gün Ort±S.H. *	2. Gün Ort±S.H. *	3.Gün Ort±S.H. *	4.Gün Ort±S.H. *	5.Gün Ort±S.H. *	6.Gün Ort±S.H. *	7.Gün Ort±S.H. *	8.Gün Ort±S.H. *	9.Gün Ort±S.H. *
0.0	DA	DA	DA	DA	DA	DA	DA	DA	DA
0.1	0.043±0.001 xa	0.044±0.001 xa	0.051±0.002 xb	0.058±0.001 xc	0.06±0.001 xd	0.06±0.001 xd	0.063±0.004 xe	0.066±0.004 xf	0.073±0.005 5 xg
1.0	0.51±0.02 ya	0.54±0.02 ya	0.58±0.004 yb	0.62±0.003 yc	0.69±0.01 yd	0.73±0.02 ye	0.76±0.005 yf	0.82±0.008 yg	0.86±0.008 yh
5.0	0.85±0.03 ya	1.22±0.02 zb	1.35±0.005 zc	1.49±0.008 zd	1.72±0.02 ze	1.78±0.01 ze	1.95±0.03 zf	2.37±0.04 zg	3.00±0.05 zh
10.0	1.99±0.16 za	2.18±0.03 ta	2.48±0.02 tb	2.96±0.07 tc	3.54±0.02 td	3.67±0.02 td	3.95±0.03 te	4.22±0.05 tf	4.92±0.10 tg
25.0	5.40±0.29 ta	6.21±0.004 ub	6.72±0.09 uc	7.22±0.09 ud	7.68±0.03 ue	8.25±0.03 uf	8.52±0.07 uf	8.87±0.04 ug	9.60±0.06 uh
50.0	9.99±0.06 ua	11.55±0.99 vb	13.53±0.04 vc	16.30±0.01 vd	18.07±0.04 ve	19.70±0.05 vf	21.04±0.14 vg	22.94±0.11 vh	25.03±0.04 vk

* :x,y,z,t,u ve v harfleri derişimleri belirlemek; a,b,c,d,e,f,g,h ve k harfleri günler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.05). DA: Düzeyin Altında

Varyans kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Grup arası	6689.615	53	126.219	5203.8	P<0.05
Grup içi	2.620	108	0.024		



Şekil 4.2. *C. vulgaris*'te farklı ortam derişimlerine ve günlere bağı krom birikimi

4.2. BKF Değerleri

Belirlenen her bir derişim ve sürede üç tekrarlı olarak saptanan BKF değerlerinin aritmetik ortalamalar ve standart hataları Çizelge 4.2'de, BKF değerleri grafiğı Şekil 4.3'de verilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirmede kontrol grubunun BKF değerleri düzeyin altında bulunmuştur. Bununla birlikte belirli bir zaman süreci dikkate alındığında, 1. günün kontrol grubuna göre BKF değerlerindeki artış önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). 0.1 ve 1 mg/L'lik tüm derişimlerdeki BKF değerindeki artış önemli ($P < 0.05$), 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerdeki BKF değerindeki değışim önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$).

2. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerdeki BKF değer artışı önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). 0,1 ve 1 mg/L'lik derişimler arasındaki BKF değer artışı önemli ($P < 0.05$), 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki BKF değerindeki değışim önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$).

3. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerdeki BKF değerindeki artış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 5, 25 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki BKF değeri değişimi önemsiz ($P>0.05$), diğer derişimler arasındaki değişim önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

4, 5, 6 ve 8. günlerin her birinin kontrol grubuna göre tüm derişimlerin BKF değerlerindeki artış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 0.1 ve 1 mg/L'lik derişimler arasındaki BKF değeri artışı önemli ($P<0.05$), diğer derişimler arasındaki BKF değerindeki değişim önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

7. ve 9. günlerin kontrol grubuna göre tüm derişimlerin BKF değerindeki artış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 0.1 ve 1 mg/L derişimler arasındaki BKF değeri artışı önemli ($P<0.05$), 5, 10 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki BKF değeri değişimi önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

BKF değerleri 0, 10 ve 25 mg/L'lik derişimler dışında diğer tüm derişimlerde 1'in üstünde çıkmıştır. BKF değerlerindeki artış düşük derişimlerde (0.1, 1 ve 5 mg/L) diğer derişimlere oranla daha yüksektir.

Aynı derişimin günleri arasındaki istatistik değerlendirmede 0.1 mg/L'lik derişimde 1. ve 2. gün; 4. ve 5. ve 6. ve 7. günler arasında BKF değerindeki değişim önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki BKF değer artışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

1 mg/L'lik derişimde: 1, 2, 3 ve 4. günler; 4. ve 5. günler; 5. ve 6. günler ve 6. ve 7. günler arasındaki BKF değerlerindeki değişim önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki değişim önemli ($P<0.05$) bulunmuştur.

5 mg/L'lik derişimde, 2. ve 3. ; 3. ve 4. ve 5. ve 6. günler arasındaki BKF değeri değişimi önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki BKF değeri değişimi önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

10 mg/L'lik derişimde, 1. ve 2.; 2. ve 3.; 5. ve 6. günler arasında BKF değerindeki değişim önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki BKF değerindeki artış önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

25 mg/L'lik derişimde, 6. ve 7. günler arasındaki BKF değeri değişimi önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki BKF değeriindeki artış önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

50 mg/L'lik derişimin tüm günleri arasındaki BKF değeri artışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Süre arttıkça BKF değeri de artmıştır.

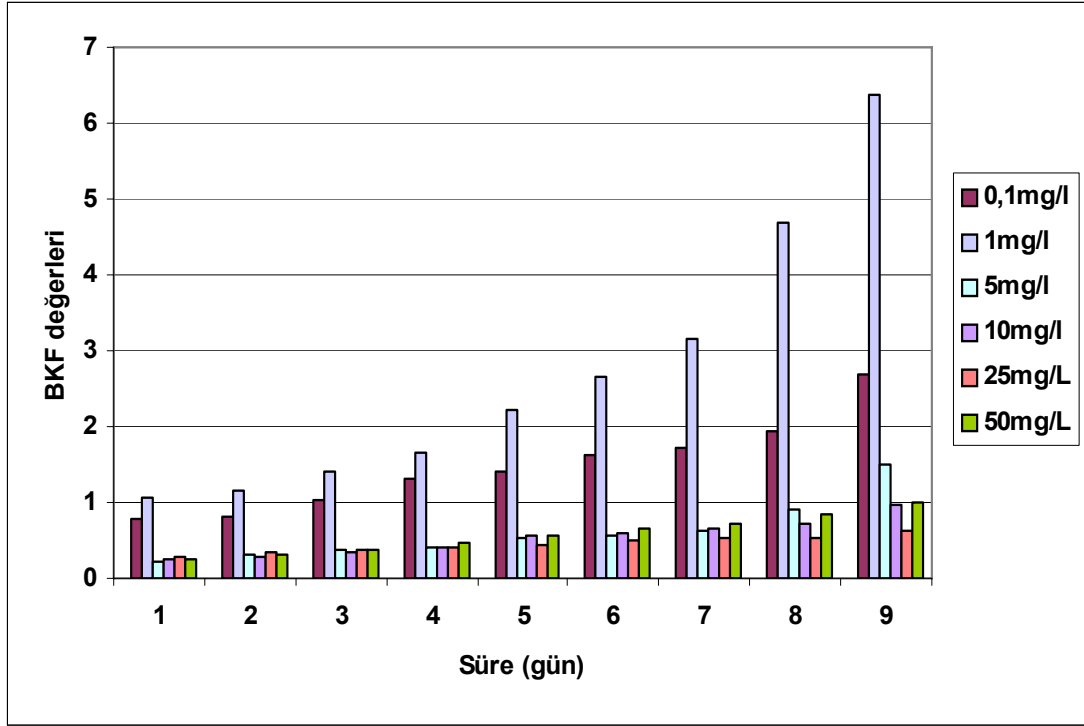
Tıpkı derişimler arasında olduğu gibi günler arasında da BKF değeriindeki artış düşük derişimlerde (0.1 ve 1 mg/L) daha yüksek olmuştur. 0.1 mg/L'lik derişimde 3. günde, 1 mg/L'lik derişimde 1. günde, 5 ve 50 mg/L'lik derişimde ise 9. günde BKF değerleri 1.0'ın üstüne çıkmıştır

Çizelge 4.2. *Chlorella vulgaris*'in krom etkisinde BKF miktarının günlere ve derişimlere bağı değişimi

Derişim (mg/L)	1. Gün Ort±S.H. *	2. Gün Ort±S.H. *	3. Gün Ort±S.H. *	4. Gün Ort±S.H. *	5. Gün Ort±S.H. *	6. Gün Ort±S.H. *	7. Gün Ort±S.H. *	8. Gün Ort±S.H. *	9. Gün Ort±S.H. *
0.0	DA	DA	DA	DA	DA	DA	DA	DA	DA
0.1	0.77±0.002 xa	0.80±0.01 xa	1.04±0.005 xb	1.31±0.05 xc	1.42±0.02 xc	1.63±0.07 xd	1.72±0.003 xd	1.94±0.05 xe	2.70±0.08 xf
1.0	1.05±0.01 ya	1.16±0.07 ya	1.40±0.01 ya	1.65±0.02 yab	2.23±0.10 ybc	2.67±0.17 ycd	3.16±0.01 yd	4.68±0.30 ye	6.37±0.40 yf
5.0	0.21±0.003 za	0.32±0.007 zb	0.37±0.005 zbc	0.42±0.003 zc	0.52±0.009 zd	0.55±0.006 zd	0.63±0.01 zte	0.90±0.003 zf	1.50±0.07 zg
10.0	0.25±0.03 za	0.28±0.01 zab	0.33±0.01 tb	0.42±0.02 zc	0.55±0.003 zd	0.58±0.008 zd	0.65±0.006 zte	0.73±0.02 zf	0.97±0.04 ztg
25.0	0.27±0.01 za	0.33±0.003 zb	0.37±0.01 zc	0.41±0.007 zd	0.45±0.002 ze	0.49±0.005 zf	0.52±0.004 zf	0.54±0.01 zg	0.62±0.003 th
50.0	0.25±0.02 za	0.30±0.02 zb	0.37±0.005 zc	0.48±0.003 zd	0.57±0.003 ze	0.65±0.004 zf	0.73±0.01 tg	0.85±0.02 zh	1.00±0.01 ztk

* :x,y,z ve t harfleri derişimleri belirlemek; a,b,c,d,e,f,g,h ve k harfleri günler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.05). DA: Düzeyin Altında

Varyans kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Grup arası	202.385	53	3.819	165.603	P<0.05
Grup içi	2.490	108	0.0230		



Şekil 4.3. *C. vulgaris*'de krom etkisinde günlere ve derişimlere bağı BKF değerleri

4.3. Hücre Sayımı

Kromun farklı derişimlerindeki *C. vulgaris*'e ait günlere ve derişimlere bağı hücre sayımları ve istatistiksel değerleri çizelge 4.3'de, hücre sayımları grafiğı şekil 4.4'de verilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirmede belirli bir zaman süresine bağı olarak 1. günün kontrol grubuna göre 0.1 ve 1 mg/L'lik derişimlerin hücre sayısındaki azalış önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). 5 ve 10 mg/L'lik derişimlerindeki hücre sayısı azalışı kontrol grubuna göre önemli bulunmuşken ($P<0.05$), kendi arasında önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerdeki hücre sayısındaki azalış kontrol grubuna göre ve kendi arasında önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

2, 3, ve 4. günün her birinin kontrol grubuna göre ve tüm derişimleri arasındaki hücre sayısı azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Ortamda bulunan krom derişimi arttıkça hücre sayısı azalmıştır.

5. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerindeki hücre sayısındaki azalış önemli bulunmuşken ($P<0.05$), 1 ve 5 mg/L'lik derişimler arasındaki hücre sayısı azalışı önemsiz ($P>0.05$), diğer derişimler arasındaki hücre sayısı azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

6, 7, 8 ve 9. günlerin kontrol grubuna göre tüm derişimlerin ve derişimler arasındaki hücre sayısındaki azalış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Ortamdaki krom derişimi arttıkça hücre sayısı azalmıştır.

Tüm sürelerde kontrol grubuna göre hücre sayısındaki azalışın düşük (0.1, 1 ve 5 mg/L) derişimlere oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu bulunmuştur. 1. günde kontrol grubuna göre 0.1, 1 ve 5 mg/L'lik derişimlerdeki hücre sayısındaki azalış sırasıyla, %0.4, %0.8 ve %0.11; 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde sırasıyla, %0.18, %0,30 ve %0,45 iken 9. günde yine kontrol grubuna göre düşük derişimlerdeki azalışlar sırasıyla, %59, %63 ve %65; yüksek derişimlerde ise sırasıyla, %71, %79 ve %83 olarak bulunmuştur.

Aynı derişimin farklı günleri arasındaki istatistiksel değerlendirme 0 mg/L'lik derişimdeki günler arasındaki hücre sayısı artışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

0.1 mg/L'lik derişimde ilk üç gündeki hücre sayısındaki artış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 4. ve 5. günler arasındaki hücre sayısı azalış önemsiz bulunmuşken ($P>0.05$), 6, 7, 8 ve 9. günler arasındaki azalış önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

1 mg/L'lik derişimde, ilk üç gündeki hücre sayısı artışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Bununla birlikte etkileşim süresi artınca hücre sayısı azalmaya başlamış ve 4, 5, 6, 7, 8, ve 9. günlerdeki hücre sayısı azalması önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

5 mg/L'lik derişimde, 1. ve 2. günler arasındaki hücre sayısı artışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 2. güne göre 3. gündeki hücre sayısı azalışı ile 4 ve 5 günler arasındaki hücre sayısı azalışı önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). 6, 7, 8 ve 9. günlerdeki hücre sayısı azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

10 mg/L'lik derişimde 1. güne göre 2. gündeki hücre sayısı artışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 3. ve 4. günler arasındaki hücre sayısı azalışı önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki azalış önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

25 mg/L'lik derişimde, 1. güne göre diğer tüm günlerdeki hücre sayısı azalışı önemli bulunmuşken ($P<0.05$), 2, 3 ve 4. günler arasındaki hücre sayısındaki azalış önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

50 mg/L'lik derişimde, tüm günler arasındaki hücre sayısının azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Süreye bağılı olarak hücre sayısı azalmıştır.

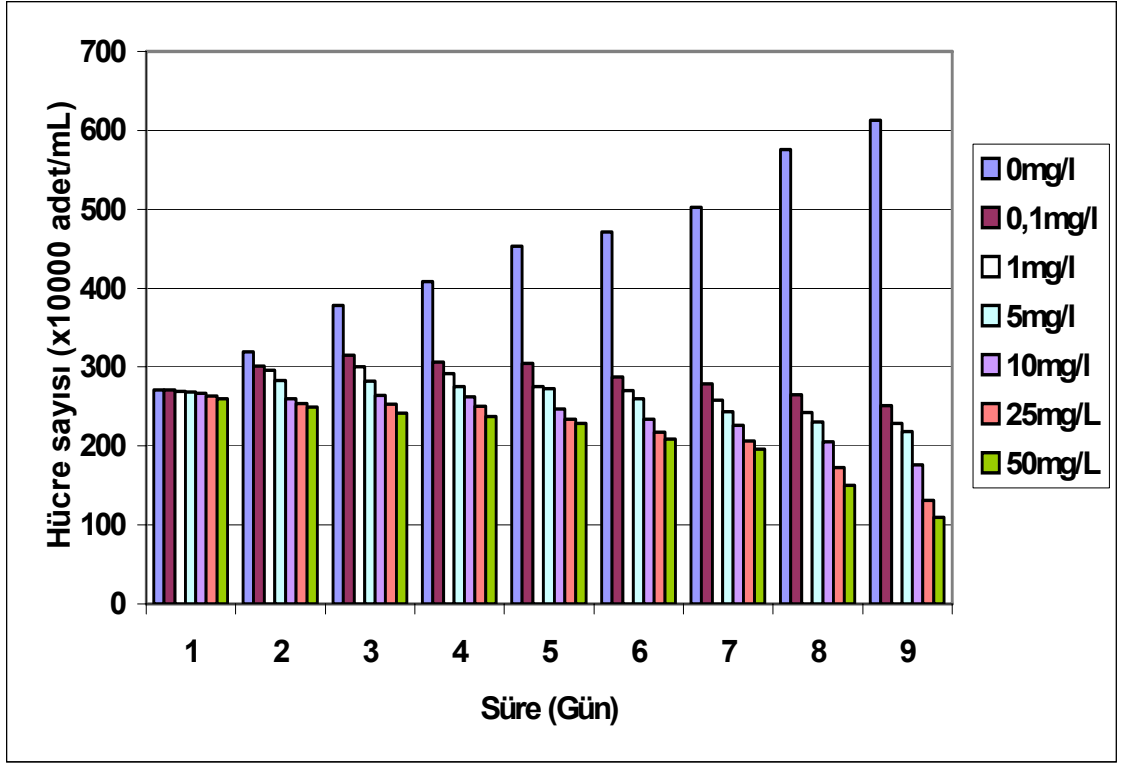
Süreye bağılı olarak *C. vulgaris*'teki hücre sayısının düşük derişimlere (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu bulunmuştur. 1. güne göre 9. gündeki . 0.1, 1 ve 5 mg/L'lik derişimlerdeki hücre sayısı azalışları sırasıyla, %7, %15 ve %19 iken 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerdeki hücre sayısı azalışları %34, %50 ve %58 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3. *Chlorella vulgaris*'in krom etkisinde günlere ve derişimlere bağı hücre sayısı değişimi

Derişim (mg/L)	1. Gün Ort±S.H. *	2. Gün Ort±S.H. *	3.Gün Ort±S.H. *	4.Gün Ort±S.H. *	5.Gün Ort±S.H. *	6.Gün Ort±S.H. *	7.Gün Ort±S.H. *	8.Gün Ort±S.H. *	9.Gün Ort±S.H. *
0.0	271.3±0.34 xa	319.0±0.58 xb	377.7±1.86 xc	408.0±0.58 xd	453.0±0.54 xe	471.1±2.65 xf	502.7±0.91 xg	576.1±4.80 xh	612.4±0.92 xk
0.1	270.7±0.37 xa	301.0±0.62 yb	315.0±1.15 yc	306.3±2.71 yb	305.0±2.71 yb	287.3±0.89 yd	278.4±0.88 ye	265.3±1.45 yf	251.2±1.12 yg
1.0	269.7±0.41 xya	296.0±1.16 zb	300.3±0.89 zc	291.43±0.85 zd	275.7±0.33 ze	270.4±0.33 za	258.2±1.17 zf	242.2±0.97 zg	228.7±0.71 zh
5.0	268.3±0.46 yza	283.0±0.62 tb	282.7±1.45 tb	275.5±1.45 tc	272.7±1.45 zc	259.7±0.91 td	243.3±0.95 te	230.7±0.85 tf	218.3±0.92 tg
10.0	266.7±0.89 za	259.8±1.45 ub	264.4±0.36 uac	262.3±0.33 uc	246.7±0.89 td	234.0±0.58 ue	2236.0±1.15 uf	205.0±0.59 ug	176.0±0.58 uh
25.0	263.4±0.91 ta	253.6±1.20 vb	253.0±1.73 vb	250.3±0.33 vb	233.7±1.20 uc	217.7±0.37 ud	206.7±1.72 ve	172.8±0.89 vf	131.2±1.53 vg
50.0	259.4±0.67 ua	249.7±0.34 wb	241.7±1.68 wc	237.7±1.20 wd	228.9±0.67 ve	208.7±0.88 wf	196.0±1.81 wg	150.4±1.45 wh	109.7±1.21 wk

* :x,y,z,t,u,v ve w harfleri derişimleri belirlemek; a,b,c,d,e,f,g,h ve k harfleri günler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.05).

