



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SU MERCİMEĞİNİN FİTOREMEDİASYON SUYUNUN VE
BAKIRLA KİRLENMİŞ SUYUN SU MERCİMEĞİNİN
(*Lemna minor* L.) PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ VE SOĞAN (*Allium
cepa* L.) KÖK UCU MİTOTİK AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GİZEM BAHAR ATAR

Tez Danışmanı

PROF. DR. OKAN ACAR

ÇANAKKALE – 2024



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SU MERCİMEĞİNİN FİTOREMEDİASYON SUYUNUN VE BAKIRLA
KİRLENMİŞ SUYUN SU MERCİMEĞİNİN
(*Lemna minor* L.) PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ VE SOĞAN (*Allium cepa* L.) KÖK
UCU MİTOTİK AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GİZEM BAHAR ATAR

Tez Danışmanı

PROF. DR. OKAN ACAR

ÇANAKKALE – 2024



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Gizem Bahar ATAR tarafından Prof. Dr. Okan ACAR yönetiminde hazırlanan ve 31/01/2024 tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Su Mercimeğinin Fitoremediasyon Suyunun ve Bakırla Kirlenmiş Suyun Su Mercimeğinin (*Lemna Minor L.*) Peroksidaz Aktivitesi ve Soğan (*Allium Cepa L.*) Kök Ucu Mitotik Aktivitesi Üzerine Etkileri**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği/oy çoğunluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Okan ACAR
(Danışman)

Prof. Dr. Cüneyt AKI

Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ

.....

.....

.....

Tez No :

Tez Savunma Tarihi : 31/01/2024

Prof. Dr. Ahmet Evren ERGİNAL

Enstitü Müdürü

.././2024

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Gizem Bahar ATAR

31/01/2024

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Okan ACAR, çalışma süresince karşılaştığım tüm zorluklarda yanımda olan ve bana destek veren Uzm. Biyolog Eda GÜNAY, Dr. Müge TEKER YILDIZ ve Uzm. Biyolog Gamze BALTACIER'e çok teşekkür ederim. Ayrıca, Bakır analizinin gerçekleştirilmesi sırasında ÇOMÜ Fen Fakültesi Kimya Bölümü Elektroanalitik Araştırma Laboratuvarı'nı bana açan ve analizlerin gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Selhattin YILMAZ ile sayın Öğr. Gör. Deniz EMRE'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Son olarak, hayatımın her evresinde bana destek olan değerli eşim Doç. Dr. Özdemir ATAR'a ve canım kızım Ruhan'a kalpten teşekkür ederim.

Gizem Bahar ATAR
Çanakkale, Ocak 2024

ÖZET

SU MERCİMEĞİNİN FİTOREMEDİASYON SUYUNUN VE BAKIRLA KİRLENMİŞ SUYUN SU MERCİMEĞİNİN (*Lemna minor* L.) PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ VE SOĞAN (*Allium cepa* L.) KÖK UCU MITOTİK AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Gizem Bahar ATAR

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Okan ACAR

31/01/2024, 38

Sucul ortamda çok sayıdaki endüstriyel prosesler sırasında salınan ağır metallerin aşırı birikimi, buna bağlı metal stresini oluşturarak bitkilerin büyüme ve gelişmelerini sınırlamaktadır. Bu araştırmada 10 mg L^{-1} CuSO_4 içeren suyun, fitoremediasyon kapasitesi iyi bilinen *Lemna minor* L.' un pigment içeriklerine, peroksidaz (POX) aktivitesine ve lipit peroksidasyona etkisi ile CuSO_4 içeren suyun ve fitoremediasyon suyunun *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde mitotik indekse etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar, 10 mg L^{-1} CuSO_4 varlığında *L. minor*' un pigment içeriklerinin dramatik şekilde azaldığını, POX aktivitesinin hafifçe düştüğünü, lipit peroksidasyonun ise 2 kat arttığını göstermiştir. Mitotik aktivite ise Cu toksisitesi ile %12 azalırken, fitoremediasyon suyunda Cu miktarının %90 azalmasına bağlı olarak mitotik indeks kontrol bitkiler seviyesine yükselmiştir. Sonuç olarak, *L. minor* L. ile gerçekleştirilen biyoremediasyon ile Cu toksisitesi azalmış ve Cu içeren sudaki sitotoksik koşullar iyileştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Su Mercimeği, Fitoremediasyon, Bakır, Su Kirliliği, Mitotik İndeks, Peroksidaz

ABSTRACT

THE EFFECTS OF PHYTOREMEDIATION WATER OF DUCKWEED AND COPPER POLLUTED WATER ON PEROXIDASE ACTIVITY OF DUCKWEED (*Lemna minor* L.) AND ROOT TIP MITOTIC ACTIVITY OF ONION (*Allium cepa* L.)

Gizem Bahar ATAR

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Biology

Advisor: Prof. Dr. Okan ACAR

31/01/2024, 38

Excessive accumulation of heavy metals released during many industrial processes in the aquatic environment creates metal stress, limiting the growth and development of plants. In this research, the effect of water containing 10 mg L⁻¹ CuSO₄ on the pigment contents, peroxidase (POX) activity and lipid peroxidation of *Lemna minor* L., whose phytoremediation capacity is well known, and the effect of water containing CuSO₄ and phytoremediation water on the mitotic index of root tip cells of *Allium cepa* L. were investigated. The results showed that in the presence of 10 mg L⁻¹ CuSO₄, the pigment contents of *L. minor* decreased dramatically, POX activity decreased slightly, and lipid peroxidation increased 2-fold. While mitotic activity decreased by 12% due to Cu toxicity, the mitotic index increased to the level of control plants due to the 90% decrease in the amount of Cu in the phytoremediation water. As a result, bioremediation with *L. minor* L. reduced Cu toxicity and improved cytotoxic conditions in Cu-containing water.

Keywords: Duckweed, Phytoremediation, Copper, Water Pollution, Mitotic Index, Peroxidase

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1

1.1. Su Kirliliğinde Kirlenme Kaynağı Olarak Ağır Metaller	3
1.2. Ağır Metallerin Fitoremediasyonunda Bitkilerin Rolü	4
1.3. Bakır Ağır Metalinin Bitki Büyüme ve Gelişmesine Etkileri	5
1.4. Mitoz Bölünme Üzerine Ağır Metallerin Etkisi.....	6
1.4.1. Hücre Döngüsü.....	6
1.4.2. M Evresi.....	7
1.4.3. Profaz.....	7
1.4.4. Metafaz.....	8
1.4.5. Anafaz.....	8
1.4.6. Telofaz.....	8
1.4.7. Sitokinez.....	8

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

9

2.1. Önceki Çalışmalar	9
------------------------------	---

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM		19
MATERYAL YÖNTEM		
3.1.	Bitki Materyali.....	19
3.2.	Ağır Metal Uygulaması.....	20
3.3.	Biyokimyasal Parametreler.....	21
3.3.1	Pigment Analizi.....	21
3.3.2.	Toplam Protein Analizi.....	22
3.3.3	Peroksidaz Aktivitesi Tayini.....	22
3.3.4	Lipit Peroksidasyon Miktarı (TBARS).....	23
3.4.	Mitotik İndeks.....	23
3.5.	Cu Tayini.....	24
3.6.	İstatistiksel Analiz.....	25
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM		26
ARAŞTIRMA BULGULARI		
4.1.	Pigment Analizi.....	26
4.2.	Toplam Protein Miktar.....	27
4.3.	Peroksidaz Aktivitesi.....	28
4.4.	Lipit Peroksidasyon Miktarı.....	29
4.5	Mitotik İndeks.....	29
4.6.	Su Örneklerinde Cu Metal miktarı.....	32
BEŞİNCİ BÖLÜM		33
SONUÇ ve ÖNERİLER		
KAYNAKÇA		36
ÖZGEÇMİŞ		I

SİMGELER VE KISALTMALAR

ROT	Reaktif Oksijen Türleri
Cu	Bakır
Zn	Çinko
Cd	Kadmiyum
Pb	Kurşun
Ni	Nikel
S	Sentez
M	Mitoz
RNA	Ribonükleik Asit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
TCA	Trikloroasetik Asit
TBA	Tiobarbitürik Asit
mg/L	Miligram/litre
DP	Diferansiyel Titreşim
O ₂	Oksijen
¹ O ₂	Tekil oksijen
O ₂ ^{*-}	Süperoksit Radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
OH*	Hidroksil Radikali
SOD	Süperoksit Dismutaz
CAT	Katalaz
APX	Askorbat Peroksidaz
GR	Glutatyon Redüktaz
Co	Kobalt
Cr	Krom
Fe	Demir

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	<i>L. minor</i> ' da Cu kirliliğini kapsayan bazı ağır metal araştırmaları	10
Tablo 2	Su mercimeğinin ve mutfak soğanının taksonomisi	20
Tablo 3	Cu örneklerinin analizinde kullanılan voltamogram	25
Tablo 4	Mitotik indeks sonuçları	30
Tablo 5	Anomali görülen hücre bölünme evreleri	30
Tablo 6	Deneme sonunda elde edilen örnek sularındaki Cu miktarları	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Hücre Döngüsü	7
Şekil 2	Ağır metal uygulamasının deneme deseni	20
Şekil 3	Deneme deseni A ve B'nin uygulanışı	21
Şekil 4	BSA standart protein eğrisi	20
Şekil 5	<i>Allium cepa</i> kök ucundaki mitoz bölünme indekslerinin kontrol, kontrol+ <i>L.minor</i> , Cu, Cu+ <i>L.minor</i> sulardaki gelişimi	24
Şekil 6	Cu kalibrasyon eğrisi	24
Şekil 7	<i>L. minor</i> 'de bakır uygulamasının Kl-a miktarına etkisi	26
Şekil 8	<i>L. minor</i> 'de bakır uygulamasının Kl-b miktarına etkisi	27
Şekil 9	<i>L. minor</i> 'de bakır uygulamasının karotenoid miktarına etkisi	27
Şekil 10	<i>L. minor</i> 'de bakır uygulamasının protein miktarına etkisi	28
Şekil 11	<i>L. minor</i> 'de bakır uygulamasının POX aktivitesine etkisi	28
Şekil 12	<i>L. minor</i> 'de bakır uygulamasının lipid peroksidasyona etkisi	29
Şekil 13	Cu içeren suda gelişen soğan kök ucu mitozunda belirlenen bazı anomaliler	30