Varyans kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Grup arası	1485725	62	23963.3	5032.3	P<0.05
Grup içi	600.000	126	4.762		



Şekil 4.4. *Chlorella vulgaris*'in günlere ve farklı krom derişimlerine bağlı hücre sayısı

4.4. Büyüme Hızı Değerleri

Kromun farklı derişimlerindeki *C. vulgaris*'e ait büyüme hızı ve istatistiksel değerler 4.4'de, büyüme hızı grafiği şekil 4.5'te verilmiştir.

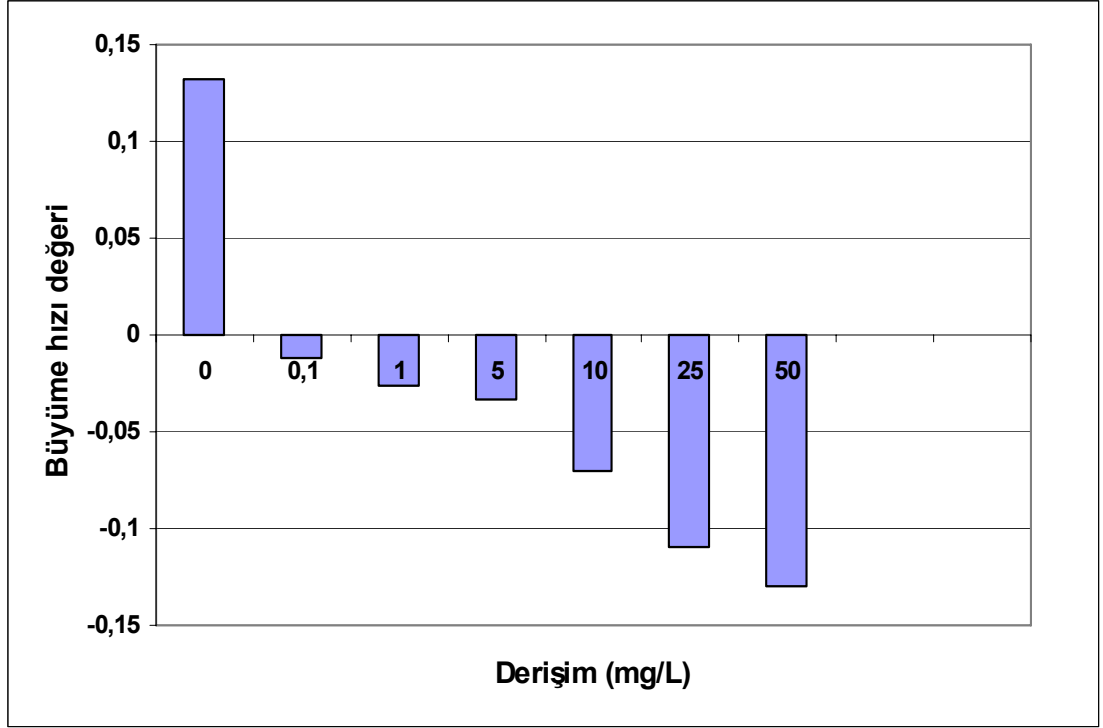
Yapılan istatistiksel değerlendirmede, kontrol grubuna göre tüm derişimlerdeki büyüme hızındaki azalış önemli ($P < 0.05$), 1 ve 5 mg/L'lik derişimler arasındaki büyüme hızı değişimi önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$).

Çizelge 4.4. *C. vulgaris*'in farklı krom derişimlerine bağı büyüme hızı değerleri

Derişim (mg/L)	Büyüme Hızı Değerleri Ort±S.H. *
0	0.131±0.004 x
0.1	-0.012±0.001 y
1.0	-0.026±0.002 z
5.0	-0.033±0.001 z
10.0	-0.07±0.001 t
25.0	-0.11±0.002 u
50.0	-0.13±0.002 v

* :x,y,z, t, u ve v harfleri derişimler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.05).

Varyans kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Grup arası	0.133	6	0.022	4641.1	P<0.05
Grup içi	6.66	14	4.76		



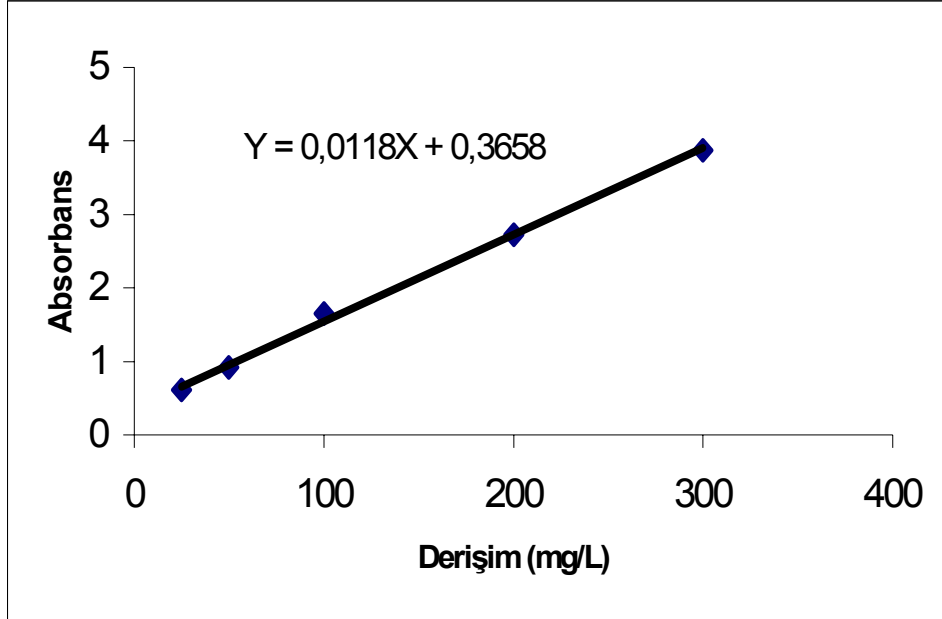
Şekil 4.5. *C. vulgaris*'in farklı krom derişimlerine bağı büyüme hızı değerleri

4.5. Protein Miktarı

C.vulgaris'deki protein düzeylerini saptamak için protein standartları ile absorbans arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon doğrusu kullanılmıştır.

Protein standartlarının absorbans değerlerinden $Y= 0.0118X + 0.3658$ formülü bulunmuştur. Burada X protein derişimini; Y değeri de absorbansı göstermektedir. Bu regresyon formülü kullanılarak *C. vulgaris*'deki protein miktarı hesaplanmıştır.

Belirlenen her derişim ve sürede üç tekrarlı olarak saptanan protein düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları çizelge 4.5'de protein miktarı grafiğı şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.6. Protein derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki

Yapılan istatistiksel değerlendirmede, belirli bir zaman süresi boyunca 1. günün kontrol grubuna göre 0.1 mg/L'lik derişim miktarı azalışı önemsiz ($P>0.05$), diğer derişimlerin protein miktarı azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 1, 5 ve 10 mg/L'lik ; 5, 10 ve 25 mg/L'lik ve 25 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki protein miktarı azalışı önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

3. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerin protein miktarındaki azalış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki protein miktarı azalışı önemsiz bulunmuşken ($P>0.05$), bu derişimlerdeki protein miktarı azalışı 0.1 mg/L'lik derişime göre önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

6. günün kontrol grubuna göre diğer tüm derişimlerdeki protein miktarındaki azalış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 0.1 mg/L'lik derişime göre 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik ve 1 mg/L'lik derişime göre de 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimdeki protein miktarı azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 1, 5, 10 ve 25 mg/L'lik ve 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki protein miktarı azalışı önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

9. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerdeki protein miktarındaki azalış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki protein miktarındaki azalış önemsiz ($P>0.05$) bulunmuşken, bu derişimlerdeki protein miktarı azalışı 0.1 mg/L'lik derişime göre önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Protein miktarındaki azalışlar, kontrol grubuna göre düşük derişimlere (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu bulunmuştur. Kontrol grubuna göre protein miktarındaki azalışlar 1. günün 0.1, 1 ve 5 mg/L'lik derişimlerinde sırasıyla, %6.5, %27 ve %31; 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerinde sırasıyla, %32, %39 ve %42'dir. 9. günün yine kontrol grubuna oranla düşük derişimlerinde sırasıyla %43, %55 ve %58; yüksek derişimlerinde ise sırasıyla, %63, %65 ve %66 olarak bulunmuştur.

Aynı derişimin günleri arasındaki istatistiksel değerlendirmede, 0 grubundaki protein miktarı derişimi önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

0.1, 1, 5, 10 ve 25 mg/L'lik derişimlerde 1. güne göre diğer günlerdeki protein miktarı azalışı önemli ($P<0.05$), 3, 6 ve 9. günler arasındaki protein miktarı azalışı önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

50 mg/L'lik derişimde belirlenen süreler arasındaki protein miktarı değişimi önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Süre arttıkça protein miktarı azalmıştır.

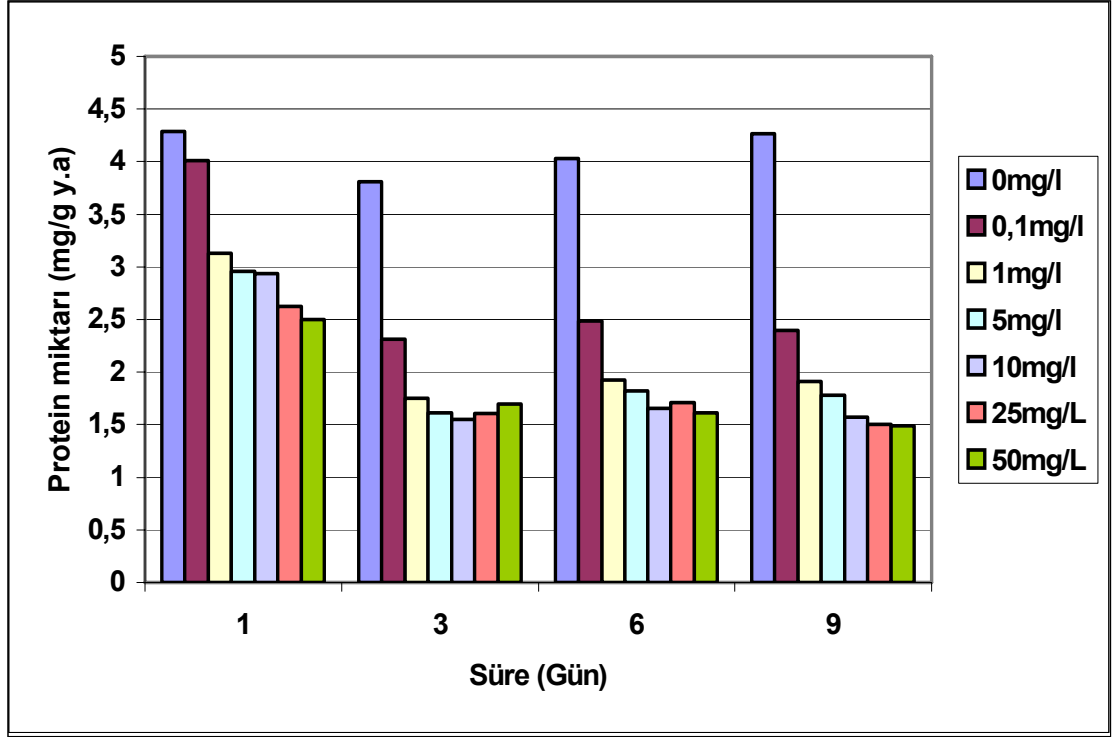
Süreye bağlı olarak protein miktarındaki azalışlar düşük derişimlere (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu bulunmuştur. 1. güne göre 9. gündeki protein miktarındaki azalışlar 0.1, 1 ve 5 mg/L'lik derişimlerde sırasıyla, %39, %40 ve %40 iken 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde sırasıyla, %46, %44 ve %45 olarak bulunmuştur

Çizelge 4.5. *Chlorella vulgaris*'in protein miktarının (mg/g y.a.)krom etkisinde günlere ve derişimlere bağı değişimi

Derişim (mg/L)	1. Gün Ort±S.H. *	3. Gün Ort±S.H. *	6.Gün Ort±S.H. *	9.Gün Ort±S.H. *
0.0	4.29±0.15 xa	3.81±0.05 xa	4.03±0.15 xa	4.27±0.29 xa
0.1	4.01±0.20 xa	2.32±0.06 yb	2.49±0.02 yb	2.40±0.01 yb
1.0	3.13±0.05 ya	1.75±0.05 zb	1.92±0.04 zb	1.91±0.09 zb
5.0	2.96±0.05 yza	1.61±0.08 zb	1.82±0.01 ztb	1.78±0.02 zb
10.0	2.94±0.01 yza	1.55±0.07 zb	1.66±0.02 ztb	1.57±0.02 zb
25.0	2.63±0.01 zta	1.61±0.06 zb	1.71±0.05 ztb	1.51±0.01 zb
50.0	2.50±0.01 ta	1.70±0.06 zb	1.61±0.02 tc	1.49±0.02 zd

* :x,y,z ve t harfleri derişimleri belirlemek; a,b,c ve d harfleri günler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.05).

Varyans kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Grup arası	70.709	27	2.619	85.030	P<0.05
Grup içi	1.725	56	0.0307		



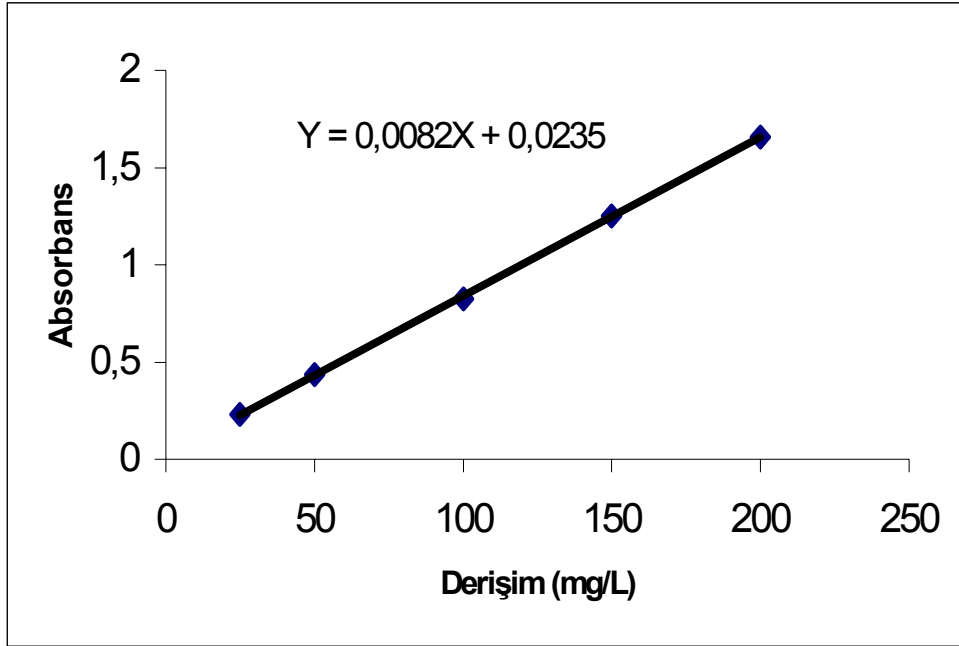
Şekil 4.7. *C. vulgaris*'de krom derişimlerine ve günlere bağlı protein miktarı

4.6. Şeker Miktarı

C.vulgaris'deki şeker düzeylerini saptamak için şeker standartları ile absorbans arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon doğrusu kullanılmıştır (Şekil 4.8.).

Şeker standartlarının absorbans değerlerinden $Y=0.0082X + 0.0235$ formülü bulunmuştur. Burada X şeker derişimini; Y değeri de absorbansı göstermektedir. Bu regresyon formülü kullanılarak *C. vulgaris*'deki şeker miktarı hesaplanmıştır.

Belirlenen her derişim ve sürede üç tekrarlı olarak saptanan şeker düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları çizelge 4.6'da şeker miktarı grafiği şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.8. Şeker derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki

Yapılan istatistiksel değerlendirmede belirli bir zaman süresinde; 1. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerdeki şeker miktarı azalışı önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). 0.1 ve 1 mg/L; 1 ve 5 mg/L; 5, 10 ve 25 mg/L ve 25 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki şeker miktarı azalışı önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$).

3. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerdeki şeker miktarı azalışı önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). 5 mg/L'lik derişimdeki şeker miktarı kontrol grubuna göre yaklaşık yarı yarıya azalmışken 50 mg/L'lik derişimde şeker miktarı kontrol grubunun 1/3'ne düşmüştür. 25 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki şeker miktarı azalışı önemsiz ($P > 0.05$), diğer derişimler arasındaki azalış önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

6. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerdeki şeker miktarı azalışı önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). 0.1 ve 1 mg/L'lik ve 10 ve 25 mg/L'lik derişimler arasındaki şeker miktarı azalışı önemsiz ($P > 0.05$), diğer derişimler arasındaki şeker miktarı azalışı önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

9. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerdeki şeker miktarı azalışı önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). 5, 10 ve 25 mg/L'lik derişimler arasındaki şeker

miktarı azalışı önemsiz ($P>0.05$), diğer derişimler arasındaki şeker miktarı azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Şeker miktarındaki azalışların, kontrol grubuna göre düşük derişimlere (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu bulunmuştur. Kontrol grubuna göre şeker miktarındaki azalışlar 1. günün 0.1, 1 ve 5 mg/L'lik derişimlerinde sırasıyla, %10, %14 ve %22; 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerinde sırasıyla, %30, %34 ve %42 iken 9. günün yine kontrol grubuna göre daha düşük derişimlerinde sırasıyla %29, %39 ve %57; daha yüksek derişimlerinde ise sırasıyla, %62, %61 ve %75 olarak bulunmuştur

Aynı derişimin günleri arasındaki istatistik değerlendirmede kontroldeki şeker miktarı değişimi günlere göre önemsiz bulunmuştur ($P<0.05$).

0.1 mg/L'lik derişimde 1. güne göre 3. gündeki şeker miktarı azalışı önemsiz ($P>0.05$), diğer günlerdeki şeker miktarındaki azalış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Aynı derişimin 3 ve 6. günleri ile 6 ve 9. günleri arasındaki şeker miktarı azalışı önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$)

1 mg/L'lik derişimde, 1. güne göre diğer günlerdeki şeker miktarı azalışı önemli ($P<0.05$), 3 ve 6. gün arasındaki şeker miktarı değişimi önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

5 mg/L'lik derişimde, tüm günler arasındaki şeker miktarı değişimi önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

10 mg/L'lik derişimde, 1. güne göre diğer günlerdeki şeker miktarı azalışı önemli ($P<0.05$), 3 ve 6. günler ve 6 ve 9. günler arasındaki şeker miktarı değişimi önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

25 mg/L'lik derişimde, 1. güne göre diğer günlerdeki şeker miktarı değişimi önemli ($P<0.05$), 3 ve 6. günler ve 6 ve 9. günler arasındaki şeker miktarı önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

50 mg/L'lik derişimde, 1. güne göre diğer günlerdeki şeker miktarı değişimi önemli ($P<0.05$), 6 ve 9. günler arasındaki şeker miktarı azalışı önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

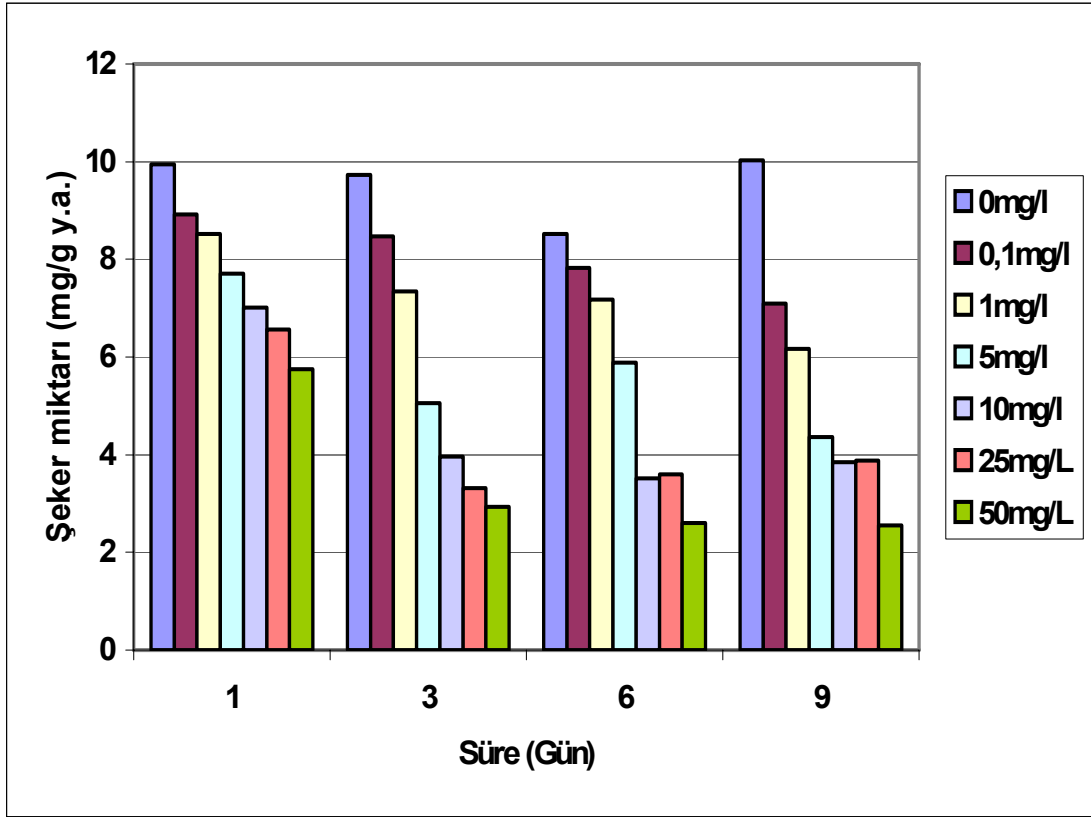
Süreye bağı olarak şeker miktarındaki azalışlar düşük derişimlere (0.1 ve 1 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu bulunmuştur. 1. güne göre 9. günde ki şeker miktarındaki azalışlar 0.1 ve 1 mg/L'lik derişimlerde sırasıyla, %20 ve %27 iken 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde sırasıyla, %46, %42 ve %56 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.6. *Chlorella vulgaris*'in krom etkisinde şeker miktarının (mg/g y.a.) günlere ve derişimlere bağıl değişimi

Derişim (mg/L)	1. Gün Ort±S.H. *	3. Gün Ort±S.H. *	6.Gün Ort±S.H. *	9.Gün Ort±S.H. *
0.0	9.94±0.61 xa	9.74±0.40 xa	8.52±0.41 xa	10.02±0.36 xa
0.1	8.92±0.40 ya	8.47±0.07 yab	7.83±0.17 ybc	7.10±0.20 yc
1.0	8.52±0.41 yza	7.34±0.10 zb	7.18±0.18 yb	6.16±0.07 zc
5.0	7.70±0.20 zta	5.06±0.14 tb	5.88±0.20 zc	4.37±0.09 td
10.0	7.02±0.06 ta	3.97±0.07 ub	3.52±0.18 tbc	3.84±0.08 tc
25.0	6.57±0.04 tua	3.31±0.08 vb	3.60±0.19 tbc	3.88±0.06 tc
50.0	5.76±0.04 ua	2.93±0.03 vb	2.60±0.09 uc	2.56±0.03 uc

* :x,y,z,t,u ve v harfleri derişimleri belirlemek; a,b,c ve d harfleri günler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.05).

Varyans kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Karelerin Ortalaması	F	P
Grup arası	457.722	27	16.953	106.351	P<0.05
Grup içi	8.927	56	0.159		



Şekil 4.9. *C. vulgaris*'de farklı krom derişimlerine ve günlere bağı şeker miktarı

4.7. Pigment Miktarları

4.7.1. Klorofil-a Miktarları

Belirlenen her derişim ve sürede üç tekrarlı olarak saptanan klorofil-a düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları Çizelge 4.7.'de, klorofil-a miktarı grafiğı Şekil 4.10.'de verilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirmede belirli bir zaman süreci dikkate alındığında, belirlenen tüm günlerin kontrol grubuna göre tüm derişimlerindeki ve derişimler arasındaki klorofil-a miktarı azalışları önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Bu da göstermektedir ki belirli bir zaman süreci dikkate alındığında derişime bağı olarak klorofil-a miktarı azalmıştır.

Klorofil-a miktarındaki azalmalar, düşük derişimlere (0.1 ve 1 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (5, 10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olmuştur. Özellikle de 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerdeki azalmalar oldukça belirgin olup 1. günde bu derişimlerdeki klorofil-a miktarı azalmaları kontrol grubuna göre sırasıyla yaklaşık olarak %20 ve %21 iken 9. günde azalmalar sırasıyla %88 ve %92 olmuştur.

Aynı derişimin günleri arasındaki istatistik değerlendirmede kontrolde günler arasında klorofil-a miktarı değişimi önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Günler arttıkça klorofil-a miktarı artmıştır.

0.1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde günler arasındaki klorofil-a miktarı değişimi önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Bu derişimlerdeki klorofil-a miktarı etkileşim süresine bağlı olarak azalmıştır.

1 mg/L'lik derişimde 3. ve 4., 4. ve 5. günler arasındaki klorofil-a miktarı azalışı önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki klorofil-a miktarı azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

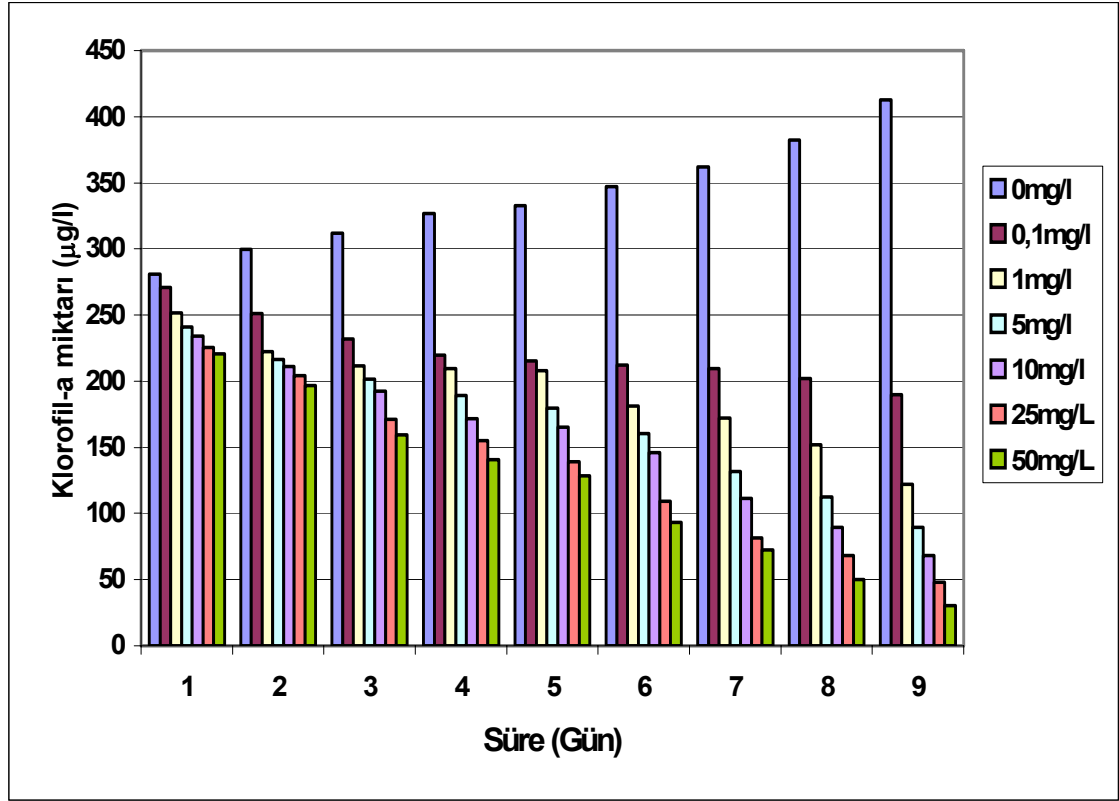
Yine derişimler arasında olduğu gibi günler arasında da klorofil-a miktarındaki azalış düşük derişimlere göre (0.1, 1 ve 5 mg/L) yüksek (10, 25 ve 50 mg/L) derişimlerde daha fazla olduğu gözlenmiştir. 1. güne göre 9. günde klorofil-a miktarı 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde sırasıyla %70, %79 ve %86 oranında azalmıştır.

Çizelge 4.7. *Chlorella vulgaris*'in krom etkisinde klorofil-a miktarının ($\mu\text{g/L}$) günlere ve derişimlere bağlı değişimi

Derişim (mg/L)	1. Gün Ort \pm S.H. *	2. Gün Ort \pm S.H. *	3.Gün Ort \pm S.H. *	4.Gün Ort \pm S.H. *	5.Gün Ort \pm S.H. *	6.Gün Ort \pm S.H. *	7.Gün Ort \pm S.H. *	8.Gün Ort \pm S.H. *	9.Gün Ort \pm S.H. *
0.0	281.2 \pm 0.74 xa	299.5 \pm 2.81 xb	311.7 \pm 0.75 xc	326.7 \pm 0.47 xd	332.8 \pm 0.33 xe	347.2 \pm 0.60 xf	361.8 \pm 0.02 xg	382.4 \pm 0.11 xh	512.8 \pm 0.06 xk
0.1	270.8 \pm 0.33 ya	251.3 \pm 0.60 yb	231.9 \pm 0.9 yc	219.5 \pm 0.70 yd	215.2 \pm 0.03 ye	212.1 \pm 0.02 yf	209.4 \pm 0.63 yg	202.3 \pm 0.10 yh	189.7 \pm 0.72 yk
1.0	251.9 \pm 1.7 za	222.6 \pm 1.25 zb	211.6 \pm 0.22 zc	209.4 \pm 0.30 zcd	207.7 \pm 0.32 zd	181.2 \pm 0.99 ze	172.4 \pm 0.22 zf	152.0 \pm 0.68 zg	112.2 \pm 0.33 zh
5.0	241.1 \pm 0.47 ta	216.4 \pm 0.58 tb	201.4 \pm 0.62 tc	189.7 \pm 0.19 td	179.9 \pm 0.35 te	160.5 \pm 0.36 tf	131.5 \pm 0.90 tg	112.6 \pm 0.93 th	89.6 \pm 0.38 tk
10.0	234.2 \pm 0.28 ua	211.1 \pm 1.06 ub	192.4 \pm 1.22 uc	171.8 \pm 0.37 ud	165.1 \pm 0.47 ue	146.1 \pm 0.04 uf	111.2 \pm 1.05 ug	89.6 \pm 0.76 uh	68.3 \pm 0.22 uk
25.0	225.4 \pm 0.51 va	204.4 \pm 0.36 vb	171.4 \pm 0.59 vc	155.2 \pm 0.03 vd	139.1 \pm 0.50 ve	109.1 \pm 0.06 vf	81.4 \pm 0.26 vg	68.0 \pm 0.59 vh	47.9 \pm 0.03 vk
50.0	220.5 \pm 0.33 wa	196.8 \pm 0.92 wb	159.7 \pm 0.54 wc	140.9 \pm 0.36 wd	128.7 \pm 0.30 we	93.1 \pm 0.51 wf	72.6 \pm 0.21 wg	50.1 \pm 0.10 wh	30.5 \pm 0.67 wk

* :x,y,z,t,u,v ve w harfleri derişimleri belirlemek; a,b,c,d,e,f,g,h ve k harfleri günler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.05).

Varyans kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Grup arası	1312613	62	21171.172	13985	P<0.05
Grup içi	190.750	126	1.514		



Şekil 4.10. *C. vulgaris*'in krom etkisinde klorofil-a miktarının günlere ve derişimlere bağılı değişimi

4.7.2. Klorofil-b Miktarı

Belirlenen her derişim ve sürede üç tekrarlı olarak saptanan klorofil-b düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları Çizelge 4.8.'de, klorofil-b miktarı grafiği Şekil 4.11.'de verilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirmede belirli bir zaman süreci dikkate alındığında, 1. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerdeki klorofil-b miktarı değişimi önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). 0,1, 1 ve 5 mg/L; 1, 5 ve 10 mg/L ve 10 ve 25 mg/L'lik derişimler arasındaki klorofil-b miktarı azalışı önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur. 50 mg/L'lik derişimdeki klorofil-b miktarı azalışı diğer derişimlere oranla önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Diğer günlerin (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ve 9. günler) her birinin kontrol grubuna göre tüm derişimlerindeki ve derişimler arasındaki klorofil-b miktarı azalışları

önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Ortam derişimine bağlı olarak klorofil b miktarı azalmıştır.

Klorofil-b miktarındaki azalış kontrol grubuyla karşılaştırıldığında düşük derişimlere (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu gözlenmiştir. 1. günde klorofil-b miktarındaki azalma kontrol grubuna göre 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde sırasıyla yaklaşık olarak %6, %8 ve 12 iken 9. günde bu derişimdeki azalmalar sırasıyla %86, %90 ve %93'ü bulmuştur.

Aynı derişimin günleri arasındaki istatistiksel değerlendirmede kontrolde günler arasındaki klorofil-b miktarı değişimi önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Süreye bağlı olarak klorofil-b miktarı artmıştır.

0.1, 1 ve 5 mg/L'lik 1. ve 2. günler arasında klorofil-b miktarı değişimi önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasında klorofil-b miktarı değişimi önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Bu günlerde süreye bağlı olarak klorofil-b miktarı azalmıştır.

10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerin her birinde günler arasında klorofil-b miktarının azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Süreye bağlı olarak klorofil- b miktarı azalmıştır.

Klorofil-b miktarındaki azalışlar, daha yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) 3. günden, daha düşük derişimlerde (0.1, 1 ve 5 mg/L) ise 5. günden sonra oldukça belirgin olmuştur. Bu günlerdeki klorofil-b miktarı azalmaları yaklaşık %50 civarında olmuştur.