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Ağır metal kirliliği, insan sağlığını olumsuz etkileyen ve tarımsal verimde kayıplara neden olan önemli bir çevre sorunudur. Ağır metallere kirlenmiş alanların iyileştirilmesinde remediasyon teknikleri kullanılmaktadır. Pahalı ve uğraş gerektiren geleneksel mühendislik yöntemleri yerine son yıllarda maliyeti daha düşük çevre dostu bir uygulama olan fitoremediasyon teknolojisi kullanılmaktadır (Aybar vd., 2015). Ağır metaller yer kabuğunda doğal olarak bulunmakla birlikte bunların yüksek konsantrasyonları bitkiler için toksik olabilirler ve zehirlenmelere yol açabilirler. Diğer yandan, bitkiler çevrede bulunan kirleticilerin ve ksenobiyotiklerin potansiyel fitotoksik etkilerini tolere edebilirler, çünkü bitkiler metalleri dokuları içerisine taşıyabilme özelliğine sahiptirler. Fitoremediasyon için kullanılacak bitki türlerinin seçimi bitki toleransını ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu içeren süreçlerin anlaşılması için yapılan çalışmalar son derece önemlidir. Bitkiler olumsuz çevre koşulları nedeniyle artan reaktif oksijen türlerinin (ROT) neden olduğu oksidasyona karşı bir antioksidan savunma sistemine sahiptirler. Bu durum bitkilerin ağır metal toleransında oksidatif strese karşı korunmada antioksidan savunma sisteminin rolüne de işaret eder (Hasanuzzaman vd., 2018; Yerli vd., 2020). Bitkiler tarafından aktif olarak alınan, toprakta ve suda biriken bakır (Cu) ve çinko (Zn) gibi besin elementlerine ek olarak kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), nikel (Ni) gibi besin elementi olmayan ağır metallerin uzaklaştırılmasında fitoremediasyon yöntemi kullanılmaktadır (Daud vd., 2018; Muthukumaran, 2022). Sucul ortamda Cu birikimi, sanayi atıklarının ve tarım için kullanılan bazı pestisitlerin sucul ortama karışması ile gerçekleşir (Ustaoglu vd., 2015). Ağır metallere kontamine olmuş suların temizlenmesinde sucul bir makrofit olan su mercimeği (*Lemna minor* L.) kullanılmakta ve yüksek metal tutma kapasitesine sahip bir biyoindikatör tür olarak öne çıkmaktadır (Ustaoglu vd., 2015; Török vd., 2015).

Biyoremediasyon (herhangi bir biyolojik organizma), fitoremediasyon (bitkiler) ve fikoremediasyon (algler) uygun maliyetli ve çevre dostu yeşil teknolojilerdir (Muthukumaran, 2022). Fitoremediasyon, kirleticilerin bozunması, özütlenmesi veya hareketsizleştirilmesi yoluyla çevresel kirleticilerle kirlenmiş toprağı, suyu ve havayı temizlemek için bitkilerin kullanılan bir teknolojidir. Bitkisel özümleme (fitoekstraksiyon), köklerde sabitleme (fitostabilizasyon), bitkisel bozunum (fitodegradasyon), bitkisel

buharlaştırma (fitovolatilizasyon), köklerde bozunum (rizofiltrasyon) olmak üzere beş şekilde sınıflandırılmaktadır (Aybar vd., 2015; Upcraft ve Guo, 2020). Bitkiler çevrede bulunan kirleticilerin ve ksenobiyotiklerin potansiyel fitotoksik etkilerini tolere edebilirler. Bitkiler metalleri dokuları içerisinde taşıyabilme özelliğine sahiptirler. Bitkilerde ROT üretimine yol açan ksenobiyotikler biyokimyasal değişikliklere neden olur. Bu kimyasal türler, indirgenmiş atmosferik oksijen (O_2) formlarıdır. Tekli oksijen (1O_2) oluşturmak üzere O_2 sırasıyla süperoksit radikalleri (O_2^{*-}), hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturmak üzere bir, iki veya üç elektronun oksijene transferinden kaynaklanır. Bunun sonucunda H_2O , H_2O_2 ve hidroksil radikali (OH^*) oluşur. Bunlar genellikle bitkiler tarafından farklı hücrel bölmelerde (kloroplastlar, mitokondri ve peroksizomlarda) lokalize olan, fotosentez ve solunum yan ürünleri olarak üretilirler. Radikal ve radikal olmayan ROT'lar, antioksidan savunma sistemi tarafından temizlenirler (Apel ve Hirt, 2004). Karotenoidler, tokoferoller ve askorbik asit (C vitamini) bitkilerde enzimatik olmayan antioksidanlardır. Enzimatik antioksidanlardan; süperoksit dismutaz (SOD); O_2^{*-} radikalinin detoksifikasyonunda, katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) ise H_2O_2 detoksifikasyonunda rol oynamaktadır. ROT aşırı üretimleri, ksenobiyotiklere maruz kalma gibi stres faktörleri tarafından tetiklenebilir. Bitkiler, ksenobiyotiklere maruz kaldıklarında ROT üretimi ile temizlenmesi arasındaki normal denge bozulur. Artan ROT konsantrasyonu; lipid peroksidasyona, proteinlerin oksidasyonuna, enzim inhibisyonuna, DNA ve RNA hasarına neden olarak hücrede oksidatif zarara yol açar (Mittler, 2002; Masella vd., 2005). Bitkilerin stres toleransı, aşırı ROT üretimi ile başa çıkma kapasiteleriyle ilgilidir. Sonuçta antioksidan savunma sistemi, ağır metaller ve diğer olumsuz çevre koşulları ile oluşan oksidatif strese karşı bitkileri korumaktadır (Yadav, 2010). Kirli suların arıtılmasında, sivrisinek larvalarının azaltılmasında, yeşil bitkilerin toksisite testlerinde biyoindikatör bitki olarak, akvaryum ve küçük havuzlarda süs bitkisi olarak kullanımları mevcuttur. Ayrıca yem bitkisi olarak gıda, enerji eldesi ve çevre kirliliğinin engellenmesinde kullanımları da öne çıkmaktadır (Tekoğul, 2020).

1.1. Su Kirliliğinde Kirlenme Kaynağı Olarak Ağır Metaller

Su kirliliği, su kaynağının fiziksel, kimyasal, biyolojik olarak bakteri kaynaklı, radyoaktif ve ekolojik yönlerinin negatif yönde değişmesi şeklinde meydana gelir. Su kirliliği insan kaynaklı etkiler sonucunda oluşan, kullanımı kısıtlayan ve ekonomik dengeleri değiştiren bir faktördür. Su kirliliğini; biyotik kaynaklara zararlı, insan sağlığı için olumsuz, çalışmaları kısıtlayıcı ve su kalitesini bozan etkiler gösterebilen maddelerin suya atılması şeklinde tanımlamaktadır. (Yanık ve Atamanalp, 2001; Sönmez vd., 2008). Bu yönden bakıldığında su kirliliğini artırıcı birçok unsur vardır. Bu etkenler çeşitlerine ve bu çeşitliliğe sebep olan etkenlere göre birçok sınıfa ayrılmakla birlikte, en önemlisi kimyasal kaynaklı kirlenme oluşmasıdır. Son yıllarda endüstrileşmenin ve sanayinin gelişmesiyle beraber tarımsal mücadelede pestisit ve kimyasal ilaç kullanımından dolayı böyle kirlenmelere sıkça rastlanmaktadır (Sönmez vd., 2008). Araştırmalar, kimyasal su kirliliğinin en büyük nedeninin ağır metal birikimi olduğuna işaret etmektedir. İz metalle eş anlamlı olarak kullanılan ağır metal terimi temel olan ve olmayan bütün iz metalleri kapsar (Rainbow, 1995).

Ağır metaller biyolojik proseslere katılma biçimlerine göre yaşamsal ve yaşamsal olmayan şekilde ayrılırlar. Yaşamsal ağır metallerin canlı yapısında belirli bir değerde bulunmaları gereklidir. Bu nedenle, bu metallerin düzenli olarak dışardan alınmaları zorunludur. (Bigersson, 1988).

Ağır metaller biyolojik olarak parçalanmadıkları için çevrede birikir ve besin zincirini kirletirler (FAO, 2017). Bu kirlilik çevre ve insan sağlığı için risk oluşturmaktadır. Kirlenmeye sebep olan metaller kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), krom (Cr), demir (Fe), kobalt (Co), Cu, Ni, civa (Hg) ve Zn olmak üzere 60' tan fazla metal bulunmaktadır. Her geçen gün su kirliliği yüksek dozlardaki ağır metaller nedeniyle artmaktadır. Bunun nedenleri toksik maddeler, tarımsal gübre ve ilaçlar (pestisitler) ve hayvansal atıklar, hızlı nüfus artışı, plansız kentleşme, doğal kaynakların ölçsüz kullanılması sayılabilir (Kahvecioğlu vd., 2007).

Bu sebeplerden dolayı ağır metal kirlenmesi bilimsel ve çevresel anlamda birçok çalışmanın konusu olmaktadır. İnsan faaliyetlerinin sonucu olarak yüzeysel sularda özellikle ağır metal derişimleri her geçen gün artmaktadır. Ağır metaller su habitatlarında yüksek miktarda biriken çok toksik ve zararlı kirleticilerdendir ve derişimleri biyolojik birikim sonucunda artmaktadır (Sin vd., 2001; Kishe vd., 2003; Ahmed vd., 2005)

1.2. Ağır Metallerin Fitoremediasyonunda Bitkilerin Rolü

Doğal kaynakların kirliliği ve yok olma ihtimali gün geçtikçe daha da artan bir sorun haline gelmektedir. Remediasyon (iyileştirme) yöntemleri yaşam formları ve ekosistemde oluşan kimyasal kirleticilerin azalması için kullanılmaktadır (Dindar vd., 2010). Toprak, hava, su gibi kaynaklarda volkan patlaması, deprem, petrol sızıntılarının suya karışması, maden alanlarındaki kirlenme gibi pek çok faktör nedeniyle oluşan kirliliğin temizlenmesi uzun ve maliyetli bir süreçtir. Bu nedenle son yıllarda mikroorganizmalar ve uygun bitki türleri kullanılarak gerçekleştirilen bioremediasyon araştırmaları kirlilik tutma kapasitelerine göre kirliliğin bertaraf edilmesinde böyle organizmaların kullanışlı olabileceğini göstermiştir. Hiperakümülatör bitkilerde yüksek oranda ağır metal tutma ve bunları antioksidan sistemleriyle etkisiz hale getirebilme kapasiteleri nedeniyle pestisit, gübre ve diğer kimyasallarla kirlenmiş sularda üretim yapılan bölgelerde fito-ıslah çalışmalarına yön verebilmektedir (Sevgi ve Leblebici, 2022).

Son zamanlarda ekolojik anlamda önemi olan bazı tekniklerin geliştirilmesi için uygun bitki türlerinin kullanımıyla fitoremediasyon çalışmaları yapılmaktadır. Bu tip teknikler diğer alışılmış yöntemlere göre daha uygun bulunmaktadır. Doğal bitki örtüsünün üyesi olan hiperakümülatör bitkiler, metal derişimi fazla olan habitatlarda yetiştirildiği zaman, normal bitkilere göre 100 – 1000 kat daha fazla miktarda metali dokularında biriktirdiklerinden ve antioksidan sistemleri daha gelişmiş olduğundan fitoekstraksiyon için daha uygundur (Rascio ve Navari, 2011).

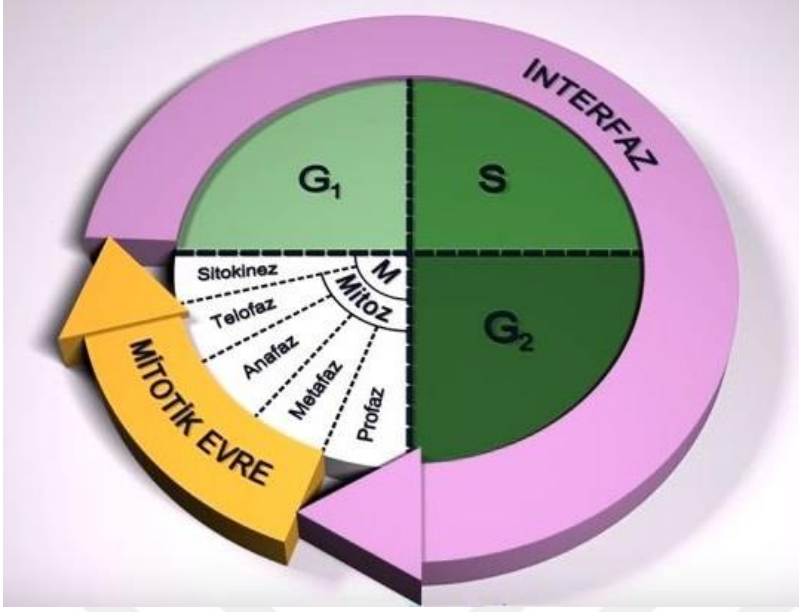
sentezi ve zar bütünlüğünü etkiler. Hücrede biriken Cu, membran lipitlerini içeren peroksidasyon zincir reaksiyonunu başlatan serbest radikallerin üretimine yol açar ve elektron taşıma sisteminin engellenmesine neden olur (Yerli vd.,2020). Aşırı bakır birikimi, ROT konsantrasyonunu artırarak bitkilerde oksidatif strese yol açabilir. Yüksek konsantrasyondaki Cu, bitki morfolojisi, anatomisi ve biyokimyası yanı sıra büyüme ve gelişimine etkileri bitkilerde kromozom aberasyonlarına sebep olduğu görülmüştür (Meyers vd., 2010)

1.4. Mitoz Bölünme Üzerine Ağır Metallerin Etkisi

Mitoz, kromozom sayısının sabit kalmasını ve genetik özelliklerin korunmasını sağlayan bir bölünme şeklidir. Tek hücrelilerde ata bireye benzer bireylerin oluşumunu, çok hücrelilerde ise büyüme, gelişme, hasar gören kısımların onarımını sağlamaktadır.

1.4.1. Hücre Döngüsü

Ökaryotik hücrelerde DNA replikasyonu hücre bölünmesinden önce gerçekleşir. Hücre Siklusu G₁ (ilk aralık), S (sentez), G₂ (ikinci aralık) ve M (mitoz) olmak üzere dört evreden oluşur (Şekil 1). G₁, S ve G₂ evrelerinin toplamı mitoz hazırlık evresi olan interfazdır. G₁ evresinde; hücre için gerekli RNA ve proteinler sentezlenir metabolik aktivite artar. S evresinde; RNA sentezi devam ederken protein sentezi de en yüksek düzeye ulaşır. DNA replikasyonu gerçekleşir. G₂ evresinde; DNA replikasyonu tamamlanır (Güneş, 2006).



Şekil 1. Hücre Döngüsü (MEB, 2023).

1.4.2. M Evresi

M evresi mitotik döngü olarak bilinir ve 5 evreye ayrılır. İlk 4 evre; profaz, metafaz, anafaz, telofaz, 5. evre ise telofazın devamında gerçekleşen sitokinezdır. Sitokinez aslında anafazda başlar ve mitotik siklusunun sonuna kadar devam eder.

1.4.3. Profaz

Bu evrede nukleusun içerisindeki kromatin ağı kısalıp kalınlaşarak kromozomlar halini alır. İki kromatit birbirine yakınlaşarak sentromer bölgelerini oluştururlar. Kromozomlar profazın başında nukleusun içinde eşit bir dağılım gösterirler. Evrenin sonuna doğru ise nukleusun zarına yaklaşır ve nukleusun merkezi boş kalır. Profaz esnasında kromozomların hücre içindeki yönelimleri değişmeye başlar. Kromozomların sentromer bölgelerinin etrafında kinetokorları belirir. Profazın sonunda ise nukleolus zarı erir ve nukleus kaybolur (Topaktaş vd., 2010).

1.4.4. Metafaz

Metafaz iki alt evrede ele alınabilir:

a) Prometafaz: Prometafaz çekirdek lamına proteinlerinin fosforile olması sonucunda çekirdek zarının yıkılıp ortadan kalkması ile başlar. Bu evre sırasında kromozomlar sitoplazmada gelişigüzel dağılmıştır. Kinetokorlara bağlanan mikrotübüller, mitotik iğ mikrotübülleri olarak; kinetokorlara tutunmayan mikrotübüller ise polar (kutupsal) mikrotübüller olarak adlandırılır. Polar mikrotübüller, mitoz sırasında iki kutup arasında kromozomların göçüne yardımcı olurlar.

b) Metafaz: Bu evrede kromozomlar ekvatorial düzleme tek sıra halinde dizilim gösterirler. Mikroskop altında en rahat gözlenen evre olmaktadır (Kaçar vd., 2010).

1.4.5. Anafaz

Bu evrede duplike kromozomun kromatidleri iğ ipliklerinin kısılmasıyla sentromer bölgelerinden ayrılarak zıt kutba doğru çekilirler. Kromatid grupları kutuplara çekilmesiyle anafaz sona erer ve telofaz başlar (İnaltun, 2024).

1.4.6. Telofaz

Telofazda kromozomlar kutuplara ilerlemiş, çekirdek laminaları defosforile olmuştur ve çekirdek zarı yeniden oluşmuştur. Kromozomlar gevşer ve interfaz evresindeki hücreler gibi heterokromatin ve ökromatin şeklinde görünürler. Yoğunlaşmış haldeki kromatin ağı yaygınlaşır, nukleolus oluşur ve mitoz sonlanır (İnaltun, 2024).

1.4.7. Sitokinez

Sitoplazma bölünmesi olarak bilinen bu aslında anafaz evresi ile başlar. Bitki hücrelerinde çeper yapısı olduğu için bu evrede ara lamel oluşumuyla iki hücre meydana gelir (İnaltun, 2024).

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Önceki Çalışmalar

Su mercimekleri (*Lemna* spp.), *Lemnaceae* familyasına ait sucul makrofitlerdir. Birçok çalışmada *Lemna* spp. türlerinin ağır metallerin sudan uzaklaştırılmasında başarılı sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Axtell vd., 2003; Alvarado vd., 2008; Üçüncü vd., 2013; Daud vd., 2018) (Tablo 1). Üçüncü vd., (2013) ağır metallerce kirletilmiş sularda Cu, Pb ve Cr'nin *L. minor* kullanılarak bitkinin bu elementler açısından fitoremediasyon potansiyelinin sırasıyla %99, %92 ve %46 oranında tolere ettiğini ortaya koymuşlardır. Daud vd. (2018), *L. minor* Cu, Zn, Pb, Fe, Ni içeren karışıma 6 gün süreyle maruz bırakmış ve en yüksek birikim oranını %91 Cu bulmuşlardır. Su mercimeğinin ağır metal için farklı şartlarda uzaklaştırma kapasitesi saptanmış olup sucul ortamlardaki Cu fitoremediasyonunda *Lemna gibba* bitkisinin artan dozlarda (10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} ve 4 mg Cu L^{-1}) Cu uygulamaları klorofil miktarlarında azalma olduğunu (Megateli vd., 2009), *L. minor*'un yüksek konsantrasyonlarda bulunan Cu elementinin protein içeriğini azalttığını bildirmişlerdir (Ustaoglu, 2015). *L. minor*, 4 gün boyunca farklı Cu ve Cd ($0,05-20 \text{ mg L}^{-1}$) konsantrasyonlarının uygulamasının karşı alım kinetiğini, büyüme ve antioksidan tepkisini araştırıldığı bir çalışmada, yüksek konsantrasyonlu ağır metaller (Cu > 10 mg L^{-1} , Cd > $0,5 \text{ mg L}^{-1}$) maruz kalmanın su mercimeğinin antioksidan sistemini baskılayarak oksidatif stresi indüklediği göstermiştir. Ayrıca, yüksek düzeyde metal stresinde protein ve fotosentetik pigmentlerin içeriklerinde önemli bir azalma gözlenmiştir (Hou vd., 2007) (Tablo 1).