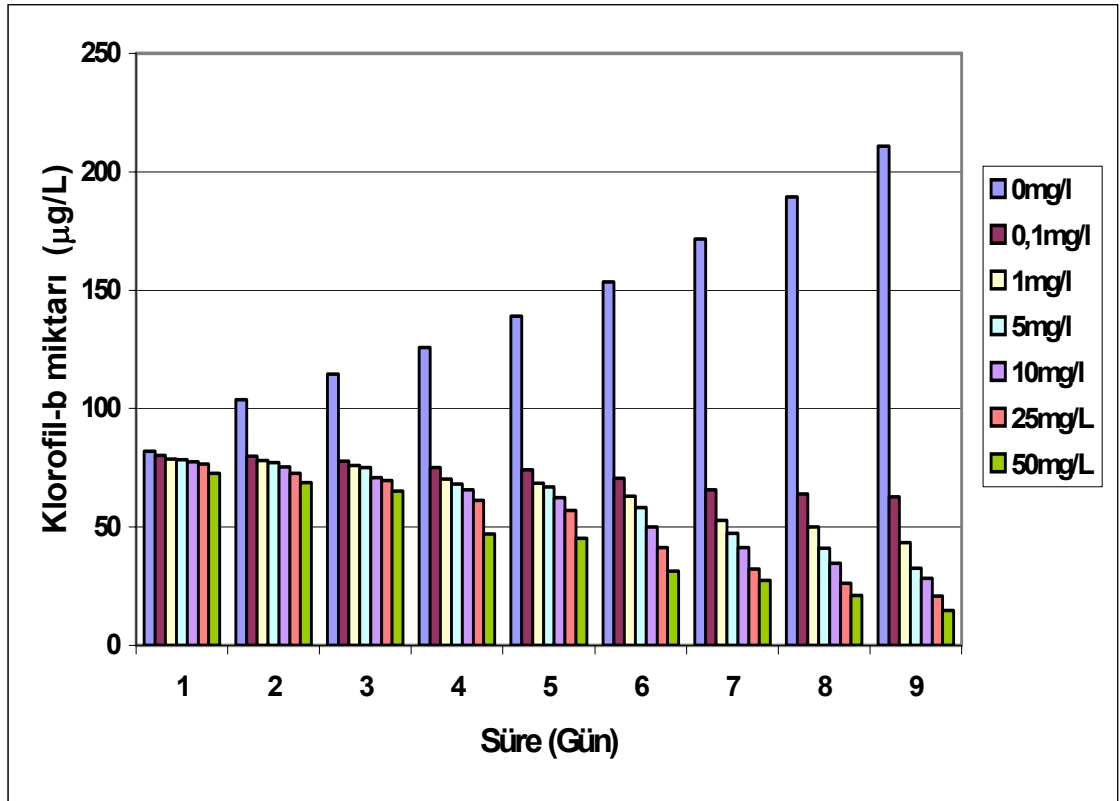
Yine derişimler arasında olduğu gibi günler arasında da klorofil-b miktarındaki en fazla azalışlar düşük derişimlere (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) gözlenmiştir. 1. güne göre 9. gündeki klorofil-b miktarı 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde sırasıyla yaklaşık olarak %64, %72 ve %80 oranında azalmıştır.

Çizelge 4.8. *Chlorella vulgaris*'in krom etkisinde klorofil-b miktarının ($\mu\text{g/L}$) günlere ve derişimlere bağlı değişimi

Derişim (mg/L)	1. Gün Ort \pm S.H. *	2. Gün Ort \pm S.H. *	3.Gün Ort \pm S.H. *	4.Gün Ort \pm S.H. *	5.Gün Ort \pm S.H. *	6.Gün Ort \pm S.H. *	7.Gün Ort \pm S.H. *	8.Gün Ort \pm S.H. *	9.Gün Ort \pm S.H. *
0.0	82.2 \pm 0.60 xa	103.9 \pm 0.03 xb	114.7 \pm 0.04 xc	125.7 \pm 0.030 xd	138.9 \pm 0.20 xe	153.4 \pm 0.22 xf	171.5 \pm 0.31 xg	189.4 \pm 0.20 xh	210.7 \pm 1.19 xk
0.1	80.2 \pm 0.02 ya	80.0 \pm 0.04 ya	77.7 \pm 0.29 yb	75.2 \pm 0.05 yc	74.1 \pm 0.047 yd	70.5 \pm 0.33 ye	65.9 \pm 0.66 yf	64.0 \pm 0.09 yg	62.8 \pm 0.60 yh
1.0	78.9 \pm 0.51 yza	78.2 \pm 0.01 za	76.1 \pm 0.03 zb	70.2 \pm 0.08 zc	68.5 \pm 0.034 zd	63.1 \pm 0.05 ze	52.6 \pm 0.38 zf	50.0 \pm 0.19 zg	43.4 \pm 0.64 zh
5.0	78.3 \pm 0.01 yzta	77.2 \pm 0.04 ta	75.1 \pm 0.06 tb	68.2 \pm 0.04 tc	66.9 \pm 0.30 td	58.2 \pm 1.12 te	47.2 \pm 0.35 tf	41.1 \pm 0.62 tg	32.5 \pm 0.87 th
10.0	77.5 \pm 0.27 zta	75.3 \pm 0.08 ub	70.9 \pm 0.07 uc	65.8 \pm 0.07 ud	62.5 \pm 0.37 ue	50.2 \pm 0.22 uf	41.3 \pm 0.55 ug	34.6 \pm 0.59 uh	28.4 \pm 0.32 uk
25.0	76.6 \pm 1.13 ta	72.7 \pm 0.63 vb	69.5 \pm 0.21 vc	61.3 \pm 0.82 vd	57.0 \pm 0.25 ve	41.4 \pm 0.64 vf	32.1 \pm 0.51 vg	26.1 \pm 0.78 vh	20.9 \pm 0.39 vk
50.0	72.6 \pm 0.34 ua	68.8 \pm 0.67 wb	65.2 \pm 0.02 wc	47.2 \pm 0.16 wd	45.2 \pm 0.41 we	31.5 \pm 0.69 wf	27.5 \pm 0.36 wg	21.1 \pm 0.56 wh	14.8 \pm 0.14 wk

* :x,y,z,t,u,v ve w harfleri derişimleri belirlemek; a,b,c,d,e,f,g,h ve k harfleri günler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.05).

Varyans kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Grup arası	265497	62	4282.22	879.860	P<0.05
Grup içi	613.233	136	4.867		



Şekil 4.11. *C. vulgaris*'in krom etkisinde klorofil-b miktarının günlere ve erişimlere bağlı değişimi

4.8. pH Değerleri

Belirlenen her derişim ve sürede üç tekrarlı olarak saptanan pH düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları Çizelge 4.9.'de, pH değerleri grafiği Şekil 4.12.'de verilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirmede belirli bir zaman süreci dikkate alındığında, 1. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerin pH değerindeki azalış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 0.1, 1 ve 5 mg/L'lik; 1, 5 ve 10 mg/L'lik ve 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki pH değeri azalışı önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

2. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerin pH değerindeki azalışlar önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 0.1, 1 ve 5 mg/L'lik; 5 ve 10 mg/L'lik ve 25 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki pH değeri azalışı önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

3. günün kontrol grubuna göre tüm derişimlerin pH değerindeki azalış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 0.1, 1 ve 5 mg/L; 10 ve 25 mg/L ve 25 ve 50 mg/L'lik derişimler arasındaki pH değeri azalışı önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

4, 5, 6, 7, 8 ve 9. günlerin her birinin kontrol grubuna göre tüm derişimlerindeki ve derişimler arasındaki pH değerindeki azalışlar önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Derişime bağlı olarak pH değeri azalmıştır.

Kontrol grubuna göre tüm derişimlerdeki pH değerleri asidik pH'a doğru azalma eğilimi göstermiştir. Asidik pH'a doğru olan bu azalışlar özellikle de yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha belirgin olmuştur. Bu yüksek derişimlerdeki pH değerleri zamanla 5'in altına düşmüştür. 9. günde kontrol grubuna göre bu derişimlerin pH değerindeki azalış sırasıyla %48, %51 ve %54 düzeyinde olmuştur.

Aynı derişimin günleri arasındaki istatistiksel değerlendirmede 0 mg/L'lik derişimde 7. ve 8. günler hariç diğer günler arasında pH değerindeki artış önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 7. ve 8. günler arasındaki pH değeri değeri azalışı önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

0.1 mg/L'lik derişimde, 3, 4 ve 5. günler arasındaki pH değeri azalışı önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki pH azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

1 mg/L'lik derişimde, 1 ve 2. ve 3, 4 ve 5. günler arasındaki pH değeri değişimi önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki pH değeri azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

5 mg/L'lik derişimde 1 ve 2. ve 4 ve 5. günler arasındaki pH değeri değişimi önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki pH değeri azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

10 mg/L'lik derişimde 1 ve 2. ve 4 ve 5. günler arasındaki pH değeri değişimi önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki pH değeri azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

25 mg/L'lik derişimde 1. ve 2. günler arasındaki pH değeri değişimi önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki pH değeri azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

50 mg/L'lik derişimde 1. ve 2. günler arasındaki pH değeri değişimi önemsiz ($P>0.05$), diğer günler arasındaki pH değeri azalışı önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

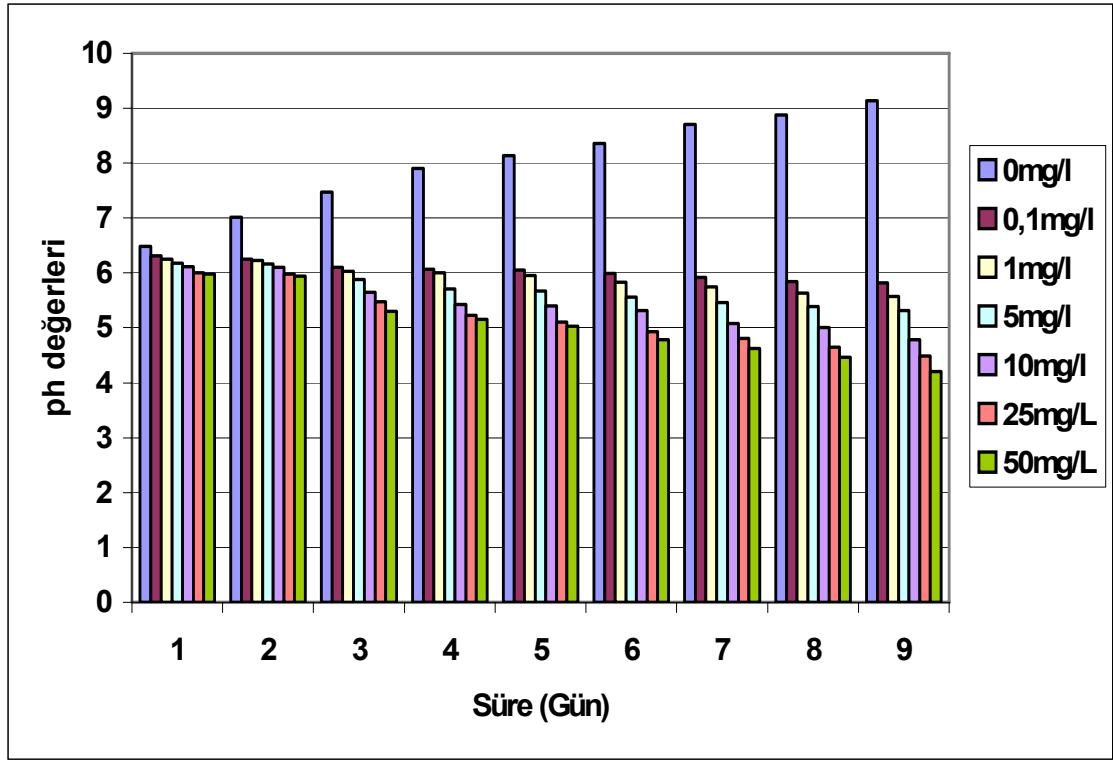
Kontrol grubu hariç diğer derişimlerde süreye bağlı olarak pH değeri azalmıştır. Derişimler arasında olduğu gibi günler arasında da pH değeri süre artıkça asidik pH'a düşme eğiliminde olmuştur. Asidik pH'a doğru olan bu azalışlar, 0.1, 1, 5 ve 10 mg/L'lik derişimlerde 5. günden, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde 2. günden sonra oldukça belirgin olmuştur. 10 mg/L'lik derişimde pH değeri 9. günde, 25 mg/L ve 50 mg/L'lik derişimde 6. günde 5.0'in altına düşmüştür. 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerin pH değerindeki düşüş 1. güne göre 9. günde sırasıyla %22, %26 ve %30 civarında olmuştur

Çizelge 4.9. *Chlorella vulgaris*'in krom etkisinde pH miktarının günlere ve derişimlere bağılı değişimi

Derişim (mg/L)	1. Gün Ort±S.H. *	2. Gün Ort±S.H. *	3.Gün Ort±S.H. *	4.Gün Ort±S.H. *	5.Gün Ort±S.H. *	6.Gün Ort±S.H. *	7.Gün Ort±S.H. *	8.Gün Ort±S.H. *	9.Gün Ort±S.H. *
0.0	6.49±0.11 xa	7.01±0.07 xb	7.47±0.15 xc	7.90±0.14 xd	8.14±0.16 xe	8.36±0.09 xf	8.70±0.02 xg	8.88±0.03 xg	9.14±0.02 xh
0.1	6.31±0.05 ya	6.25±0.06 yb	6.10±0.09 yc	6.07±0.05 yc	6.06±0.02 yc	5.99±0.04 yd	5.92±0.03 ye	5.85±0.02 yf	5.82±0.02 yg
1.0	6.25±0.02 yza	6.23±0.06 ya	6.03±0.08 yb	6.01±0.02 zb	5.96±0.03 zb	5.83±0.02 zc	5.74±0.03 zd	5.63±0.01 ze	5.57±0.01 zf
5.0	6.18±0.04 yza	6.17±0.02 yza	5.88±0.04 yb	5.71±0.03 tc	5.67±0.05 tc	5.56±0.05 td	5.46±0.04 te	5.39±0.02 tf	5.31±0.01 tg
10.0	6.11±0.04 zta	6.10±0.03 za	5.65±0.04 zb	5.42±0.03 uc	5.40±0.08 uc	5.31±0.09 ud	5.08±0.02 ue	5.01±0.02 uf	4.79±0.01 ug
25.0	6.01±0.09 ta	5.98±0.03 ta	5.47±0.07 ztb	5.23±0.04 vc	5.11±0.09 vd	4.93±0.08 ve	4.81±0.04 vf	4.65±0.03 vg	4.49±0.02 uh
50.0	5.98±0.05 ta	5.94±0.04 ta	5.30±0.05 tb	5.16±0.04 wc	5.03±0.07 wd	4.79±0.09 we	4.62±0.03 wf	4.46±0.02 wg	4.21±0.02 wh

* :x,y,z,t,u,v ve w harfleri derişimleri belirlemek; a,b,c,d,e,f,g ve h harfleri günler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.05).

Varyans kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Grup arası	205.540	62	3.315	1290.6	P<0.05
Grup içi	0.324	126	0.0025		



Şekil 4.12. *C. vulgaris*'in krom etkisinde pH değerlerinin günlere ve derişimlere bağlı değişimi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sunulan bu çalışmada *Chlorella vulgaris*'teki krom birikimi ve bu birikimin bir fonksiyonu olarak *C. vulgaris*'in fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri üzerine kromun etkileri hakkında bilgi elde edilmeye odaklanılmıştır.

Tarımsal alanlardaki toprak erozyonuyla, şehir atık suları, endüstriyel ve madencilik aktiviteleri sonucu çevrenin ağır metallerle kontaminasyonu dikkat edilmesi gereken bir konu haline gelmiştir. Düşük konsantrasyonlarda bile bu metallerin insanları da içeren organizmalara toksik oldukları bilinmektedir.

Ağır metaller, su ortamının önemli kirleticileridir. Su ortamlarındaki metal kirliliği insan aktivitelerinin bir sonucu olup, bu kirlilik biyokimyasal, hücresel, populasyon ve kommunité düzeylerinde organizmalarda toksik etkiye neden olmaktadır. Deniz ve tatlı su algleri buldukları ortamlardaki ağır metalleri biriktirme yeteneklerinden dolayı antropojenik kökenli kirliliğin biyolojik monitörü olarak önemli bir potansiyele sahiptirler (Rai ve ark, 1981). Algler akuatik besin zincirinin birincil üreticileri olarak ekolojik önemlerinden dolayı tatlı su ve deniz ekosistemlerinin önemli bir bileşenidirler. Algler aynı zamanda yüksek yapılı organizmaların besin kaynağını oluştururlar. Algler buldukları ekosistemlerin karbon döngüsündeki oksijen üreticileri olarak çok önemli bir role sahiptirler (Wasmund, 1986). Algler üzerine herhangi bir olumsuz etki daha yüksek yapılı organizmaları etkileyecek ve sonuç olarak tüm akuatik ekosistem bundan olumsuz etkilenebilecektir. Alg türlerindeki metal biyobirikimi besin zinciri yoluyla daha yüksek düzeydeki canlılara da geçeceğinden, alg türlerinde metal birikiminin çalışılması önem kazanmaktadır.

Algler, kolay bulunurlukları, yüksek yüzey alanı ve yüksek metal bağlama affiniteleri (Royd ve Shane, 1993; Bakkaloğlu ve ark, 1998), nedeniyle metal alım çalışmalarında sıklıkla tercih edilen organizma grubudur. Sucul ortamlardan ağır metallerin uzaklaştırılmasında bu nedenle *Chlorella* sp., *Ankistrodesmus* sp. ve *Eremosphaea* sp. gibi (Rai ve ark, 1981; Wilde ve Benemann, 1993) alg türleri geniş çapta kullanılmaktadır. *Chlorella*, dünyadaki tüm oksidasyon gölcüklerinde ve atık sularında bol miktarda bulunan bir algdir (Mallick, 2004). Laboratuvarlardaki düşük

ölüm oranı, toksikantlara karşı dirençliliği ve hücre sayımının kolay olması (Lopez-Suarez ve ark, 2000) nedeniyle *Chlorella*'nın çeşitli türleri toksisite deneylerinde kullanılmaktadır (Shubert, 1984). *Chlorella*, çeşitli ağır metallerin yüksek konsantrasyonlarını biriktirebilme yeteneğine de sahiptir (Mallick, 2004). Bu nedenle bu alg türü BM Çevre Örgütü tarafından sulardaki kirliliğin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Borowitzka ve Borowitzka, 1988). Laboratuvar kültürleri kolay ve metal alma kapasiteleri yüksek olduğundan sunulan bu çalışmada *Chlorella vulgaris* kullanılmıştır.