A. cepa, çevresel kirleticiler ya da ksenobiyotiklerin laboratuvar ortamında kök büyümesi, mitotik indeks ve hücre döngüsü boyunca meydana gelen değişimlerin incelenmesinde kullanılan bir test sistemidir (Gültekin ve Akı, 2021). Endüstriyel atık suların *A. cepa*, üzerine genotoksik etkileri üzerine yapılan bir çalışmada biyolojik ve kimyasal atık su arıtma tesisinde hem giriş hem de çıkış suyunun *A. cepa*, kök meristemleri üzerindeki etkilerini incelenmiştir. Atık su uygulamasının mitotik bölünme hızını azalttığı ve mitotik anomalileri arttırdığı belirlenmiştir. Arıtılmış suda düşük bir anomali oranı gözlenirken, farklı konsantrasyonlardaki (%10, %25, %50 ve %100) arıtılmamış atık suda

lagging (kalgın) kromozom durumu, düzensiz dağılım, polar kaymalar, yatay bölünme ve yapışkan kromozom gibi kromozomal aberasyonlar gözlenmiştir (Şık vd., 2009).

Tablo 1

L. minor'da Cu kirliliğini kapsayan bazı ağır metal araştırmaları

Bitki <i>Lemna minor</i> L.	Maruz bırakılan ağır metal (konsantrasyon)	% giderim veya bitki dokusunda birikim miktarı	Kaynak
	Cu (10,4 ppm) Pb (0,2 ppm) Cr (3ppm)	%99.97 %92.35 %46.18	Üçüncü vd., 2013
7 gün	Cu (1,47) Zn (0,83) Pb (0,69) Fe (1,17) Ni (1,21)	%91 %83 %78 %77 %76	Daud vd., 2018
4 gün	Cu ve Cd (0,05-20 mg L ⁻¹)	Cu > 10 mg l ⁻¹ , Cd > 0.5 mg l ⁻¹ Antioksidan savunma	Hou vd., 2007
4 gün	Cu (5, 10, 20 µM)	B, Mn, Fe, Co ve Zn alımını artırdı, P alımını azalttı.	Hu vd., 2018
10 gün	Cr (III) ve Cu (0,25 ve 1 mg L ⁻¹)	Cr (III) (%75-100) Cu'dan (%35-40) 1 mg L ⁻¹ Cu toksik etki	Wahaab vd., 1995

Hou vd. (2007) konsantrasyona bağlı maruz kalma (0,05–20mg⁻¹) sırasında su mercimeğinde sırasıyla CuSO₄ ve CdCl₂'nin neden olduğu çözünür protein ve fotosentetik pigmentlerin içeriğindeki değişiklikleri ve ayrıca antioksidan enzimlerin aktivitesi araştırmışlardır. Sonuçlar, yüksek konsantrasyonlu ağır metallere (Cu>10 mg L⁻¹, Cd>0,5 mg L⁻¹) su mercimeğindeki antioksidan sistemin parçalanmasına neden olabilir. Ayrıca, yüksek seviyeli metal stresine bağlı olarak çözünür protein ve fotosentetik pigment içeriklerinde önemli azalma gözlenmiştir. Ayrıca kadmiyumun bitkiler üzerinde bakırdan daha zehirli olduğu bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucu, *Lemna minor*'un düşük seviyeli Cu ve Cd ile kirlenmiş su kütlesinin bitkisel ıslahı için uygun bir aday olduğunu göstermiştir. Artan ağır metallerin yaprakların MDA aktivitesi üzerindeki uyarıcı etkileri olduğu ve bitkilerin gelişmiş lipit peroksidasyonu ile karşılaştığını gösterdi. Sonuçlar, aynı konsantrasyonlar altında, Cd ile muamele edilen yaprakların, Cu ile muamele edilenlere göre daha yüksek oksidatif stres ile karşı karşıya kaldığını gösterdi. Artan ağır metal konsantrasyonları ile antioksidan enzimler POD, CAT ve SOD aktivitelerinin karmaşık olduğu; yüksek metal stresi altında, POD ve CAT aktiviteleri inhibe olurken, SOD aktivitesi yüksek strese dayanabilir. Bu enzimler, ağır metallere karşı farklı direnç gösteren farklı hücresel bölgelerde yer aldığından, yüksek metal stresi ile hücresel sistem fonksiyonlarının

bozulması, enzim aktivitesinin inaktivasyonuna neden olabilir. Bununla birlikte, antioksidan enzim inaktivasyonunun mekanizması net değildir ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyar. Bu enzimler, ağır metallere karşı farklı direnç gösteren farklı hücrel bölgelerde yer aldığından, yüksek metal stresi ile hücrel sistem fonksiyonlarının bozulması, enzim aktivitesinin inaktivasyonuna neden olabilir. Bununla birlikte, antioksidan enzim inaktivasyonunun mekanizması net değildir ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyar. En düşük konsantrasyonda (0,05 mg), Cu su mercimeklerine çok az zarar verdi. Konsantrasyon 10 mg l1'e ulaştığında bitkilerin antioksidan sistemi bozulmaya başlamıştır. Deneylerimiz, Lemna minor'un düşük seviyeli ağır metal stresini ($Cu_2^+ < 10 \text{ mg L}^{-1}$ $Cd_2^+ < 0,5 \text{ mg L}^{-1}$) tolere edebildiğini gösterdi. Su mercimeği tarafından sulu çözüldüden düşük seviyeli toksik metallerin uzaklaştırılması da oldukça etkiliydi. Bu nedenle, tavsiye edilen hasatla birleştiğinde, düşük seviyeli kirli su kütlesinin Cu ve Cd mevcuttur.

İki yüzen bitki türü olan *Azolla filiculoides* ve *L. minor* tarafından kirli sudan Cu uzaklaştırılması gözlemlenerek kaydedildiği bir çalışmada, farklı Cu (II) konsantrasyonuna (0,25–1,00 mg/L) ve örnekleme zamanına (0, 1, 2, 5 ve 7. günler) maruz bırakılmıştır. Her iki bitki de 1,00 mg Cu/L suda maruziyetin beşinci gününde *A. filiculoides* ve *L. minor* için Cu maruziyeti %74 iken yüksek giderim oranlarıyla maruz kalma süresinin sonunda (7. Gün), *A. filiculoides*'in iç hücrelerinin yapısı ilk uygulama dönemine kıyasla iyi durumda bulunmuştu. *L. minor* ile ilgili olarak , 1,00 mg/L'deki Cu, bu bitkinin hem büyümesini hem de morfolojisini olumsuz etkilemiştir. Bunun nedeni, *L. minor*'de (2,86 mg/g) *A. filiculoides*'e (1,49 mg/g) göre daha yüksek Cu birikimi olarak açıklanmıştır. Ek olarak, kuru bitki kütlesi başına Cu uzaklaştırma oranı, her iki bitki için de yalancı ikinci dereceden bir modele uymuştur, oysa adsorpsiyon denge verileri, Cu adsorpsiyonunun birden çok katmanda meydana geldiğini gösteren Freundlich izotermine uydu. Sonuçlara göre, her iki tür de Cu ile kirlenmiş suyun fitoremediasyonunda uygulanabilir bulunmuştur. *L. minor* ile ilgili olarak , 0,25 ve 0,5 mg/L'ye maruz kalan bitkiler için maksimum uzaklaştırma etkinlikleri 5 gün sonra %34 ve %52 iken, 5 gün maruz kaldıktan sonra 1,00 mg/L Cu çözeltisi için %74 elde edildi. Ek olarak, Cu uzaklaştırma verimliliği, tüm Cu konsantrasyonları için 5. Güne kadar kademeli olarak arttı, ardından 7. Güne kadar bir düşüş izledi (Al-Baldawi vd., 2022).

Cu, bir geçiş metalidir ve tüm yaşam formları için hayati öneme sahiptir. Bitki büyümesi ve metabolizması için gerekli olan ortalama 10 µg/g kuru ağırlık doku konsantrasyonunu sağlar. Ancak, daha yüksek konsantrasyonlarda (20-30 µg/g kuru ağırlık), bitkiler için son derece toksiktir. Cu fitotoksitesini, ROT retimi, kloroplast ve tilakoid düzensizliği sonucu antioksidan sistemlerinin uyarılması, pigmentlerde azalma, biyokütle azalması, kloroz ve düşük fotosentetik etkinlik gibi etkilerle ortaya çıkar. Bakır kaynakları, atık sular, galvanik kaplama, cam imalatı, elektrikli ve elektronik cihazlar, metal endüstrisi, seramik üretimi, boru altyapısı ve sıhhi tesisat gibi faaliyetlerle ilişkilendirilebilir. Su mercimeği, Cu'yu bir besin olarak kullanmanın yanı sıra, yapraklarında ve köklerinde makul miktarda biriktirir. *L. minor*'un 20, 50 ve 100 µM'lik Cu konsantrasyonlara maruz kalması yapraklara kıyasla *L. minor* köklerinde daha yüksek bir Cu birikimine neden olmuştur. Sulu ortamdaki Cu konsantrasyonu ne kadar yüksekse, yaprak (7,30, 9,33 ve 13,27 µg/g kuru ağırlık) ve köklerdeki (13,47, 19,37 ve 24,60 µg/g) Cu konsantrasyonunun o kadar yüksek olduğunu gösterilmiştir. 100 µM'de *L. minor*'un biyokimyasal ve fizyolojik süreçleri önemli lde etkilenmiştir. 0,3 mg/L'nin üzerindeki konsantrasyonlar, Cu seviyeleri daha da yükseldikçe önce inhibe edici ve ardından toksik etkilere sahiptir. *L. gibba* 0,1 – 0,3 mg/L Cu zltisinden Cu uzaklaştırma yüzdesi sırasıyla %60 ve %80 idi. *L. gibba* tarafından ≥0,3 mg/L'de gösterilen Cu toleransı, toksik sonuçları kısmen önleyen organik asitlerle (yani sitrik asit ve malik asit) Cu şelasyonundan kaynaklanabilir. Sulu ortamda 0,25 mg/L Cu konsantrasyonunda *L. gibba* için benzer büyüme nleme sonuçları gösterilmiştir. Ayrıca *L. minor*'un 0,5 mg/L Cu konsantrasyonunda büyümeyi bozduğu bildirilmiştir. Bu bulgulara dayanarak, *Lemna* türleri, düşük Cu seviyelerine sahip atık su fitoremediasyonu için önerilmiştir (Ali vd. 2016).