Cr (VI) hücre membranındaki yüksek difüzyonu ve oksitleyici ajan olması nedeniyle su organizmaları için çok toksiktir (Holdway, 1988). Fitoplankterlerin, Cr (VI)'yı alma yetenekleri bilinmektedir (Wang ve ark, 1997). Simkiss ve Taylor (1995) da Cr (VI)'nın algler tarafından anyonik kanallarla alındığını ve dikarboksilat ve fosfat taşıyıcılarıyla bu taşınmanın gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Sunulan bu çalışmada da *Chlorella vulgaris*'in ortamda bulunan kromu aldığı ve çözültide bulunan kromun önemli bir kısmını uzaklaştırdığı gözlenmiştir

Algler üzerine olan laboratuvar çalışmalarında alglerdeki metal alınımının ve toksisitesinin ortamdaki metal derişimine (Campbell, 1995), organizmanın tolerans yeteneğine ve metal etkileşimine vereceği yanıt yeteneğine (Soldo ve ark, 2005), alg türüne, metal türlerine ve metal ortamının kimyasal yapısına (Singh ve ark, 1989; Gupta ve ark, 2001; Aksu, 1998; Crist ve ark, 1981), bağlı olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmada da *C. vulgaris*'teki krom birikiminin derişime ve süreye bağlı olarak arttığı gözlenmiştir.

C. vulgaris'teki krom birikimi artışının ortamda bulunan düşük Cr derişimlerine (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek krom derişimlerinde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu gözlenmiştir. Yine *C. vulgaris*'teki krom birikimi her derişim ve sürede bir durgunluk göstermemiş sürekli olarak artmıştır. Bu sonuç, devamlı olarak ortamda bulunan kromun alg tarafından alındığını ve bu kromun hücre bileşenlerinde ya da spesifik metal bağlayıcı proteinlerde depo edildiğini düşündürmektedir. Knauer ve ark. (1997), *Scenedesmus subspicatus*'ta Cu etkisi altında derişime bağlı olarak Cu birikiminin arttığını rapor etmişlerdir. Hall ve ark. (1989), Cu birikiminin artmasını *C. vulgaris* ve *Chlamydomonas geitleri* için

gözlemlemişlerdir. *Stichococcus bacillaris* yeşil alginde arsenik birikiminin ve toksisitesinin metal derişimine ve ortam pH'sına bağlı olduğu gözlenmiştir (Pawlik-Skowronska ve ark, 2004). Fayed ve ark. (1983), *Scenedesmus obliquus* alginde, Cu, Zn, Cd ve Pb'nin alg tarafından çabuk bir şekilde akümüle edildiğini ve birikimin metal- alg etkileşim oranına bağlı olduğunu gözlemlemişlerdir. Lopez- Suarez ve ark. (2000), yaptıkları bir çalışmada *C. vulgaris*'in Mn, Cr, Ni, Zn ve Cu gibi ağır metalleri güçlü bir şekilde bağladığı ve en güçlü bağlanmaların Cr ve Cu için gözlemlendiğini rapor etmişlerdir. Soldo ve ark, (2005), *Oocystis nephrocytoides* yeşil algini 0,04 μM ve 2 μM Cu konsantrasyonlarına maruz bırakmışlar ve hücre içi Cu konsantrasyonu 0,04 μM Cu için %8, 2 μM Cu için %60 arttığını gözlemlemişlerdir. *Nelumbo nucifera*'da 50 μM Cr konsantrasyonunda 168 saatlik etkileşimden sonra Cr'un %79'unun akümüle edildiği gözlenmiştir (Vajpayee ve ark, 1999).

Ağır metaller su organizmaları için toksik olmalarına rağmen, çoğu tatlı su ve deniz türleri tarafından önemli olacak şekilde akümüle edilmektedirler. Bentik deniz alglerinin, deniz suyundaki konsantrasyonundan binlerce kez daha fazla düzeylerde metal miktarlarını akümüle ettikleri bilinmektedir (Woolston ve ark, 1982; Bryan ve Langston, 1992). Alglerin metal akümülyasyon hızları, metal bağlama bölgelerinin seçiciliğine ve miktarına bağlıdır (Ramelow ve ark, 1987). Biyokonsantrasyon faktörleri (BKF) regülatör amaçlar için kullanılmaktadır (Moore, 1991). BKF, alg biyomasındaki metal miktarının sudaki metal konsantrasyonuna oranıdır. Skowronski ve Przytocka- Jusiak (1986) bu oranın, pH'daki değişmelere ve suyla ilişkide algin biyomasındaki değişikliklere duyarlı olduğunu ve diğer faktörlerinde bu denge konsantrasyonunu etkileyeceğini belirtmiştir. Wang ve ark, (1997) fitoplankterlerdeki Cr (VI)'ın biyokonsantrasyonunun 200 ile 500 arasında değiştğini belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise yeşil alglerdeki Pb, Cd, Zn ve Cr'un BKF değerleri çok küçük bulunmuştur (Becker, 1983). Sunulan çalışmada, BKF değerleri 0, 10 ve 25 mg/L'lik derişimler hariç diğer derişimlerde (0.1, 1, 5 ve 50 mg/L) 1'in üstüne çıkmıştır. 0.1 mg/L'lik derişimde 3. günde, 1 mg/L'lik derişimde 1. günde, 5 ve 50 mg/L'lik derişimde 5. günde BKF değerleri 1'in üstüne çıkmıştır.

BKF değerleri eğer 1'in altındaysa organizmanın metal birikiminin zayıf ve metalin yarısından çoğunun solüsyonda olduğunu, 1'e eşitse organizmadaki metal miktarıyla solüsyondaki metal miktarının eşit yani bir denge durumunu söz konusu olduğunu ve 1'den büyükse, organizmanın metal birikiminin önemli olduğu ve solüsyondaki değerinden daha fazla metal biriktirdiğini söyleyebiliriz. Bu durumda *C. vulgaris*'in özellikle 1 mg/L'lik derişimdeki Cr birikimi solüsyona oranla oldukça fazla olup bunu 0.1, 5 ve 50 mg/L'lik derişimler izlemiştir.

Alg hücreleri yaşadıkları ortamlardaki ağır metalleri almaları ve biriktirmeleri bakımından oldukça büyük bir yeteneğe sahiptirler (De Fillips ve Pallaghy, 1994). Bununla birlikte alg büyümesi ve metabolizması için gerekli olanlar da dahil tüm metallerin yüksek konsantrasyonları, algin metabolik prosesleri üzerine toksik etki yapmaktadır. Ağır metallerin bu toksisite mekanizmaları, enzimler ve polinükleotidler gibi önemli moleküllerin fonksiyonel gruplarını bloklayarak, hücresel bölgelerdeki gerekli iyonları çıkartarak ya da yer değiştirerek, enzimleri denatüre ya da inaktive ederek ve hücre ve organellerinin membran bütünlüğünü bozarak gerçekleştirmektedirler. Ayrıca, metaller serbest radikal oluşumuna neden olacak toksik etkileri göstermektedirler. Oluşan radikaller (O_2^- , OH^- gibi) aminoasitler, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler ve lipidlere saldırarak bu biyomoleküllere zarar vermektedirler (Mallick, 2004). Sunulan çalışmada da krom etkisinde *C. vulgaris*'in hücre sayısı, büyüme hızı, protein, şeker ve klorofil a ve b gibi fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerinin olumsuz etkilendiği gözlenmiştir.

Alg hücreleri üzerine ağır metallerin fizyolojik etkileri, büyüme hızını, gelişmeyi ve alg popülasyonunun bolluğunu etkileme şeklinde olmaktadır (Stevenson ve ark, 1996). Büyüme ve gelişme türlerin yaşaması ve üremesi için gerekli proseslerdir. Büyüme esas olarak genotip ve çevrenin bir fonksiyonu olarak gerçekleşen bir proses olup dış ve iç faktörler büyüme hızını etkilemektedirler. Toksikantların sıklıkla büyüme hızını düşürdüğü ve büyümenin lag fazının bozulmasına neden olduğu belirtilmektedir (Stevenson ve ark, 1996). Büyüme hızındaki değişiklikler standart toksisite testleri için kullanılmaktadır. Çünkü alg büyüme hızının düşmesi daha yüksek düzeydeki tüketicileri de etkilemektedir (Nyholm ve Kallqvist, 1989). Ağır metaller büyüme hızını düşürdüğü gibi türlerin

yoğunluğunda da yani hücre sayısında da düşmelere (Rai ve ark, 1981) neden olmaktadır. Sunulan çalışmada kromun *C. vulgaris*'in populasyon yoğunluğunun ve hücre büyüme hızının üzerine olumsuz etki yaptığı gözlenmiştir. Krom etkisi altında *C. vulgaris*'in hücre sayısı derişime ve süreye bağılı olarak azalmıştır. Hem derişime hem de süreye bağılı olarak *C. vulgaris*'te gözlenen hücre sayısı azalışı düşük derişimlere (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olmuştur. Krom etkisi altında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında *C. vulgaris*'teki büyüme hızı belirgin bir şekilde azalmıştır. Özellikle de 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerdeki büyüme hızındaki azalış önemli olmuştur. Gerek *C. vulgaris*'in hücre sayısındaki gerekse de büyüme hızındaki düşüşün derişime ve zamana bağılı olarak artan Cr birikimiyle yakından ilişkili olduğu bulunmuştur.

Su ortamındaki metal kirliliğinin konsantrasyonundaki sürekli artışların azot ve diğere gerekli elementlerin kullanılmasını içeren metabolik işlevleri değıştirerek alg büyümesini inhibe ettiği belirtilmektedir (De Filippis ve Pallaghy, 1994; Genter, 1996). Bu nedenle *C. vulgaris*'teki büyüme hızındaki düşüşlerin gerekli besleyicilerin krom etkisi altında alınmasının engellenerek gerçekleştiğini belirtebiliriz. Yine sunulan çalışmada gözlendiğı gibi protein ve klorofil a ve b miktarındaki azalışlar büyüme hızındaki düşüşlerin nedeni olabilir. Sela ve ark. (1989), Cr (VI) etkisinde gerekli besinlerin, kalsiyum, magnezyum ve potasyum miktarının azalışının önemli olduğunu belirtmişlerdir. Rachlin ve Grosso (1993), Cd, Cu ve Co etkisi altında *Chlorella*'da büyümenin inhibe edildiğı ve büyüme üzerine metallerin etki durumlarının Cd> Cu>Co şeklinde olduğunu rapor etmişlerdir. Saint-Louis ve ark. (1994), *Paulova lutheri* populasyonunda hücre sayısındaki azalmaların klorofil miktarının düşmesiyle paralellik gösterdiğini belirtmişlerdir. Laboratuvar çalışmasında 2 mg/L krom derişiminin *Chlorella pyrenoidosa* büyümesini inhibe ettiği rapor edilmiştir (Meisch ve Schmitt-Beckmann, 1979). Cr(VI)'nın bitkilerde, fotosentetik pigmentlere etki ettiği, büyümeyi inhibe ettiği ve sonuç olarak bitkinin ölümüne neden olduğu belirtilmektedir (Gaur ve ark, 1994; Sharma ve ark, 1995). Kromun *Euglena gracilis*'te büyüme hızını düşürdüğü ve büyümede gözlenen bu inhibisyonun hücre döngüsünün G- 2 fazında hücrelerin durdurulmasıyla, solunum ve fotosentezin inhibisyonuyla gerçekleştiğı rapor edilmiştir (Fasulo ve ark, 1983).

Bakırın da alg büyümesini inhibe ettiği (Kessler, 1986) ve hücre bölünmesini engellediği (Guanzon ve ark, 1994) gözlenmiştir. Corradi ve Gorbi (1993), 1, 5 ve 10 mg/L Cr (VI) ($K_2Cr_2O_7$) etkisi altında *Scenedesmus acutus*'ta hücre çoğalmasının inhibe edildiğini gözlemlemişlerdir. Dorgelo ve ark. (1995), düşük Cu derişimine (10 mg/L) oranla yüksek Cu derişiminin (30 mg/L) *Potamopyrgus jenkinsi*'de büyüme hızı inhibisyonunun daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Franklin ve ark. (2002), hem hücre içi hem de hücre dışı bakır derişimiyle ilişkide *Chlorella* sp'de büyüme hızının azaldığını gözlemlemişlerdir.

C. vulgaris'te Cr etkisi altında büyüme hızının ve hücre sayısının azalması metalin hücre içinde detoksifiye edilmemesinin bir nedeni olabilir. Ayrıca büyüme hızının genellikle enerji üretimiyle yakından ilişkili olduğu da belirtilmektedir (Yang ve ark, 2002). Sunulan çalışmada gerek şeker miktarının ve gerekse klorofil miktarının azalması hücre içi ATP üretimini düşürmüş ve bu da *C. vulgaris*'teki büyümeyi engellemiş olabilir. Jounay ve ark. (1982), *Chlorella vulgaris*'te krom etkisi altında hücredeki krom birikimi artarken ATP sentezinin inhibe edildiğini ve böylelikle alg büyümesinin engellendiğini rapor etmişlerdir.

Kontrol grubunda alg büyümesi ve hücre sayısı artışı günler arasında önemli olacak şekilde devam ederken krom etkisi altında hücre sayısı ve büyüme hızının azalması *C. vulgaris*'in kroma hassas olduğunu göstermektedir. Hücre sayısı 0.1, 1 ve 5 mg/L'lik derişimlerde 3. günden, 10, 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde ise 1. günden sonra azalmaya başlamıştır. Bu sonuç, tam olarak büyümeyi engelleyecek yeterli yüksek miktara kadar her bir metalin derişimdeki artışla büyümenin pozitif ilişki içinde olduğu, bu nedenle de büyümenin minimum ve maksimum metal konsantrasyonları arasında normal olarak devam ederken daha yüksek metal konsantrasyonlarında inhibe edildiğini söyleyebiliriz.

Ağır metaller hücrelerdeki biyolojik makromoleküllerin göreceli miktarlarında değişikliğe neden olabilmektedirler (Stevenson ve ark, 1996). Yüksek metal konsantrasyonları, fotosentez, solunum ve biyolojik moleküllerin sentezi gibi biyokimyasal ve fizyolojik prosesleri kontrol eden enzim sistemleri üzerine önemli toksik etkilere neden olmaktadır (Rai ve ark, 1981). Sunulan çalışmada *C. vulgaris*'teki protein ve şeker miktarlarının krom etkisi altında azaldığı

belirlenmiştir. *C. vulgaris*'te krom etkisi altında protein ve şeker miktarındaki azalışların kontrol grubuyla karşılaştırıldığında denenen tüm derişim ve sürelerde önemli olduğu ve bu biyolojik moleküllerdeki azalışların düşük derişimlere (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek derişimlerde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu, kromun yüksek miktarlarının protein ve şeker biyosentezinden sorumlu prosesleri üzerine olan daha yüksek toksisitesinden kaynaklanabilir. 9. günde 50 mg/L'lik derişimdeki protein ve şeker miktarındaki azalışların kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sırasıyla %66 ve %75 civarında olduğu bulunmuştur. Bu da *C. vulgaris*'te yüksek derişimlerde şekerin proteine oranla krom toksisitesinden daha fazla etkilendiğini göstermektedir. Corradi ve ark. (1998), kroma duyarlı türlerde protein ve şeker miktarının azaldığını fakat şeker miktarındaki düşüşün proteine oranla daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Xylander ve Braune (1994), *Haematococcus*'da yüksek nikel derişimlerinin protein ve karbonhidrat içeriğini düşürdüğünü gözlemlemişlerdir. *Selenastrum capricornutum*'da düşük Cd düzeyleri şekerle karşılaştırıldığında daha düşük lipid ve protein sentezine neden olduğu rapor edilmiştir (Thompson ve Couture, 1993). 1 mg/L krom derişimi *Glaucocystis nostochinearum*'da protein miktarını düşürmüştür (Rai ve ark, 1992). *Salvinia*'da 2 mg/L Cr(VI) derişimi etkisinde karbonhidrat miktarının azaldığı gözlenmiştir (Nichols ve ark, 2000).

Algler, metallerin toksik etkilerinden korunmak için, metal alınımını kontrol altına almakta, içeriye alınan metalleri geri dış ortama vermekte ya da alınan metalleri hareketsiz bir formda hücre içinde tutmaktadırlar. Bu mekanizmaların asıl amacı reaktif metallerin DNA ve protein gibi hassas hedeflere yapacağı olası toksik etkileri önlemektir (Soldo ve ark, 2005). Yapılan çalışmada, *C. vulgaris*'teki krom birikiminin sürekli arttığı ve bu birikimin bir sonucu olarak *C. vulgaris*'teki protein ve şeker miktarının azaldığı düşünülmektedir. Krom etkisinde bitkilerde protein içeriğindeki ve nitrat redüktaz aktivitesindeki bir düşme *in vitro* olarak gözlenmiştir (Vajpayee ve ark, 1999). Cr etkisinde bitkilerdeki protein azalması, düşük nitrat redüktaz aktivitesine bağlanmaktadır; çünkü; bu enzim aktivitesindeki azalma bitkilerdeki protein biyosentezini inhibe etmektedir (Solomanson ve Barber, 1990). *C. vulgaris*'teki protein içeriğinin krom etkisinde azalması gen düzeyinde

transkripsiyon ya da translokasyon aşamasındaki hasarlardan da ileri gelebilir. Hücre içinde kromun DNA'nın fosfat gruplarına bağlandığı ve böylece de replikasyonun ve transkripsiyonun etkilendiği rapor edilmiştir (Nishio ve Uyeki, 1985; Bridgewater ve ark, 1994). DNA polimeraz modifikasyonu ve diğer enzimlerin aktivitesi kromun magnezyum iyonu ile yer değiştirmesi sonucu inhibe edilmiştir (Snow, 1994).

Ağır metallerin bitkilerdeki birçok prosesi etkilediği, bununla birlikte fotosentez üzerine olan etkilerinin daha şiddetli olduğu belirtilmektedir (Foy ve ark, 1978; Kastori ve ark, 1992; Kastori ve ark, 1997). Yüksek yapılı bitkilerde (Clijsters ve Van Assche, 1985), siyanobakterlerde (Singh ve ark, 1989) ve yeşil alglerde (Shioi ve ark, 1978; Samson ve ark, 1988), fotosentezin diğer metabolik proseslere oranla ağır metal toksisitesine daha duyarlı olduğu belirtilmektedir (Lu ve ark, 2000). Metaller tarafından fotosentezin etkilenmesi ya metalin doğrudan fotosentez yoluna zarar vermesi, iyon dağılımını bozması ve fotosentezde görev alan enzim aktivitelerini engellemesi ya da non-fotosistem membran permabilitesi üzerine metalin yarattığı dolaylı etkinin yanıtı olarak oluşmaktadır (Heath, 1994). Bitkilerdeki metal etkisinde fotosentezin inhibe edilmesi, tilakoid membranın yapısal bütünlüğünün bozulması, elektron transportunun değişmesi ve klorofil pigmentlerinin bozulması sonucunda gerçekleştiği belirtilmektedir. Sunulan çalışmada krom etkisinde *C. vulgaris*'teki klorofil pigmentlerinin miktarının azaldığı gözlenmiştir.