Test organizması olarak su mercimeği (*Lemna minor* L.) kullanılarak endüstriyel atıkların ekotoksikolojik değerlendirmesinin yapıldığı bir çalışmada; *L. minor* kullanılan endüstriyel atık suların toksik etkilerini değerlendirilmiştir. Bir test sistemi olarak su mercimeğine standartlaştırılmış protokole (ISO 20079) göre büyüme inhibisyon testi yapılmıştır. Buna göre; Comet testinin uygunluğu (DNA hasarını gösterir) ve çevresel izleme için biyobelirteçler olarak POX aktivitesi ve lipid peroksidasyon seviyesi gibi belirli parametreler değerlendirilmiştir. Su rnekleri, Hırvatistan'ın Savski Marof sanayi bölgesi yakınlarındaki dereden 3 aylık bir süre boyunca aylık olarak toplanmıştır. Tüm rnekler,

yaprak sayısı ve biyokütle bazında büyüme hızlarının inhibisyonunun yanı sıra klorofil içeriğinin azalmasına neden olmuştur. Buna karşılık, POX aktivitesi, MDA içeriği ve kuyruk uzatma momenti (DNA sarmal kırılmalarının ölçüsü) belirgin şekilde artmıştır. Sonuçlar, 3 aylık bir süre boyunca toplanan %5 seyreltilmiş su numunelerinde bile önemli DNA hasarına neden olduğunu (medyan kuyruk uzatma momenti ile temsil edilir) göstermiştir. %5'ten yüksek seri dilüsyonlar ve seyreltilmemiş su numuneleri, *L. minor* toplam DNA hasarına neden olmuştur (Radic vd., 2010).

Çevre kirliliği kontrolü için akuatik bir makrofit olarak *L. minor* kullanımıyla göl suyundan ve tarımsal geri dönüş atık suyundan ağır metal giderimi üzerine yapılan bir çalışmada göl florasında yaygın olarak bulunan su mercimeği ile bu alanda gerçekleştirilen tarımsal faaliyet dönüş suları ve göl sularındaki ağır metal kirliliğinin giderim etkinliği bir vaka çalışması kapsamında değerlendirilmiştir (Demirci ve Dursun, 2015). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, su mercimeğinin yüzey sularından ağır metallerin uzaklaştırılmasında bu bölge için etkili ve düşük maliyetli bir su makrofiti olduğu tespit edilmiştir (Töre vd. 2022).

Ağır metallerin (HM'ler) kimyasal reaksiyonlarda ve süreçlerde yoğun kullanımı, sonunda çevresel segmentleri kirletir ve şu anda önemli bir çevresel sorundur. Cd, Cu, Pb, Cr ve Ni gibi HM'ler, yeterli biyobirikim potansiyeline sahip oldukları için en zararlı kirleticiler olarak kabul edilir. Kirlenmiş endüstriyel atık suyun *L. minor* L. ile fitoremediasyonunda asetik asit uygulaması altında büyüme ve fizyolojik tepkinin araştırıldığı bir çalışmada, tekstil ve tabakhane atık sularının HM toksisitesini ve asetik asidin (AA) HM'lerin su mercimeği tarafından hidroponik ortamda fitoekstraksiyonu üzerindeki etkisini değerlendirilmiştir. Bitkiler, farklı hidroponik AA konsantrasyonlarına (5 ve 10 mM) ve tekstil ve tabakhane atıklarına sahip farklı işlemlerle muamele edilerek, burada bu iki atık su eşit olarak karıştırılmıştır ve daha sonra farklı oranlarda (25, 50, 75 ve 100%) iyi kalitede suyla seyreltilmişlerdir. Bitkilerde büyüme özellikleri, klorofiller, antioksidan enzimler, elektrolitik sızıntı , reaktif oksijen türleri ve HM birikimi için sonuçlar kaydedilmiştir. HMs birikimi, katalazlar gibi antioksidan enzimlerin artan aktiviteleri ile birlikte büyüme parametrelerini, klorofil içeriklerini ve karotenoid içeriklerini bozar. AA'nın hidroponik deney sistemine eklenmesi, antioksidan savunma mekanizmasını (CAT, SOD,

POX ve APX aktiviteleri) önemli ölçüde geliştirmiş ve bitkilerde HM kaynaklı toksisiteyi hafifletmiştir. AA (10 mM) uygulamasında Cr, Cd, Pb, Cu ve Ni konsantrasyonları sırasıyla %116-422, %106-416, %72-351, %76-346 ve %41-328'e kadar maksimum artış göstermiştir. Sonuçlar, su mercimeğinin endüstriyel atık suyu arıtmak için potansiyel fito-çare olarak uygulanabileceğini ortaya koymuştur (Farid vd 2022).

Pestisitler ve iz elementler, agroekosistemlerde karmaşık karışımlar halinde meydana gelir ve toprak sağlığını ve gıda güvenliğini etkiler. Bu nedenle, tarla koşullarında toksisitelerinin belirlenmesi ve konvansiyonel ve organik tarımın değerlendirilmesi için izleme yaklaşımlarının geliştirilmesi gerekmektedir. Kolombiya'nın yoğun bir tarım bölgesinde konvansiyonel, dönüşüm ve organik mahsullerin topraklarında bulunan gerçekçi pestisit ve eser element karışımı arasındaki ilişkileri değerlendirmede *A. cepa* bitkisini sitogenetik biyobelirteç olarak kullanıldığı bir araştırmada pestisit taraması, GC-MS/MS ve LC-MS/MS yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. As, Cd, Pb ve Zn ICP-MS ile analiz edilmiştir. Cr, Cu, Ni, Se ve Hg ise ICP-OES ile analiz edilmişlerdir. *A. cepa* L.'nin köklerindeki meristematik hücreler, sitogenetik etkileri ölçmek için mikroskopik gözlemlerle analiz edilmiştir. Geleneksel mahsullerde, toprak numunelerinde 26 pestisit tespit edildi ve bunlar organik mahsullerde miktar tayini sınırının altındaydı. As, Cd, Cr, Ni, Pb ve Se'nin ortalama seviyeleri de geleneksel mahsullerin topraklarında organiklere kıyasla daha yüksekti. Ek olarak, sitotoksosite ve genotoksosite biyobelirteçleri, geleneksel numunelerde artmış gibi görüldü ve bunlar pestisit ve iz element konsantrasyonları, kirlilik indeksleri ve tehlike katsayıları ile ilişkilendirildi. Daha sonra, mitotik indekse, kromozomal anormalliklere ve nükleer anormalliklere dayalı bir ayırt edici fonksiyon, numuneleri ürün tipine göre sınıflandırmak için uygun oldu. Bu sonuçlar, *A. cepa* L.'nin tarla mahsullerindeki karmaşık karışımların toksisitesine duyarlılığını ve organik ve geleneksel mahsul sistemlerinde toprak sağlığı izleme için yerinde bir yaklaşım olarak potansiyelini göstermektedir (Gallego vd., 2021).

Arıtma endüstrisi, yüksek mukavemetli organik ve inorganik yük içeren büyük miktarda atık su üretir. Damıtma tesisi atık suyundan kaynaklanan tehlikeli organik kirleticilerin GC-MS analizi ile tespiti ve tanımlanması ve *A. cepa* ve *Cicer arietinum* L kullanılarak fitotoksosite ve genotoksosite değerlendirildiği bir çalışmada, fiziko-kimyasal

kirlilik parametreleri ve atıksudaki fitotoksik, sitotoksik ve genotoksik kirleticilerin oluşumu analiz edilmiştir. Sonuçlar, atık su parametrelerinin değerlerinin 13268 mg l⁻¹ (BOD), 25144 mg l⁻¹ (COD), 25144 mg l⁻¹ (TS), and 6634 mg l⁻¹ (fosfat) olduğunu ve pH'ın ise alkali olduğunu göstermiştir. GC-MS tarafından tespit edilen organik bileşikler, quercetin 7,3',4'-trimetoksi, oktadekadienoik acid, propanoik asit, glikolik asit, metil ester, santaksantin vs. idi. *A. cepa* , farklı konsantrasyonlarda atık su ile toksisite testi için kullanıldı ve maruz kaldıktan sonra kök büyümesinde ve uzunluğunda önemli bir azalma gösterdi ve maksimum azalma %20-25 aralığındaydı. *C. arietinum* . kullanılarak farklı konsantrasyonlarda atık su ile fitotoksosite çalışmalarında ise tohum çimlenmesi ve kök uzunluğu üzerinde olumsuz etkiler belirlendi ve etki, artan atık su konsantrasyonu ile ilişkilendirildi. *A. cepa* kök uçları, mitotik indeks (MI), nükleer anormallikler (NA) ve kromozomal anormalliklerin (CA) analizi için kullanıldı. MI, %5, %10, %15, %20 ve %25 atık su konsantrasyonunda sırasıyla %72'den (kontrol) %33, %22, %23, %21 ve %18'e önemli ölçüde azalıyordu. *A. cepa* kök ucu hücreleri, kromozomal anormallikleri arasında yapışkanlık, kromozomal kayıp, c-mitoz, çift çekirdek, mikronükleus ve anormal hücre gibi nükleer anormallikler bulunmuştur. Bu çalışma, atık su arıtma sürecinin yetersiz olduğu ve deşarj edilen atığın ilgili sağlık riskini bilmek için uygun bir değerlendirmeye ihtiyaç duyduğu sonucuna varmıştır (Chowdhary vd., 2022).