C. vulgaris'te krom etkisi altında klorofil-a ve b miktarlarının derişime ve süreye bağlı olarak önemli ölçülerde azaldığı ve bu azalışların her iki pigmentte de düşük krom derişimlerine (0.1, 1 ve 5 mg/L) oranla yüksek Cr derişimlerinde (10, 25 ve 50 mg/L) daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu da kromun yüksek derişimlerinin klorofil pigmentleri üzerine daha toksik olduğunu göstermektedir. *Nelumbo nucifera*'da krom etkisi altında klorofil içeriğinde önemli düşüşlerin olduğu ve klorofil miktarlarındaki bu düşüşlerin krom derişimine bağlı olduğu ve 200 µM Cr'a 168 saatlik etkileşimini toplam klorofil içeriğinin %66 oranında inhibe edildiği gözlenmiştir (Vajpayee ve ark, 1999). Cr (VI) varlığında *Salvinia*'daki fotosentetik pigment konsantrasyonları belirgin bir şekilde azalmış ve klorofil a, b ve karoten

konsantrasyonlarındaki düşüşün krom derişiminin artmasıyla arttığı gözlenmiştir (Nichols ve ark, 2000).

Fotosentetik pigment konsantrasyonları kolayca ölçülebilir ve sıklıkla da regülatör amaçlar için metal stresinin ölçülmesinde kullanılır (Stevenson ve ark, 1996). Sunulan çalışmada *C. vulgaris*'teki fotosentetik pigment konsantrasyonları krom etkisi altında azaldığı gözlenmiştir. *C. vulgaris*'te Cr etkisinde klorofil miktarlarındaki azalışlar klorofil biyosentez prosesinin bozulmasının, klorofil biyosentezinde görevli enzimlerin inhibe edilmesinin yada klorofil parçalanmasının sonucu olabilir. Ağır metallerin klorofil pigment biyosentezini ve bu proseste görev yapan enzimleri inhibe ettiği rapor edilmiştir (De Fillippis ve Pallaghy, 1994). Woolhouse (1983), Zn'nin klorofil biyosentezinin Fe'ye ihtiyaç duyan prosesinde Fe ile yer değiştirerek pigment azalmasına neden olduğunu belirtmiştir. *H. ovalis*'te Cu derişimine bağlı olarak, klorofil içeriği düşmüştür, Cu etkisinde klorofil miktarındaki bu azalmalar klorofil parçalanmasına ya da klorofil biyosentezinin azalmasına bağlanmaktadır (Lu ve ark, 2000).

Kontrol grubunda *C. vulgaris*'teki klorofil a ve b miktarları günler arasında önemli olacak bir şekilde artarken krom etkisinde bu miktarların azalması, *C. vulgaris*'teki krom birikiminin bir sonucudur. Alglerde klorofil içeriğindeki bir düşüşün populasyon yoğunluğundaki bir değişikliğe de bağlı olabileceği belirtilmektedir (Stevenson ve ark, 1996). Yaptığımız çalışmada da Cr etkisinde *C. vulgaris*'in hücre sayısının azaldığı gözlenmiştir. Hücre sayısındaki bu azalma, *C. vulgaris*'teki klorofil içeriğindeki düşmenin nedenlerinden biri olabilir.

Işık, sıcaklık ve pH gibi çeşitli çevresel faktörler alglerdeki ağır metal alınımını etkilemektedir (Depledge ve ark, 1995; Phillips, 1995). Suyun pH'ı, alglerdeki metal toksisitesini doğrudan etkileyen önemli bir faktördür (Bajguz, 2000). Düşük pH'lar metal iyonlarının biyolojik bulunurluğunu artırır ve bu da artan toksisiteye neden olur (Franklin ve ark, 2000). Solüsyonun pH'ı hem sudaki metalin kimyasını hem de hücre yüzeyindeki metal bağlama bölgelerini etkiler. Sunulan çalışmada deney solüsyonlarındaki pH değerlerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm derişimlerde krom etkisinde asidik pH'a doğru azalma eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. Bu azalışlar özellikle yüksek derişimlerde (10, 25

ve 50 mg/) daha belirgin olmuştur. Bu yüksek derişimlerdeki pH değerleri zamanla 5'in altına düşmüştür. Kontrol grubu hariç diğer derişimlerde süreye bağılı olarak pH değeri azalmıştır. pH değerleri, 10 mg/L'lik derişimde 9.; 25 ve 50 mg/L'lik derişimlerde ise 6. günden sonra 5'in altına düşmüştür. Sunulan çalışmada pH'daki düşmelere bağılı olarak *C. vulgaris*'teki krom birikiminin önemli olduğu gözlenmiştir. Solusyon pH'daki düşmelere bağılı olarak *C. vulgaris*'teki Cr birikimi artmıştır. Bajguz (2000), *C. vulgaris*'te çok düşük pH'da Cu, Pb, Cd ve Zn gibi ağır metallerin birikiminin arttığını rapor etmiştir.

Yaptığımız çalışmada ortam pH'ındaki düşüşler alg hücre yüzeyinin elektriksel yükünü değiştirerek Cr alınımının artmasına neden olmuş olabilir. Crist ve ark (1981), ortamdaki pH'ın artmasına bağılı olarak alg hücre yüzeyindeki negatif yükün artacağını ve bunun da katyonik metallerin bağlanmasını arttıracığını belirtmişlerdir. Bunun tam tersi de geçerlidir, ortamdaki pH miktarı düşerse hücrenin net yükü pozitif olacağından anyonik metallerin bağlanması daha yüksek olacaktır, bu da metal alım ve toksisitesini arttıracaktır. Cr da anyonik bir özellik gösterdiğinden ortam pH'ındaki azalmalar krom birikiminin artmasına neden olacaktır.

Çalışmada kontrol grubunun pH'ı artarken Cr etkisindeki solüsyonlarda pH'ın düşmesi, kromun solüsyon ortamının kimyasını değiştirerek ortam pH'sının düşmesine neden olduğunu göstermektedir.

Alglerdeki çoğu fizyolojik ve biyokimyasal proseslerin krom toksisitesinden şiddetli bir şekilde etkilendiği bir çok çalışmada (Baker ve ark. 1983; Wong ve Chang, 1991; Corradi ve Gorbi, 1993) rapor edilmiştir. Sunulan çalışmada elde edilen bulgular da bu çalışmalarla uygunluk içinde olup *C. vulgaris*'te krom etkisi altında hücre sayısı, büyüme hızı, protein, şeker, klorofil a ve b miktarlarının azaldığı gözlenmiştir. Araştırmamızda kromun alg üzerine olan toksik etkisinin oldukça şiddetli olduğu ve *C. vulgaris*'in yukarıda sayılan fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerinin üzerine kromun toksik etkisinin düşük derişimlere oranla yüksek derişimlerde daha fazla olduğu bulunmuştur. Kennish'in (1992) deniz florası ve faunası üzerine ağır metallerin göreceli toksisiteleriyle ilişkili listesinde kromun da organizmalar üzerine etkili bir toksikant olduğu belirtilmiştir.

Araştırmamızda *C. vulgaris*'in fizyolojik ve biyokimyasal prosesleri üzerine kromun etkisinin algdeki krom birikimiyle yakından ilişkili olduğu bulunmuştur. *C. vulgaris*'teki krom birikimi arttıkça bu proseslerdeki inhibisyon şiddetli olmuştur. Krom birikimine bağlı olarak *C. vulgaris*'in hücre sayısı ve büyüme hızı düşmüş ve bu azalmaların da krom etkisinde *C. vulgaris*'teki azalan protein, şeker ve klorofil a ve b miktarlarıyla doğrudan ilişkili olduğu gözlenmiştir. Yine araştırmamızda ortam pH'ındaki düşüşlerde kromun *C. vulgaris*'e olan toksik etkisinin arttığı gözlenmiştir. Bu da kromun düşük pH'larda alg üzerine daha toksik olduğunu gösteren literatür bulgularıyla (Lopez- Suarez ve ark, 2000) uyum halindedir.

Alglerdeki metal birikimini incelemek sucul ekosistemlerdeki metallerin biyolojik yollarının belirlenmesinde oldukça önemlidir. Son yıllarda su ekosistemlerinin antropojenik kaynaklı kirleticilerle oldukça fazla kirlenmesi canlılar üzerine bu kirleticilerin olası toksik etkilerinin belirlenmesini kaçınılmaz bir hale getirmiştir. Algler su besin zincirinin önemli organizmaları olduğundan son yıllarda metallerin algler üzerine olan toksik etkilerini araştırmaya daha fazla önem verilmektedir. Bir çok araştırma sonuçları (Bajguz, 2000; Lin ve ark, 2005) alglerin su ortamındaki ağır metal kirliliğinin değerlendirilmesinde biyoindikatör türler olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Araştırmamız, *C. vulgaris*'in krom toksisitesine oldukça duyarlı olduğunu ve bu nedenle *C. vulgaris*'in ortamdaki krom toksisitesinin değerlendirilmesinde biyoindikatör bir tür olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- ADAMS, W. J., KIMERLE, R. A., BARNETT, J. W., 1992. Sediment Quality and Aquatic Life Assessment. Environ. Sci. Technol., 26: 1865- 1875.
- AHNER, B. A., MOREL, F. M. M., 1995. Phytochelatin Production Marine Algae. Induction by Various Metals. Limnol. Oceanogr., 40 (4): 658- 665.
- AKSU, Z., 1998. Biosorption of Heavy Metals by Microalgae in Batch and Continuous Systems. Bioscience., 37- 53.
- ALABASTER, J. S., LLOYD, R., 1982. Water Quality Criteria for Freshwater Fish. Butterworth, London.
- ALCEDO, J., WETTERHAHN, K. E., 1990. Chromium Toxicity and Carcinogenesis. Int. Rev. Exp. Path., 31: 85- 107.
- ALEXANDER, J., AASHET, J., 1995. Uptake of Chromate in Human Red Blood Cells and Isolated Rat Liver Cells: The Role of the Anion Carrier. Analyst., 120: 931- 933.
- APHA/ AWA/ WPCF, 1980. Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater. New York, American Public Health Association, 15 th ed.
- ARICA, M. Y., TÜZÜN, İ., YALÇIN, E., İNCE, Ö., BAYRAMOĞLU, 2005. Utilisation of Native, Heat and ACİD- Treated Microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* Preparation for Biosorption of Cr (VI) Ions. Process Biochemistry, 40: 2351- 2358.
- BAJGUZ, A., 2000. Blockade of Heavy Metals Accumulation in *Chlorella vulgaris* Cells by 24- Epibrassinolide. Plant Physiology Biochemical. 38: 797- 801.
- BAKER, M. D., MAYFIELD, C. I., INNIS, W. E., 1983. Toxicity of pH, Heavy Metals and Bisulfite to a Freshwater Green Alga. Chemosphere, 12: 35- 44.
- BAKKALOĞLU, I., BUTTER, T.J., EVISON, L.M., HOLLAN, F.S., HANCOCK, I.C., 1998. Screening of Various Types Biomass for Removal and Recovery of Heavy Metals (Zn, Cu, Ni) by Biosorption, Sedimentation and Desorption. Water Sci. Technol. 38: 269- 77.
- BECKER, E. W., 1983. Limitations of Heavy Metal Removal from Wastewater by Means of Algae. Water Res. 17: 459- 466.

- BLANCK, H. and WANGBERG, S. A., 1988. Validity of an Ecotoxicological Test System: Short- Term and Long- Term Effects of Arsenate on Marine Periphyton Communities in Laboratory Systems. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1807- 1815.
- BOROWITZKA, M. A., BOROWITZKA, L. J. (Eds.), 1988. *Micro- Algal Biotechnology*, Cambridge Universty Press, Cambridge.6
- BOSSUYT, BART T. A., JANSSEN, C. R., 2004. Long-Term Acclimation of *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) Hindak to Different Copper Concentrations: Changes in Tolerance and Physiology. *Aquatic Toxicology*. 68: 61-74.
- BRADY, D., LETEBELE, B., DUNCAN, J. R., ROSE, P. D., 1994. Bioaccumulation of Metals by *Scenedesmus*, *Selenastrum* and *Chlorella* Algae. *Water SA.*, 20: 213- 218.
- BRIDGEWATER, L. C., MANNING, F. C., WOO, E. S., PATIERNO, S. R., 1994. DNA Polymerase Arrest by Aducted Trivalent Chromium. *Mol. Carcinog.* 9: 22- 133.
- BRINGMANN, G., KUHN, R., 1980. Comparison of Toxicity Thresholds of Water Pollutants to Bacteria, Algae and Protozoa in the Cell Multiplication Test. *Water Res.* 14: 23- 32.
- BROCHIERO, E., BONALY, J., MESTRE, J. C., 1984. Toxic Action of Hexavalent Chromium on *Euglena gracilis* Strain Z Grown Under Heterotrophic Conditions. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 13: 603-608.
- BRYAN, G. W., LANGSTON, W. J., 1992. Bioavailability, Accumulation and Effects of Heavy Metals in Sediments with Special Reference to United Kingdom Estuaries: A Review. *Environmental Pollution.*, 76: 89- 131.
- BURRELL, D.C., 1974. *Atomic Spectrometric Analysis of Heavy- Metal Pollutants in Water*. Ann Arbor, Michigan, Ann Arbor Science.
- CAMPBELL, P. G. C., 1995. Interaction Between Trace Metals and Aquatic Organism: A Critique of The Free- Ion Activity Model. *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems.* 3: 45- 102.

- 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.
- CLIJSTERS, H., VAN ASSCHE, F., 1985. Inhibition of Photosynthesis by Heavy Metals. Photosynth. Res. 70: 31- 40.
- 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.
- CONSTANTINOS, P. PAPPAS, RANDALL, SEAN T., SNEDDON JOSEPH, 1990. An Atomic- Emission Study on the Removal and Recovery of Chromium from Solution by an Algal Biomass (*Chlorella vulgaris*). Talanta. 37: 707- 710
- CORRADI, M. G., GORBI, G., 1993. Chromium Toxicity on Two Linked Trophic Levels. II. Morphophysiological Effects on *Scenedesmus acutus*. Ecotoxicol. Environ. Saf., 25: 72- 78.
- 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
- COSTA, M., 1991. DNA- Protein Complexes Induced by Chromate and Other Carcinogens. Environ. Health Perspect., 92: 45- 52.
- CRIST, H., OBERHOLSER, K., SHANK, N., NGUYEN, M., 1981. Nature of Bonding Between Metallic Ions and Algal Cell Walls. Environ Sci Technol., 15: 1212- 121.
- CVETKOVIC, ALEXANDRE D., SAMSON, GUY, COUTURE, PIERRE and POPOVIC, RADOVAN, 1991. Study of Dependency Between Culture Growth and Photosynthetic Efficiency Measured by Fluorescence Induction in *Selenastrum capricornutum* Inhibited by Copper. Ecotoxicology and Environmental Safety., 22: 127- 132.
- DAVIES, F., PURYEAR, J., NEWTON, R., EGILLA, J., GROSSI, J., 2002. Mycorrhizal Fungi Increase Chromium Uptake by Sunflower Plants:

- Influence on Tissue Mineral Concentration, Growth and Gas Exchange. *J. Plant Nutr.*, 25: 2389- 2407.
- 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.
-, 1994. Heavy Metals: Sources and Biological Effects. *Algae and Water Pollution.*, 31- 77.
- DEPLEDGE, M. H., WEEKS, J. M., BJERREGAARD, P., 1995. Heavy Metals. In: *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Science., 2: 79- 105.
- DIRILGEN, N., DOĞAN, F., 2002. Speciation of Chromium in the Presence of Copper and Zines and Their Combined Toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety.*, 53: 397- 403.
- DORGELO, J., MEESTER, H., VAN VELZEN, C., 1995. Effects of Diet and Heavy Metals on Growth Rate and Fertility in the Deposit Feeding Snail *Potamopyrgus jenkinsi* (*Gastropoda: Hydrobiidae*). *Hydrobiologia.*, 316: 199- 210.
- DÖNMEZ, G., AKSU, Z., 2002. Removal of Chromium (VI) From Saline Wastewaters by *Dunaliella* Species. *Process Biochemistry.*, 38: 751- 762.
- DÖNMEZ, G. ÇETİNKAYA, AKSU, Z., ÖZTÜRK, A., KUTSAL, T., 1999. A Comparative Study on Heavy Metal Biosorption Characteristics of Some Algae. *Process Biochemistry.*, 34: 885- 892.
- DREYFUSS, J., 1964. Characterization of a Sulfate and Thiosulfate Transporting System in *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.*, 239: 2292- 2297.
- EIFAC, 1983. *Water Quality Criteria for European Freshwater Fish*.
- EISLER, R., 1985. Cadmium Hazards to Fish, Wildlife and Invertebrates: A Synoptic Review. U. S. Fish. Wildl. Serv. Biol. Rep., 85, (1.2).
- ERMOSELE, C. O., ERMOSELE, I. C., MUKTAR, S. A., BIRDLING, S. A., 1995. Metals in Fish from the Upper Benue River and Lakes Geryo and Njuwa in Northeastern Nigeria. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 54: 8- 14.

- FASULO, M. P., BASSI, M., DONINI, A., 1983. Cytotoxic Effects of Hexavalent Chromium in *Euglena gracilis*. II. Physiological and Ultrastructural Studies. *Protoplasma.*, 114: 35- 43.
- FAYED, SAMI E., ABDEL-SHAFTY, HUSSEIN I., KHALIFA, NADIA M., 1983. Accumulation of Cu, Zn, Cd and Pb by *Scenedesmus obliquus* under Nongrowth Conditions. *Environment International.* 9: 409-413.
- FISHER, N. S., WENTE, M., 1993. The Release of Trace Elements by Dying Marine Phytoplankton. *Deep- Sea Res.*, 40: 671- 694.
- FLEGAL, A. R., GARRISON, D. L., NIEMEYER, S., 1993. Lead Isotopic Disequilibria Between Plankton Assemblages and Surface Waters Reflect Life Cycle Strategies of Coastal Populations within a Northeast Pacific Upwelling Regime. *Limnol. Oceanogr.*, 38: 670- 678.
- FLEMMING, C. A., FERRIS, F. G., BEVERIDGE, T. J., BAILEY, G. W., 1990. Remobilization of Toxic Heavy Metals Adsorbed to Bacterial Cell Wall- Clay Composites. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 3191- 3203.
- FOULKES, E. C., 1990. Biological Effects of Heavy Metals (Vol. 1 and 2). CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- FOY, CDÍ CHANEY, RL, WHITE, MC., 1978. The Physiology of Metal Toxicity in Plants. *Annual Review of Plant Physiology.*, 29: 551- 566.
- FRANCKE, J. A., HILLEBRAND, H., 1980. Effects of Copper on Some Filamentous *Chlorophyta*. *Aquatic Botany.*, 8: 285- 289.
- FRANKLIN, N. M., STAUBER, J. L., APTE, S. C., LIM, R. P., 2002. Effect of Initial Cell Density on the Bioavailability and Toxicity of Copper in Microalgal Bioassays. *Environ. Toxicol. Chem.* 21: 742- 751.
- FRANKLIN, NATASHA M., STAUBER, JENNIFER L., MARKICH, SCOTT J., 2000. H- 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.

- 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.
- GAUR, J. P., NORAH, N., CHAUHAN, Y. S., 1994. Relationship Between Heavy Metal Accumulation and Toxicity in *Spirodela polyrrhiza* SCHLEID, L. and *Azolla pinnata* BR, R. *Aquat. Bot.* 49: 183- 192.
- GENTER, RB, 1996. Ecotoxicology of Inorganic Stresses. *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems.*, 403- 468.
- GORBI, G., CORRADI, M. G., INVIDIA, M., BASSI, M., 2001. Light Intensity Influences Chromium Bioaccumulation and Toxicity in *Scenedesmus acutus* (*Chlorophyceae*). *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 48: 36- 42.
- GRILL, E., WINNACKER, E. L., ZENK, M. H., 1985. Phytochelatins: The Principal Heavy Metal Complexing Peptides of Higher Plants. *Science.*, 230 (4726): 674- 676.
- GRIMANIS, A. P., ZAFIROPOULOS, D., VASSILAKI, R., GRIMANIS, M., 1978. Trace Elements in the Flesh and Liver of Two Fish Species from Polluted and Unpolluted Areas in the Aegean Sea. *Environ. Sci. Technol.*, 12: 723- 726.
- GUANZON, N. G. JR., NAKAHARA, H., YODHIDA, Y., 1994. Inhibitory Effects of Heavy Metals on Growth and Photosynthesis of Three Freshwater Microalgae. *Fish. Sci.*, 60: 379- 384.
- GUPTA, V., SHRIVASTAVA, A., JAIN, N., 2001. Biosorption of Chromium (VI) from Aqueous Solution by Green Algae *Spirogyra species*. *Biotechnol Bioeng.*, 35: 4079- 4085.
- GÜNER, H. ve AYSEL, V., 1989. Tohumuz Bitkiler Sistematiği I. Cilt (Algler). Ege Üniversitesi Basımevi Bornova-İzmir., sf 127.
- GÜLNAZ, O., SAYGIDEĞER, S., KUŞVURAN, E., 2005. Study of Cu(II) Biosorption by Dried Activated Sludge: Effect of Physico- Chemical Environment and Kinetic Study. *Journal of Hazardous Materials.* B(120): 193- 200.

- HALL, J., HEALEY, F. P., ROBINSON, G. G. C., 1989. The Interaction of Chronic Copper Toxicity with Nutrient Limitation in Two Chlorophytes in Batch Culture. *Aquat. Toxicol.*, 14: 1- 14.
- HAUSCHILD, M. Z., 1993. Putrescine (1,4- Diaminobutane) as an Indicator of Pollution- Induced Stress in Higher Plants: Barley and Rape Stressed with Cr (III) or Cr(VI). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 26: 228- 247.
- HEALEY, F. P., 1973. Inorganic Nutrient Uptake and Deficiency in Algae. *CRC (Crit. Rev. Microbiol.)*. 3(1): 60- 113.
- HEATH, R. L., 1994. Possible Mechanisms for the Inhibition of Photosynthesis by Ozone. *Photosynth. Res.*, 39: 439- 451.
- HENDERSON, G., 1989. A Comparison of the Effects of Chromate, Molybdate and Cadmium Oxide on Respiration in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biol. Metals.*, 2: 83- 88.
- HERVEY, R., 1949. Effects of Chromium on the Growth of Unicellular *Chlorophyceae* and *Diatoms*. *Bot. Gaz.*, 111: 1- 11.
- HODSON, P. V., 1988. The Effect of Metal Metabolism on Uptake, Disposal and Toxicity in Fish. *Aquatic Toxicology.*, 11, 3-18.
- HOLAN, ZR., VOLESKY, B., 1994. Biosorption of Lead and Nickel by Biomass of Marine Algae. *Biotechnol. Bioeng.*, 43: 1001- 1009.
- HOLDWAY, D. A., 1988. The Toxicity of Chromium to Fish. In: NRIAGU, J. O., NIEBOR, E. (Eds). *Chromium in the Natural and Human Environments*. Wiley, New York. 369- 397.
- HUFFMAN, JR EWD., ALAWAY, HW., 1973. Chromium in Plants: Distribution in Tissues, Organelles and Extracts and Availability of Bean Leaf Cr to Animals. *J Agrie Food Chem.* 21: 982- 986.
-, 1973b. Growth of Plants in Solution Culture Containing Low Levels of Chromium. *Plant Physiol.*, 52: 72- 75.
- HYRNIĞWIEZ, M., SIRKO, A., PALUCHA, A., BOCK, A., HULANICKA, D., 1990. Sulfate and Thiosulfate Transport in *Escherichia coli* K- 12: Identification of a Gene Encoding a Novel Protein Involved in Thiosulfate Binding. *J. Bacteriol.*, 172: 3358- 3366.

- <http://e-egitim.teknolojikarastirmalar.com/Periyodik/PERIODIC/PERIODIC/Cr.html>
- IPCS, 1992. International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- IRMER, U., WACHHOLZ, I., SCHAFFER, H., LORCH, D. W., 1986. Influence of Lead on *Chlamydomonas reinhardtii* Danegard (Volvocales, Chlorophyta) : Accumulation, Toxicity and Ultrastructural Changes. Environmental and Experimental Botany., 26: 97- 105.
- ITOH, M., NAKAMURA, M., SUZUKI, T., KAWAI, K., ORITSU, H., TAKAMIZAWA, K., 1995. Mechanism of Chromium (VI) Toxicity in *Escherichia coli* is Hydrogen Peroxide Essential in Cr (VI) Toxicity. J. Biochem., 117: 780- 786.
- JENSEN, B., 1987. *Chlorella*: Gem of the Orient. Bernard Jensen, California. p.221-227,
- JOUANY, J. M., VASSEUR. P., FERARD, J. F., 1982. Exotoxicite Directe et Integree du Chrome Hexavalent Sur Deux Niveaux Trophiques Associes : *Chlorella vulgaris* et *Daphnia magna*. Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological., 27: 207- 221.
- KADUKOVA, J., VIRCIKOVA, E., 2005. Comparison of Differences Between Copper Bioaccumulation and Biosorption. Environment International., 31:227-232.
- KARBONOWSKA, H., WIATER, A., HULANICKA, D., 1977. Sulphate Permease of *Escherichia coli* K- 12. Acta Biochim., Pol. 24: 329- 334.
- KASTORI, R., PETROVIC, M., PETROVIC, N., 1992. Effects of Excess Lead, Cadmium Copper and Zinc on Water Relations in Sunflower. Journal of Plant Nutrition., 15: 2427- 2439.
- KASTORI, R., PETROVIC, N., ARSENIJEVIC- MAKSIMOVIC, L., 1997. Heavy Metals and Plants. In: Kastori, R, Ed. Heavy Metals in the Environment. Novi Sad: Feljton., 195- 257.
- KATZ, S. A., SALEM, H., 1993. The Toxicology of Chromium with Respect to its Chemicals peciation: A Review. J. Appl. Toxicol., 13: 217- 224.

- KAWANISHI, S., INOUE, S., SANO, S., 1986. Mechanism of DNA Cleavage Induced by Sodium Chromate (VI) in the Presence of Hydrogen Peroxide. *J. Biol. Chem.*, 261: 5952- 5958.
- KENNISH, M. J., 1992. *Ecology of Estuaries*. CRC Press, Florida.
- KESSLER, E., 1986. Limits of Growth of Five *Chlorella* Species in the Presence of Toxic Heavy Metals. *Arch. Hydrobiol.*, 73. 123- 128.
- KHARAB, P., SINGH.I., 1987. Induction of Respiratory Deficiency in Yeast by Salts of Chromium, Arsenic, Cobalt and Lead. *Ind. J. Exp. Biol.*, 25: 141- 142.
- KIMBROUGH, DE., COHEN, Y., WINER, AM., CREELMAN, L., MABUN, C., 1999. A Critical Assessment of Chromium in the Environment. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 29: 1- 46.
- KLEIMAN, I. D., COGLIATTI, D. H., 1998. Chromium Removal From Aqueous Solution By Different Plant Species. *Environ. Technol.*, 19: 1127- 1132.
- KLERKS, P. L., FRALEIGH, P. C., 1997. Uptake of Nickel and Zink by the Zebra *Mussel Dreissena Polymorpha*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 32, 1997.
- KNAUER, K., BEHRAA, R., SIGG, L., 1997. Effects of Free Cu^{+2} and Zn^{+2} Ions Growth and Metal Accumulation in Freshwater Algae. *Environ. Toxicol. Chem.*, 16: 220- 229.
- KOCHERT, G., 1978. Carbohydrate Determination by the Phenol-Sulfuric Method. In: J. A. Hellebust and J.S. Craigie (Editors), *Handbook of Physiological Methods. Physiological and Biochemical Methods. Cambridge University Pres*, London, pp. 189-195.
- KOTAS, J., STASICKA, Z., 2000. Commentary. Chromium Occurrence in the Environment and Methods of its Speciation. *Environ Pollut.*, 107: 263- 283.
- KOVALSKY, V., 1974. *Geochemical Ecology*. Moskow Science, Russia.
- LEVIS, A. G., BIANCHI, V., 1982. Mutagenic and Cytogenetic Effects of Chromium Compounds. In: *Biological and Environmental Aspects of Chromium* (Langard, S., Ed.). 171- 208.

- LIN, J-H., KAO, W- C., TSAI, K-P., CHEN, C-Y., 2005. Novel Algal Toxicity Testing Technique for Assessing the Toxicity of Both Metallic and Organic Toxicants. *Water Research.*, 39: 1869- 1877.
- LIU, K. J., JIANG, J., SHI, X., GABRYS, H., WALEZAK, T., SWARTZ, M., 1995. Low- Frequency EPR Study of Chromium (V) Formation from Chromium (VI) in Living Plants. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 206: 829- 834.
- LOPEZ- SUAREZ, C. E., CASTRO- ROMERO, J. M., GONZALEZ- RODRIGUEZ, M. V., GONZALEZ- SOTO, E., PEREZ- IGLESIAS, J., SECO- LAGO, H. M., FERNANDEZ- SOLIS, J. M., 2000. Study of the Parameters Affecting the Binding of Metals in Solution by *Chlorella vulgaris*. *Talanta.*, 50: 1313– 1318.
- LOWRY, O., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., 1951. Protein Measurement with Folin Phenol Reagent. *The Journal of Biological Chemistry* Vol., 193, 265-275.
- LU, C. M., CHAU, C. W., ZHANG, J. H., 2000. Acute Toxicity of Excess Mercury on The Photosynthetic Performance of *Cyanobacterium, S. platensis*- Assessment by Chlorophyll Fluorescence Analysis. *Chemosphere.*, 41: 191- 196.
- LUO, H., LU, Y., SHI, X., MAO, Y., DELAL, N. S., 1996. Chromium (IV)- Mediated Fenton- Like Reaction Causes DNA Damage: Implication to Genotoxicity of Chromate. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 26: 185-191.
- MALLICK, N., 2004. Copper- Induced Oxidative Stress in the Chlorophycean Microalga *Chlorella vulgaris*: Response of the Antioxidant System. *J. Plant Physiol.*, 161: 591- 597.
- MARTIN, T. D., KOPP, J. F., EDIGER, R. D., 1975. Determining Selenium in Water, Wastewater, Sediment and Sludge by Flameless Atomic Absorption Spectroscopy. *Atom. Absorp. Newsl.*, 14(5): 109- 116.
- MARZLUF, G. A., 1970. Genetic and Metabolic Controls for Sulfate Metabolism in *Neurospora crassa*: Isolation and Study of Chromate- Resistant and Sulfate Transport- Negative Mutants. *J.Bacteriol.*, 102: 716- 721.

- 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.
- McGRATH, S. P., SMITH, S., 1990. Chromium and Nickel. In: Heavy Metals in Soils (Alloway, B.J., Ed). Wiley, New York. 125- 150.
- McLEAN, R. J. C., BEAUCHEMIN, D., CLAPHAN, L., BEVERIDGE, T. J., 1990. Metal- Binding Characteristics of the γ - Glutamyl Capsular Polymer of *Bacillus licheniformis* ATCC 9945. Appl. Environ. Microbiol., 56: 3671- 3677.
- MEISCH, H. U., SMITT- BECKMANN, I., 1979. Influence of Tri- and Hexavalent Chromium on Two Chlorella Strains. Z. Pflanzenphysiol., 94 (3): 231- 239.
- MERRIFIELD, M. E., NGU, T., STILLMAN, M. J., 2004. Arsenic Binding to *Fucus vesiculosus* Metallothionein. Biochemical and Biophysical Research Communication., 324: 127- 132.
- MINISSI, S., CACCESE, D., PASSAFLUME, F., GRELLA, A., ELEANORA, C., RISSONI, M., 1998. Mutagenicity (Micronucleus test in *Vicia faba* Root tips), Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Heavy Metal Content of Sediments Collected in Tiber River and its Tributaries within the Urban Area of Rome. Mutat. Res., 420: 77- 84.
- MISHRA, B. B., NANDA, D. R., MISRA, B. N., 1985. Reclamation with Blue-Green Algae: Changes in Nucleic Acids, Protein and Nitrogen Content of Algae Exposed to Solid Waste of a Chlor- Alkali Factory. Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological., 37: 97-104.
- MISHRA, S., SINGH, V., SRIVASTAVA, S., SRIVASTAVA, R., SRIVASTAVA, M. M., DASS. S., SATSANGI, G. P., PRAKASH, S., 1995. Studies on Uptake of Trivalent and Hexavalent Chromium by Maize (*Zea mays*). Food Chem. Toxicol., 33: 393- 397.
- MOISEENKO, T. I., KUDRYAVTSEVA, L. P., 2001. Trace Metal Accumulation and Fish Pathologies in Areas Affected by Mining and Metallurgical

- Enterprises in the Kola Region, Russia. *Environmental Pollution.*, 114, 285-297.
- MOORE, J. W., 1991. ‘Inorganic Contaminants of Surface Water: Research and Monitoring Priorities,’ Springer Ser. On Environ. Manage. Springer- Verlag, New York.
- MUSE, J. O., STRIPEIKIS, J. D., FERNANDEZ, F. M., d’HUICQUE, L., TUDINO, M. B., CARDUCCI, C. N., TROCCOLI, O. E., 1999. Seaweeds in the Assessment of Heavy Metal Pollution in the Gulf San Jorge, Argentina. *Environmental Pollution.*, 104: 315- 322.
- NICHOLS, P., COUCH, J. D., AL- HAMDANI, S. H., 2000. *Salvinia minima*’nın Değişik Krom Konsantrasyonlarına Karşı Belirlenmiş Fizyolojik Cevapları.
- NIEBOR, E., RICHARDSON, D. H. S., 1980. The Replacement of the Nondescript Term Heavy Metals by a Biologically and Chemically Significant Classification of Metal Ions. *Environ. Pollut.*, 1: 3- 26.
- NIES, A., NIES, D. H., SILVER, S., 1989. Cloning and Expression of Plasmid Genes Encoding Resistance to Chromate and Cobalt in *Alcaligenes eutrophus*. *J. Bacteriol.*, 171: 5065- 5070.
- NISHIO, A., UYEKI, E. M., 1985. Inhibition of DNA synthesis by Chromium Compounds. *J. Toxicol. Environ. Health.*, 15: 237- 244.
- NRIAGU, JO., 1988. Production and Uses of Chromium. In *Natural and Human Environment*. New York, USA: John Wiley and Sons., 81- 105.
- NYHOLM, N., KALLQVIST, T., 1989. Methods for Growth Inhibition Toxicity Tests with Freshwater Algae. *Environ. Toxicol. Chem.*, 8: 689- 703.
- NYSTROM, B. A. H., 1997. Metabolic Indicators of Ecotoxicological Effects in Freshwater Periphyton Communities. PhD., Botanical Institute, Plant Physiology. Göteborg University.
- OHTAKE, H., CERVANTES, C., SILVER, S., 1987. Decreased Chromate Uptake in *Pseudomonas Fluorescens* Carrying a Chromate Resistance Plasmid. *J. Bacteriol.*, 169: 3853- 3856.
- PALMER, C. D., WITTBRODT, P. R., 1991. Processes Affecting the Remediation of Chromium- Contaminated Sites. *Environ. Health Presp.*, 92: 25- 40.