Sulak alan ekosistemlerinde ağır metal kontaminasyonu ciddi bir çevre ve sağlık sorunudur. Kirli bir kentsel sulak alanda tespit edilen bir ağır metal karışımının sitogenotoksosite değerlendirmesinin *A. cepa* L ile izlendiği bir çalışmada çalışma, Sri Lanka'daki kirli bir kentsel sulak alan olan Bellanwila-Attidiya kutsal alanında (BAS) daha önce kanıtlanmış bir ağır metal kontaminasyonu (Cd, Cr, Cu, Pb and Zn ~5 ppm each)'in sitogenotoksitesini, bir dizi sitogenotoksik deney kullanılarak değerlendirilmiştir. *A. cepa* L biyo-tahlilinde saha kontrolleri sonuçlarına göre önemli etkiler görülmezken, ağır metallere bireysel maruz kalma, laboratuvar koşulları altında bunların birleşik maruziyetinden daha düşük etkiler göstermiştir; Pb²⁺, en yüksek mitotik inhibisyona sahip en toksik metaldi (Pb²⁺>Cd²⁺>Zn²⁺>Cr₆>Cu²⁺), kromozomal anormalliklerin yüzdesi olarak değerlendirilen mutajenik potansiyel (Pb²⁺>Zn²⁺>Cu²⁺>Cr⁶⁺>Cd²⁺) ve hücre apoptozu ve nekroz insidansı ile değerlendirilen sitotoksosite (Pb²⁺>Cr⁶⁺>Cu²⁺>Cd²⁺>Zn²⁺) belirlenmiştir. Bu nedenle, sitogenotoksitenin farklı yönlerini ortaya koyan bu çalışmada *A. cepa* L testinin,

öncelikle ekolojik sağlığı etkileyebilecek ağır metallerin karmaşık çevresel karışımlarını taramak için çevresel izlemede değerli bir araç olarak hizmet edebileceği bildirilmiştir (Jayawerdena vd., 2021).

Aşırı Cu maruziyeti, sonuçta tüm organizmalarda toksikoz ile sonuçlanır. Resveratrol bileşiğinin CuCl_2 toksisitesine karşı koruyucu potansiyeli *A. cepa* L kök ucu hücrelerinde değerlendirildiği bir çalışmada; *A. cepa* L soğanları altı gruba ayrılmış ve gruplara sırasıyla 72 saat musluk suyu, 400 mg/L resveratrol, 800 mg/L resveratrol, 20 μM CuCl_2 , 400 mg/L resveratrol +20 μM CuCl_2 , and 800 mg/L resveratrol + 20 μM CuCl_2 çözeltileri uygulanmıştır. Şebeke suyu ile irrije edilen 1. grup kontrol olarak kabul edilerek, tüm gruplar çimlenme yüzdesi, kök uzaması, toplam soğan ağırlığı artışı, mikronükleus (MN) frekansı, mitotik indeks (MI), kromozomal anormallikler ve anatomik değişiklikler açısından tarandı. Ayrıca lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak SOD ve CAT aktiviteleri ile MDA düzeyi araştırıldı. Bu çalışmada CuCl_2 maruziyetinin tek başına incelenen tüm parametreler üzerinde kesin bir olumsuz etkiyi tetiklediği bulunmuştur. Diğer yandan, resveratrol uygulanan gruplar kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı değerlere sahip olmamıştır. Resveratrol dozları, CuCl_2 ile uygulandığında çimlenme yüzdesi, kök uzaması ve toplam soğan ağırlığı artışı gibi büyüme parametrelerinde dikkate değer bir iyileşme sağlamıştır. Bu gruplarda, MN sıklığı, kromozomal aberasyonlar ve anatomik anormallikler hafiflerken, MI seviyeleri önemli ölçüde arttı. Ayrıca, resveratrol ve CuCl_2 birlikte uygulandığında lipid peroksidasyon seviyesi ve antioksidan enzim aktiviteleri belirgin bir iyileşme göstermiştir. Bakır bileşikleri, tarımsal alanlarda doğrudan pestisit olarak kullanılmaları ve endüstriyel alanlardan doğal alanlara yayılmaları nedeniyle yaygın kirleticiler haline gelmiştir. Çalışma, resveratrolün *Allium* köklerinde CuCl_2 maruziyetinin zararlı etkilerine karşı terapötik potansiyelini açıkça göstermiştir. Bu nedenle resveratrol, diğer bakır bileşiklerinden kaynaklanan risklerin azaltılması için bitki kaynaklı bir restoratif ajan olarak düşünülebileceği önerilmiştir (Macar vd., 2020).

Benzer bir başka çalışmada, 20 μM bakır (II) klorürün (CuCl_2) *A. cepa* L üzerinde oluşturduğu toksisiteye karşı 50 mg/L ve 100 mg/L dozlarında antosiyanince zengin yaban mersini özütlerinin (ABE) koruyucu etkileri araştırılmıştır. Ağırlık artışı, çimlenme yüzdesi ve kök uzamasındaki değişimler fizyolojik parametreler olarak değerlendirilirken,

sitogenetik parametreler olarak mikronükleus (MN), mitotik indeks (MI) ve kromozomal anormallik (CA) sıklığı incelenmiştir. MDA miktarı, SOD aktivitesi ve CAT aktivitesi gibi oksidatif stres göstergeleri analiz edilmiş ve ayrıca kök ucu meristem hücrelerinde meydana gelen hasarlar kesitlerle belirlenmiştir. Sonuç olarak, CuCl₂ uygulaması ile çimlenme yüzdesi, ağırlık artışı, kök uzunluğu ve MI'nın azaldığı, MN ve CA sıklığının arttığı tespit edilmiştir. CuCl₂ maruziyeti, SOD ve CAT aktivitelerinde ve MDA seviyelerinde önemli bir artışa neden olmuştur. CuCl₂ uygulanmış köklerin enine kesitlerinde bir dizi anatomik anormallik ve hasar tespit edilmiştir. Öte yandan, ABE uygulamaları, özellikle tüm Cu kaynaklı hasarları doza bağlı bir şekilde iyileştirmiştir. Bu nedenle, ABE'nin Cu kaynaklı toksisiteye karşı güçlü koruyucu potansiyeli bir çalışmayla kanıtlanmıştır (Macar vd. 2020).

Jaboticaba Plinia peruviana (Poir.) Govaerts, zararlı ajanların sitotoksik ve genotoksik etkilerini önlemede önemli bir rol oynayabilecek yüksek düzeyde polifenoller içeren bir Brezilya meyvesidir. Bakır, organizmalarda önemli bir rol oynayan temel bir mikro besin olmasına rağmen, yüksek bakır konsantrasyonları hayvanlar ve bitkiler için toksisiteyi tetikleyebilir. *Plinia peruviana* hidroalkolik özütünün *A. cepa* L kök hücrelerinde Cu kaynaklı sitotoksisiteyi önleyip önlemediğinin araştırıldığı çalışmada *P. peruviana* ekstraktında beş farklı antosiyanin ve fenolik bileşik tanımlanmıştır. Daha da önemlisi, 24 saat boyunca 1,53 mg/L bakıra maruz kalma mitotik indeksi bozmuş, ayrıca mitoz bozukluklarını artırmış ve DNA hasarını tetiklemiştir. *P. peruviana* ekstresi (0,25 g/L ve 0,75 g/L) ile 3 saat ön inkübasyon, mitotik indekste bakır kaynaklı değişiklikleri önledi ve anormal hücre sayısını azaltmıştır. Sonuç olarak, *P. peruviana* kabuğu ekstraktının, bakırın neden olduğu hücresel ve genetik bozukluklara karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (Francescon vd., 2018).

Çevre kirliliği canlı organizmalar ve çevre için endişe verici bir konu olduğundan, kimyasalların zararlı etkilerini tespit etmek için biyoindikatörler kullanılmaktadır. Bu çalışmada *A. cepa* L bitkisi, meristematik hücrelerin büyüme noktalarında kromozomal anormalliklere neden olan ağır metallerin (Cd, Zn, Cu, Pb), kirli suyun ve bir koruyucunun (sodyum benzoat) toksisitesini saptamak için biyoindikatör olarak kullanılmıştır. Ağır metallerin ve koruyucunun, kromozomal dağılımı, yapışkan kromozom, halka kromozomu, kromozomal fragmanlar, gecikmeli kromozom, multipolar kromozom ve c-mitozu,

kromozom köprüsü ve sentromer kırılması gibi çeşitli kromozomal anormalliklere neden olduğu gözlemlenmiştir. Mitotik indeksin azalması, buna bağlı olarak bölünme ortalamasında bir düşüşün göstergesidir ve hücre bölünmesi yolunda en etkiliden en az etkiliye doğru bir bozukluğa işaret eder: sodyum benzoat > Cu > Pb > kirli su > Zn >Cd (Nafaea ve Khalil, 2022).

Bu tez çalışmasının amacı ağır metallere arındırılmış suların kullanılabilirliği ve canlılar üzerindeki etkisinin araştırılma tezin önemini ortaya koymaktadır. Bu tez çalışmasında *L. minor*'un ağır metal toleransı ile ilgili tolerans mekanizmasının anlaşılmasına ve fitoremediasyon tekniği ile ağır metalden arınmış suların kullanılabilirliği hakkında bilgi sağlayacaktır. Literatürde fitoremediasyon ile Cu'dan arındırılmış suyun biyolojik olarak mitozu nasıl etkilediğine dair karşılaştırmalı bir çalışma bulunmayışı tezin önemine işaret etmektedir.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Araştırmanın materyallerinden *L. minor* (su mercimeği) özel bir firmadan 12.08.2022’de satın alınmıştır. Satın alınana su mercimekleri hemen Hoagland (Arnon ve Hoagland, 1940) besin solüsyonu içeren 1 litre hacimli cam fanuslarda uzun gün koşullarında 10 günlük alışma sürecine alındılar. Mitotik indeks için kullanılacak olan mutfak soğanları (*A. cepa* L.) ise marketten satın alınmışlardır. Uygulamada aynı boyuttaki soğanların dış kabukları ve eski kök uçları temizlenerek kullanılmışlardır.

L. minor su üzerinde serbest yüzen bir makrofit olup tomurcuklanma ile ürerler, dairesel yapraklıdırlar ve her yaprağında kökleri bulunur. Gövde yapıları küçük ve yapraksı yapıdan oluşan, suya yarı batık olarak veya su yüzeyinde serbest olarak bulunabilmektedirler. Çiçek, torba şeklinde bir hazne içerisinde bulunup bir dişi ve iki erkek çiçekten oluşmaktadır. Meyve torbacık şeklindedir ve bir tohum taşımaktadır. Kök uzunluğu 14 cm’ye kadar ulaşabilmektedir. Çoğalma hızı çok yüksektir (Saygıdeğer 1996; Akel, 2006; Yetik, 2008). Büyümesi ve gelişmesi durgun sularda olur. Buldukları bölgede hızlı üreyen ve baskın duruma geçen bir bitkidir (Akel, 2006). *L. minor* bitkisi daha çok oksijen seviyesi yüksek olan yerlerde yaşamayı severler. Nisan-Ekim aylarında gelişim gösterirler. Sıcak mevsimler en hızlı gelişme zamanlarıdır. Temmuz-Ağustos aylarında tüm bir gölün üzerini yeşil bir tabaka ile kaplayabilirler (Şaşmaz, 2014).

L. minor uygun ortam olmayan şartlarda uyku haline geçer ve su altına çekilir. Uygun şartlar sağlanana kadar tomurcuk veya tohum halinde kalır (Topal vd., 2011). Su mercimeğinin ve mutfak soğanının taksonomik durumu Tablo 2’de verilmiştir.

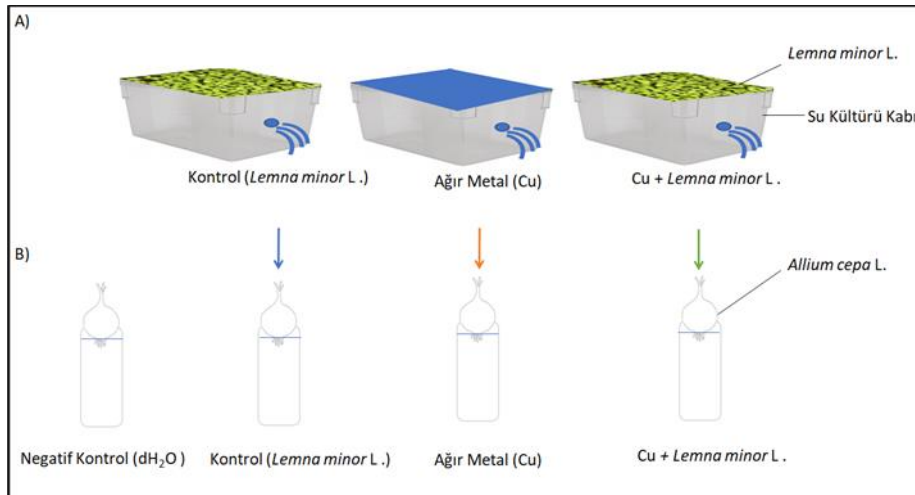
Tablo 2

Su mercimeğinin ve mutfak soğanının taksonomisi (INPN, 2023)

	Su Mercimeği	Mutfak Soğanı
Domaine	<i>Eucarya</i>	<i>Eucarya</i>
Alem	<i>Plantae</i>	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Equisetopsida</i>	<i>Equisetopsida</i>
Alt sınıf	<i>Magnoliidae</i>	<i>Magnoliidae</i>
Takım	<i>Alismatales</i>	<i>Asparagales</i>
Familiya	<i>Araceae</i>	<i>Amaryllidaceae</i>
Alt familiya	<i>Lemnoideae</i>	<i>Allioideae</i>
Cins	<i>Lemna</i>	<i>Allium</i>
Tür	<i>L. minor</i>	<i>A. cepa</i>

3.2. Ağır Metal Uygulaması

Ticari bir firmadan satın alınan *L. minor* su kültürü yöntemiyle ile su kültürü kaplarında uzun gün fotoperiyodunda (gündüz/gece; 16/8 saat) bitki büyütme odasında Şekil 2’de verilen deneme desenine uygun şekilde üç tekrarlı olarak yetiştirilmişlerdir. *L. minor* yetiştirilen su kültürü kabında gerçekleştirilen Cu uygulaması literatürde önerilen konsantrasyonlar dikkate alınarak ön deneme ile belirlenmiştir. Buna göre 10 mg L^{-1} CuSO_4 uygulama konsantrasyonu olarak kullanılmıştır (Hou vd., 2007).



Şekil 2. Ağır metal uygulamasının deneme deseni (A: Su mercimeği bitkilerinin kontrol ve Cu uygulanmış suda yetiştirilmesi B: Bakır toksisitesi fitoremediasyonu öncesi ve sonrasındaki suyun soğan kök ucu hücrelerinde mitotik aktivitenin belirlenmesi).



Şekil 3. Denem deseni A ve B'nin uygulanışı.

3.3. Biyokimyasal Parametreler

Analizlerde yapılan spektrofotometrik ölçümlerde Thermo Scientific Genesys 10SUV-Vis Spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Soğan kök ucu hücrelerinin mitotik incelenmesinde ZEISS Primo Star Işık mikroskobu ile inceleme yapılmıştır.

3.3.1. Pigment Analizi

Bitki dokularının pigment analizi Arnon (1949) yöntemine göre belirlenmiştir. 1gr'lık bitki materyali 10 ml aseton (%80) ile birlikte porselen havan içerisinde homojenize edilmiştir. Elde edilen özüt filtre kağıdı yardımıyla süzülmüştür. Son hacim başta ilave edilen aseton miktarına tamamlanmıştır. Bitki özütleri spektrofotometrede 663, 645 ve 480 nm'de okunarak mg g^{-1} pigment miktarları denklem (3.1) ile hesaplanmıştır.

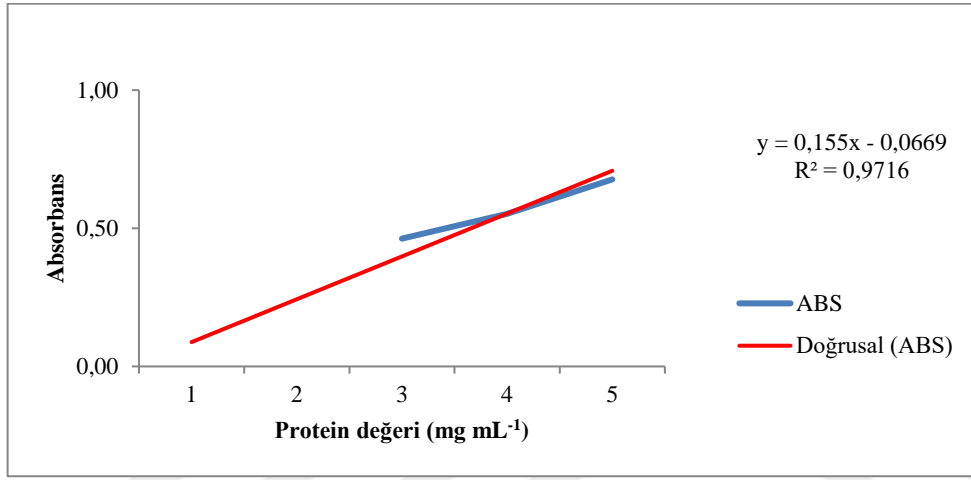
$$\text{Klorofil-a (Kl-a)} = (A_{663} \times 12.70) - (A_{645} \times 2.69) \times 10/\text{mg} \quad (3.1)$$

$$\text{Klorofil-b (Kl-b)} = (A_{645} \times 22.90) - (A_{663} \times 4.68) \times 10/\text{mg}$$

$$\text{Karotenoid (Kar)} = ((A_{480} + (A_{663} \times 0.114) - (A_{645} \times 0.638))/112.5) \times 10/\text{mg}$$

3.3.2. Protein Analizi

Toplam protein miktarını belirlemeden önce, 0,01– 0,10 mg mL⁻¹ aralığında protein standartı hazırlanmıştır (Bradford, 1976). Bu işlem için içerisinde Bovine Serum Albumin (BSA), sodyum fosfat tamponu (pH 7,8), Coomassie Brilliant Blue G 250 (CBS), etanol, ortofosforik asit reaktif hazırlanmıştır. Spektrofotometrede 595 nm’de köre karşı absorpsanları kaydedildikten sonra protein standart grafiği eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 4).



Şekil 4. BSA standart protein eğrisi (mg mL⁻¹)

Bitki dokularının toplam protein içeriği ise Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiştir. Dokular 1 mM EDTA içeren 3ml 0,05 M sodyum fosfat tamponunda (pH 7,8) homojenize edilmiştir. Özütler +4°C’ de 13000 rpm’ de 30 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı protein analizinde kullanılmıştır. 100 µl süpernatant ve 5 mL reaktif vortekste karıştırıldıktan sonra 5 - 60 dk içinde 595 nm’de spektrofotometrede köre karşı okunmuştur.

3.3.3. Peroksidaz Aktivitesi Tayini (POX; EC 1.11.1.7)

Kanner ve Kinsella (1983)’nin metoduna göre 2mL 0,05 M (pH 6,5) sodyum asetat tamponu ile doku örnekleri homojenize edilmiştir. 0,05 M (pH 6,5) sodyum asetat tamponu, 0,1M pyrogallol, 0,09M H₂O₂ çözeltileri kullanılarak örneklerin POX enzim aktivitesi 300 nm’de 120 sn süreyle spektrofotometrede ölçüm yapılarak belirlenmiştir.

3.3.4. Lipit Peroksidasyon Miktarı (TBARS)

%0,1'lik trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi ile homojenize edilip santrifüjlenen bitki örneklerinden elde edilen süpernatanta TCA ve tiobarbitürik asit (TBA) içeren reaksiyon karışımı eklenmiştir. Bu örnekler sıcak su banyosunda bekletildikten sonra buz banyosunda soğutulmuş ve örnekler ependorf tüplerine aktarılıp tekrar santrifüjlenmiştir. Süpernatantlar 532 – 660 nm aralığında ölçülerek hesaplanmıştır (Madhava Rao ve Stresty, 2000).

3.4. Mitotik İndeks

Bakır toksisitesinin tespiti için *A. cepa* L. (*Mutfak soğanı*) kök ucu testi kullanılmıştır (Şekil 5). Bu amaçla, Şekil 2'deki deneme desenine uygun olarak, 4 grubun deneme sonunda elde edilen sularında (dH₂O, *L. minor*, Cu ve *L. minor*+Cu) mutfak soğanları 10 gün boyunca 4 tekrarlı olarak köklenmeye bırakılmışlardır (Şekil 3). Kök uçları 10.gün sonunda Farmer çözeltisi içeren şişelere alınarak fikse edilmişlerdir. Kök uçlarından mitoz preparatının hazırlanması için hidroliz yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, fikse edilmiş kök uçları 1N HCl içeren kap içerisine alınarak 60°C'de 10 dk boyunca su banyosunda bekletilmişlerdir. Süre sonunda saf su ile yıkanan kök uçları asetokarmin ile boyanarak preparat hazırlanmıştır. Mitotik indeks bu preparatlarda, her tekrarda, 1000 hücre olmak üzere 3 tekrarlı sayım yapılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar mitotik indeks tablosuna işlenmiştir (Şık vd., 2009).