- PAPP, J. F., 1985. Chromium. In: Mineral Facts and Problems. Bureau of Mines Bulletin, 675: 139- 155.
- PARDEE, A. B., PRESTIDGE, J. S., WHIPPLE, M. B., DREYFUSS, J., 1966. A Binding Site for Sulfate and its Relation to Sulfate Transport into *Salmonella typhimurium*. J. Biol. Chem., 241: 3962- 3969.
- PARSONS, T.R., STRICKLAND, J.D.H., 1963. Discussion of Spectrophotometric Determination of Marine Plant Pigments, with Revised Equations for Ascertaining Chlorophylls and Carotenoid. Journal of Marine Research, Vol: 21, No:3, pp. 115-163.
- PATRA, M., BHOWMIK, N., BANDOPADHYAY, A., 2004. Comparison of Mercury, Lead and Arsenic with Respect to Genotoxic Effects on Plant Systems and the Development of Genetic Tolerance. Environmental and Experimental Botany., 52: 199- 223.
- PAULSSON, M., 2000. Variability in Lotic Periphyton Community Tolerance to Zinc and Atrazine, in Relation to Bioavailability. Ph. D., Faculty of Science, Göteborg University. 214. pp.
- PAWLİK- 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.
- PAWLİK-SKOWRONSKA, B., PIRSZEL, J., KALINOWSKA, R. SKOWRONSKI, T., 2004. Arsenic Availability, Toxicity and Direct Role of GSH and Phytochelatins in as Detoxification in The Green Alga *Stichococcus bacillaris*. Aquatic Toxicology., 70, 201- 212.
- PHANG, S.M., 1992. Role of Algae In Livestock-Fish Integrated Farming System. (Editors , T.K. Mukherjee; P.S. Moi; J.M., Panandam And Y.S. Yang). Proceedings of The FAO/IPT Workshop on Integrated Livestock-Fish Production System; 16-20 Dec., 1991, University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia., Pp 49-56.
- PHILLIPS, D. I. H., 1995. Bioaccumulation. In: Handbook of Ecotoxicology. Blackwell Science, Oxford., 1: 378- 396.

- PRASAD, M. N. V., MALEC, P., WALOSZEK, A., BOJKO, M., STRZALKA, K., 2001. Physiological Responses of *Lemna trisulca* L.(duckweed) to Cadmium and Copper Bioaccumulation. *Plant Science*, 161: 881- 889.
- PUDDU, A., PETTINE, M., NOCE, T. L., PAGNOTTA, R., BACCIU, F., 1988. Factors Affecting Thallium and Chromium Toxicity to Marine Algae. *The Science of The Total Environment*, 71: 572.
- RACHLIN, J. W., GROSSO, A., 1993. The Growth Response of the Green Alga *Chlorella vulgaris* to Combined Divalent Cation Exposure. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 24. 16- 20.
- 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 vitro* Nitrate Reductase Activity and Protein Content in a Chlorococcalean Green Alga *Chlorella vulgaris*. *Chemosphere.*, 25: 1721- 1732.
- RAI, L. C., HUSAINI, Y., MALLICK, N., 1996. Physiological and Biochemical Responses *Nostoc linckia* to Combined Effects of Aluminium, Fluoride and Acidification. *Environmental and Experimental Botany.*, 36: 1- 12.
- RAI, L. C., HUSAINI, Y., MALLICK, N., 1998. pH- Altered Interaction of Aluminium and Fluoride on Nutrient Uptake, Photosynthesis and Other Variables of *Chlorella vulgaris*. *Aquatic Toxicology*, 42, 67- 84.
- RALPH, P. J., BURCHETT, M. D., 1998. Photosynthetic Response of *Halophila ovalis* to Heavy Metal Stress. *Environmental Pollution* 103: 91- 101.
- RAMACHANDRAN, V., D'SOUZA, R. J., MISTRY, K. B., 1980. Uptake and Transport of Chromium in Plants. *J. Nuclear Agric. Biol.*, 9: 126- 128.
- RAMANI, A. R., 1974. Factors Influencing Separation of Algal Cells from Waste Pond Effluents by Chemical Flocculation and Dissolved Air Flotation. PhD Thesis, University of California, Berkeley.
- RAMELOW, G. J., MAPLES, R. S., THOMPSON, R. L., MUELLER, C. S., WEBRE, C., BECK, J. N., 1987. Periphyton as Monitors for Heavy Metal Pollution in the Calcasieu River Estuary. *Environ. Pollut.*, 43: 247- 261.

- RANK, J., NIELSEN, M. H., 1998. Genotoxicity Testing of Wastewater Sludge Using the *Allium cepa* Anaphase- Telpohase Chromosome Aberration Assay. *Mutat. Res.*, 418: 113- 119.
- REED, R. H., GADD, G. M., 1990. Metal Tolerance in Eukaryotic and Prokaryotic Algae. In: Shaw, A. J., Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. CRC PRESS, Boca Raton.
- RIEDEL, G. F., 1984. Influence of Salinity and Sulfate on the Toxicity of Chromium (VI) to the Estuarine Diatom *Thalassiosira pseudonana*. *J. Phycol.*, 20., 496- 500.
-, 1985. The Relationship Between Chromium (VI) Accumulation, Sulfate Accumulation and Chromium (VI) Toxicity to the Estuarine Diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Aquat. Toxicol.*, 7: 191- 204.
- RIEDEL, G. F., SANDERS, J. G., 1996. The Influence of pH and Media Composition on the Accumulation of Inorganic Selenium by *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 15: 1577- 1583.
- ROHLF, J. F., SOKAL, R. R., 1969. Statistical Tables. W. H. Fremon and Company. San Francisco. 253 pp.
- ROYD, GREENLAW, PN, SHANE, B. S., 1993. Adsorption of Heavy Metals by Green Algae and Ground Rice Hulls. *J. Environ. Sci. Health A.*, 28. 37- 50.
- 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.
- SAMSON, G., MORISETTE, J. C., POPOVIC, R., 1988. Copper Quenching of the Variable Flourescence in *Dunaliella tertiolecta*. New Evidence for a Copper Inhibition Effect on PSII Photoinhibitory. *Photochem. Photobiol.*, 48: 329- 332.
- SANDERS, J., 1979. Effects of Arsenic Speciation and Phosphate Concentration on Arsenic Inhibition of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.*, 15: 424- 428.

- SCHROLL, H., 1978. Determination of the Absorption of Cr⁺⁶ and Cr⁺⁶ in an Algal Culture of *Chlorella pyrenoidosa* Using ⁵¹Cr. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 20: 271- 274.
- SELA, M., GARTY, J., TEL- OR, E., 1989. The Accumulation and the Effect of Heavy Metals on the Water Fern *Azolla filiculoides*. New Phytol., 112: 7- 12.
- SHANKER, K., CERVANTES, C., LOZA- TAVERA, H., AVUDAINAYAGAM, S., 2005. Chromium Toxicity in Plants. Environmental International., 31: 739- 753.
- SHARMA, D. C., CHATTERJEE, C., SHARMA, C. P., 1995. Chromium Accumulation and its Effects on Wheat (*Triticum aestivum*). Plant Sci., 111: 145- 151.
- SHARMA, DC., SHARMA, CP., 1996. Chromium Uptake and Toxicity Effects on Growth and Metabolic Activities in Wheat, *Triticum aestivum* L. Ev. UP 2003. Indian J. Exp. Biol., 34: 689- 691.
- SHENG, P. X., TING, Y-P., CHEN, J. P., LIANG H., 2004. Sorption of Lead, Copper, Cadmium, Zinc and Nickel by Marine Algal Biomass: Characterization of Biosorptive Capacity and Investigation of Mechanisms. Journal of Colloid and Interface Science., 275: 131- 141.
- SHEWRY, P. R., PETERSON, P. J., 1974. The Uptake and Transport of Chromium by Barley Seedlings (*Hordeum vulgare* L.). J. Exp. Bot., 25.
- SHI, X., DALAL, N. S., 1990. On the Hydroxyl Radical Formation in the Reaction Between Hydrogen Peroxide and Biologically Generated Chromium (V) Species. Arch. Biochem. Biophys., 277: 342- 350.
- SHIOI, Y., TAMAI, H., SASA, T., 1978. Inhibition of Photosystem II in the Green Alga *Ankistrodesmus falcutus* by Copper. Physiol. Plant., 19: 203- 209.
- SHUBERT, L. E., 1984. Algae as Ecological Indicators. Academic Press, London.
- SILVA, A. M. M., NOVELLI, E. L. B., FASCINELLI, M. L., ALMEIDA, J. A., 1999. Impact of an Environmentally Realistic Intake of Water Contaminants and Superoxide Formation on Tissues of Rats. Environmental Pollution, 105: 243- 249.

- SIMKISS, K., TAYLOR, G., 1995. Transport of Metal Across Membranes. In: TESSIER, A., TURNER, D.R.(Eds.). Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems. , JOHN, WILEY and SONS, SUSSEX, WEST. 1- 44.
- SIMS, I. R., REYNOLDS, P. J., 1999. Effects of Atmospheric Pollution on a Lichenophagous Lepidopteran. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 42: 30- 34.
- 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.
- SINGH, A., 1998. Perinatal Influence of *Chlorella vulgaris* (E-25) on Hepatic Drug Metabolizing Enzymes and Lipid Peroxidation. *Anticancer Res.*, 18 (3A):1509-14.
- SINGH, D. P., KHARE, P., BISEN, P. S., 1989. Effects of Ni⁺², Hg⁺² and Cu⁺² on Growth, Oxygen Evolution and Photosynthetic Electron Transport in *Cylindrospermum* IU 942. *J. Plant Physiol.*, 134: 406- 412.
- SIRKO, A., HRYNIEWIEZ, M., HULANICKA, D., BOCK, A., 1990. Sulfate and Thiosulfate Transport in *Escherichia coli* K- 12 . Nucleotide Sequence and Expression of the *cys* TWAM Gene Cluster. *J. Bacteriol.*, 172: 3351- 3357.
- SKEFFINGTON, R. A., SHEWRY, P. R., PETERSON, P. J., 1976. Chromium Uptake and Transport in Barley Seedlings (*Hordeum vulgare* L.). *Planta.*, 132: 209- 214.
- SKOWRONSKI, T., PRZYTOCKA- JUSIAK, M., 1986. Cadmium Removal by Green Alga *Stichococcus bacillaris*. *Chemosphere*. 15: 77- 79.
- SNOW, E. T., 1994. Effects of Chromium on DNA Replication *in vitro*. *Environ. Health Perspect.* 3: 41- 44.
- SOKAL, R. R., ROHLF, J. F., 1969. "Biometry" W. H. And Company. San Francisco. 776 pp.
- SOLDO, D., BEHRA, R., 2000. Long- Term Effects of Copper on the Structure of Freshwater Periphyton Communities and Their Tolerance to Copper, Zinc, Nickel and Silver. *Aquatic Toxicology*, 47, 181- 189.

- SOLDO, D., HARI, R., SIGG, L., BEHRA, R., 2005. Tolerance of *Oocystis nephrocytioides* to Copper: Intracellular Distribution and Extracellular Complexation of Copper. *Aquatic Toxicology*, 71, 307- 317.
- SOLOMONSON, P. L., BARBER, M. J., 1990. Assimilatory Nitrate Reductase: Functional Properties and Regulation. *Annu. Rev. Plant Physiol., Plant Moll. Biol.*, 41: 225- 253.
- SRIVASTAVA, S., NIGAM, R., PRAKASH, S., SRIVASTAVA, M. M., 1999. Mobilization of Trivalent Chromium in Presence of Organic Acids: A Hydroponic Study of Wheat Plant (*Triticum vulgare*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 63: 524- 530.
- SRIVASTAV, R. K., GUPTA, S. K., NIGAM, K. D. P., VASUDEVAN, P., 1994. Treatment of Chromium and Nickel in Wastewater by Using Aquatic Plants. *Water Res.*, 28, 7, 1631-1638.
- STERN, R. M., 1982. Chromium Compounds: Production and Occupational Exposure. In: *Biological and Environmental Aspects of Chromium* (Langard, S., Ed.). 5- 47.
- STEVENSON, R., BOTHWELL, L., LOWE, L., 1996. *Algal Ecology. Freshwater Benthic Ecosystems.*
- STRONKHORST, J., VOS, P. C., MISDORP, R., 1994. Trace Metals, PCBs and PAHs in Benthic (Epipellic) Diatoms from Intertidal Sediments- A Pilot Study. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 52: 818- 824.
- SUNDA, W. G., HUNTSMAN, S. A., 1998. Process Regulating Cellular Metal Accumulation and Physiological Effects: Phytoplankton as Model Systems. *Sci. Total Environ.*, 219: 165- 181.
- SYNDER, S. L., WALKER, R. I., MACVITTIE, T. J., SHEIL, J. M., 1978. Biologic Properties of Bacterial Lipopolysaccharides Treated with Chromium Chloride. *Can. J. Microbiol.*, 24: 495- 501.
- TAO, S., LIANG, T., CAO, J., DAWSON, R. W., LIU, C., 1999. Synergistic Effects of Copper and Lead Uptake by Fish. *Ecotoxicology and Environmental Saf.*, 44 : 190- 195.

- THOMPSON, S. A., RHODES, C. D., PETTMAN, I., 1998. Culture Collection of Algae and Protozoa, Titus Wilson & Son Ltd, Kendal, 163.
- THOMPSON, P. A., COUTURE, P., 1993. Physiology of Carbon Assimilation in a Green Alga During Exposure to and Recovery from Cadmium. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 26: 205- 215.
- TIEN, C.- J., 2002. Biosorption of Metal Ions by Freshwater Algae With Different Surface Characteristics. *Process Biochemistry*, 38: 605- 613.
- TRAVIESO, L., CANIZAREZ, R. O., BORJA, R., BENITEZ, F., DOMINGUEZ, A. R., DUPEYRON, R., VALIENTE, V., 1999. Heavy Metal Removal by Microalgae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62: 144- 151.
- TRIPATHI, R. D., SMITH, S., 1996. Effect of Chromium (VI) on Growth, Pigment Content, Photosynthesis, Nitrate Reductase Activity, Metabolic Nitrate Pool and Protein Content in Duckweed (*Spirodela polyrrhiza*).
- TRIPATHY, B. C., BHATIA, B., MOHANTY, P., 1981. Inactivation of Chloroplast Photosynthetic Electron- Transport Activity by Ni. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Bioenergetics.*, 638: 217- 224.
- VAJPAYEE, P., SHARMA, S. C., TRIPATHI, R. D., RAI, U. N., YUNUS, M., 1999. Bioaccumulation of Chromium and Toxicity to Photosynthetic Pigments, Nitrate Reductase Activity and Protein Content of *Nelumbo nucifera* Gaertn. *Chemosphere.*, 39: 2159- 2169.
- VAN ASSCHE, F., CLIJSTERS, H., 1983. Multiple Effects of Heavy Metals on Photosynthesis. In: *Effects of Stress on Photosynthesis*. (Marcelle R, Ed.) The Hague: Nijhoff/ Junk., 371- 382.
- VAZQUEZ, M. D., POSCHENRIEDER, CH, BARCELO, J., 1987. Chromium (VI) Induced Structural Changes in Bush Bean Plants. *Ann Bot.*, 59: 427- 438.
- XYLANDER, M., BRAUNE, W., 1994. Influence of Nickel on the Green Algae *Haematococcus lacustris* Rostafinski in Phases of its Life Cycle. *J. Plant Physiol.*, 144: 86- 93.
- WAHBEH, M. L., 1984. Levels of Zinc, Manganese, Iron and Cadmium in Three Species of Seagrasses from Aqaba (Jordan). *Aquatic Botany*, 20: 179- 183.

- WALLACE, A., SOUFI, S., CHA, J., ROMNEY, E., 1976. Some Effects of Chromium Toxicity on Bush Bean Plants Grown in Soil. 44: 471- 473.
- WANG, W.- X., GRISCOM, S. B., FISHER, N. S., 1997. Bioavailability of Cr (III) and Cr (VI) to Marine Mussels from Solute and Particulate Pathways. Environ. Sci. Technol., 31: 603- 611.
- WANG, W-X., DEI, R. C. H., 2001. Influences of Phosphate and Silicate on Cr (VI) and Se (IV) Accumulation in Marine Phytoplankton. Aquatic Toxicology, 52: 39- 47.
- WANG, H., 1999. Clastogenicity of Chromium Contaminated Soil Samples Evaluated by *Vicia* Root- Micronucleus Assay. Mutat. Res., 426: 147- 149.
- 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.
- WASMUND, N., 1986. Ecology and Bioproduction in the Microphytobenthos of the Chain of Shallow Inlets (Boddens) South of the Darss- Zingst Peninsula (Southern Baltic Sea). International Revue of Total Hydrobiology, 71(2): 153- 178.
- WELZ, B., 1975. Atomic Absorption Spectroscopy. Weinheim, Verlag Chemic. 296.
- WIEGAND, H. J., OTTENWEILDER, H., BOLT, H. M., 1985. Fast Uptake Kinetics *in vitro* of ⁵¹Cr (VI) by Red Blood Cells of Man and Rat. Arch. Toxicol., 57: 31- 34.
- WILDE, E., BENEMANN, J., 1993. Bioremoval of Heavy Metals by Use of Microalgae. Biotechnol. Adv., 11: 781- 812.
- 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.
- WONG, P. T. S., MAGUIRE, R. J., CHAU, Y. K., KRAMAR, O., 1984. Uptake and Accumulation of Inorganic Tin by a Freshwater Alga, *Ankistrodesmus falcatus*. Can. J. Fish. Aquat., Sci. 41: 1570- 1574.

- WONG, P. T. S., TREVORS, J. T., 1988. Chromium Toxicity to Algae and Bacteria. In "Chromium in the Natural and Human Environments" (J. O. Nriagu and E. Nieboer, eds.). 20: 305- 316.
- WOOD, J. M., WANG, H. F., 1985. Strategies for Microbial Resistance to Heavy Metals. In "Chemical Processes in Lakes" (V. Stumm, ed.). 81- 98. Wiley, New York.
- WOOLHOUSE, H. M., 1983. Toxicity and Tolerance in the Responses of Plants to Metals. In: LANGE, O. L., NOBEL, P. S., OSMOND, C. B., ZIEGLER, H., (Eds.), Encyclopedia of Plant Physiology. New Series, 12: 246- 299.
- WOOLSTON, M. E., BRECK, W. G., VANLOON, G. W., 1982. A Sampling Study of the Brown seaweed, *Ascophyllum nodosum* as a Marine Monitor for Trace Metals. Water Res., 16: 687- 691.
- 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.
- 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.
- ZAYED, A., LYTLE, C. M., QIAN, J. H., TERRY, N., 1998. Chromium Accumulation, Translocation and Chemical Speciation in Vegetable Crops. Planta., 206: 293- 299.
- ZENK, M. H., 1996. Heavy Metal Detoxification in Higher Plants- A Review. Gene, 79: 21-30.
- 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

1979 yılında Adana'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Adana'da tamamladım. 1998 yılında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdim. 2003 yılında bölümümden mezun olup aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimime başladım. Yine aynı yıl Ç. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Anabilim Dalında Tezsiz Yüksek Lisans öğrenimime başladım. 2004 yılında Ç. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Anabilim Dalında Tezsiz Yüksek Lisansımı tamamladım.