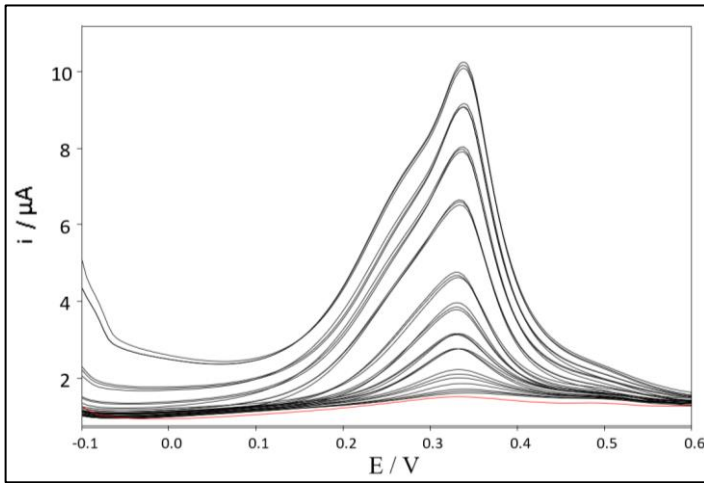
$$\text{Mitotik indeks (\%)} = (\text{Bölünen hücre sayısı} / \text{Toplam hücre sayısı}) \times 100$$



Şekil 5. *Allium cepa* kök ucundaki mitoz bölünme indekslerinin kontrol, kontrol+*L.minor*, Cu, Cu+*L.minor* sulardaki gelişimi.

3.5. Cu Tayini

Denemeden elde edilen su örneklerindeki Cu miktarının analizi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Kimya Bölümü Elektroanalitik Araştırma Laboratuvarı'nda Bruttel ve Seifert (2007)'ye göre gerçekleştirilmiştir. Cu miktarı, kalibrasyon eğrisinden hesaplanmıştır (Şekil 6).



Şekil 6. Cu kalibrasyon eğrisi.

Buna göre, Cu analizinde altın çalışma elektrotlu, Ag/AgCl referans elektrotlu ve Pt karşı elektrotlu Metrohm 757 VA Computrace cihazı kullanılmıştır. Destekleyici elektrolit; ultra saf suda $\text{CKCl} = 0,3 \text{ mol L}^{-1} + \text{CHCl} = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ 'dir. Kalibrasyon standart çözümü CuSO_4 ile gerçekleştirilmiştir. Ölçüm kabına 10 mL numune ve 2 mL destek elektroliti eklenmiştir. Karışım aşağıdaki koşullara uygun voltamogramda incelenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3

Cu örneklerinin analizinde kullanılan voltamogram.

Çalışma Elektrodu	scTRACE Altın
Mod	DP – Diferansiyel Titreşim
Biriktirme süresi	30 s
Biriktirme potansiyeli	-0.3 V
Başlangıç potansiyeli	-0.1 V
Son potansiyel	0.6 V
Tepe potansiyeli yaklaşık Cu	0.33 V

*Numunedeki konsantrasyon, iki standart ilave yoluyla belirlendi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Bu çalışma, tesadüfi parsellere bölünmüş deneme desenine göre 3 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Tez kapsamında biyokimyasal analiz verileri SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 27 istatistik paket programında T-testi (Independent Sample T-Test) ile yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi $P \leq 0.05$ standart sapma hesaplanarak grafiklere eklenmiştir.

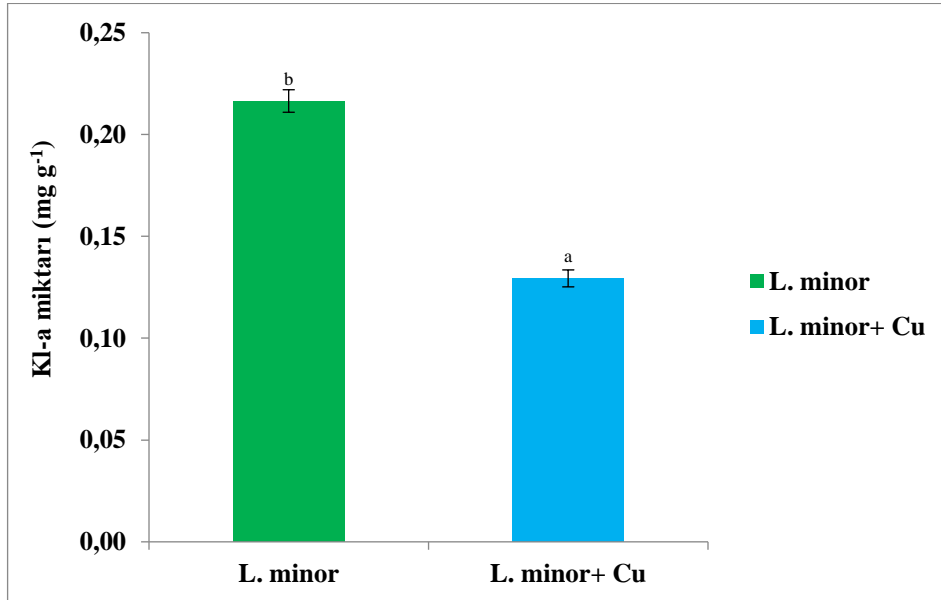
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

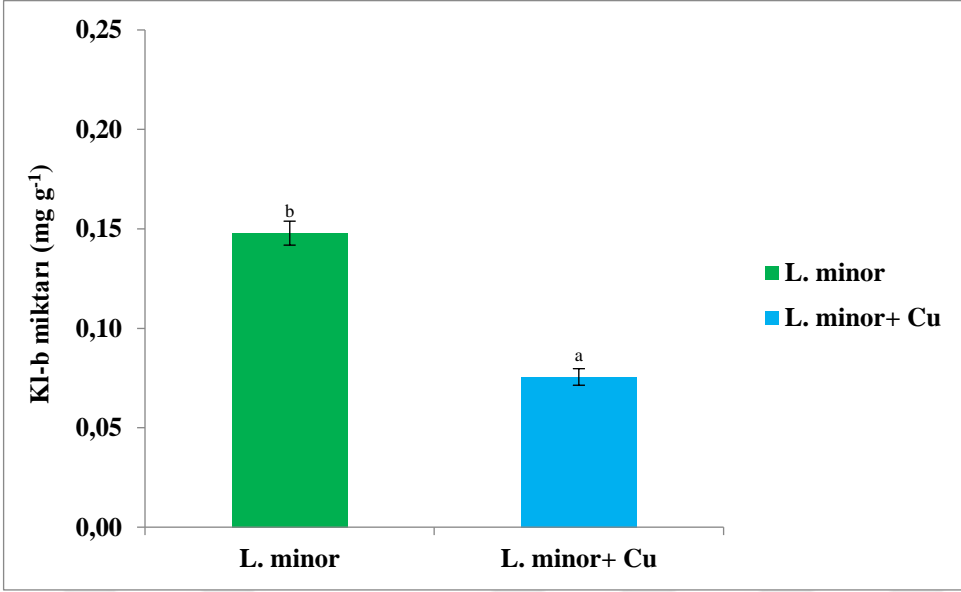
Bu çalışmada Cu kirliliğine sahip ortamdan ve *L. minor*'un kullanılmasıyla Cu'nun tüketildiği ortamdan elde edilen suların kontrole (dH₂O) kıyasla durumu fizyolojik parametreler çerçevesinde incelenmiştir. Ayrıca, *L. minor*'un tolerans mekanizmasının anlaşılmasında antioksidan aktivitenin durumu da kısmen araştırılmıştır. Ek olarak, elde edilen fitoremediasyon suyunun mitotik aktiviteye etkisi karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir.

4.1. Pigment Analizi

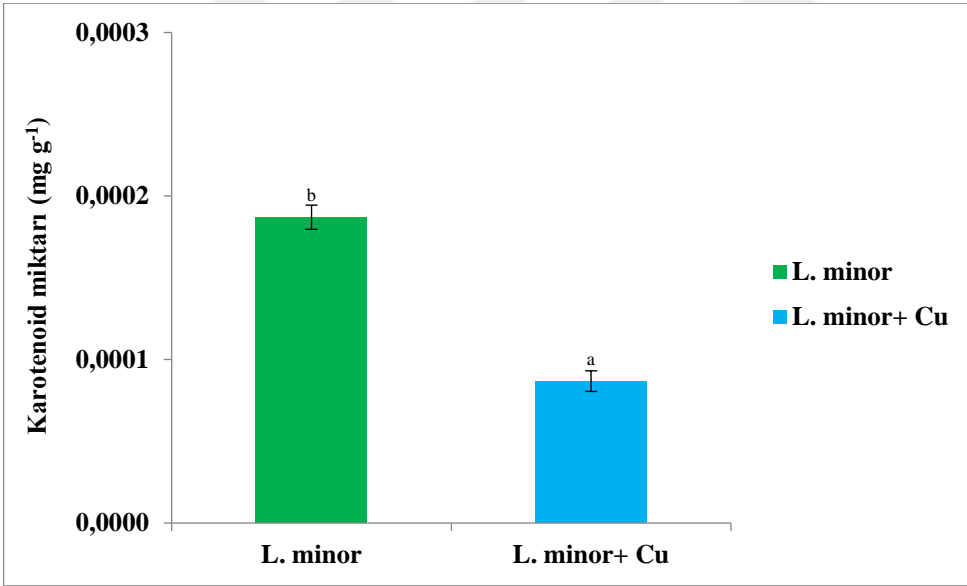
Kontrol grubuna kıyasla 10 mg L⁻¹ Cu içeren ortamda tüm pigment içerikleri anlamlı şekilde azalmıştır. Bu azamalar Kl-a, Kl-b ve Karotenoid için sırasıyla %40, %49 ve %50 olarak belirlenmiştir (Şekil 7,8,9).



Şekil 7. *L. minor*' da bakır uygulamasının Kl-a miktarına etkisi.



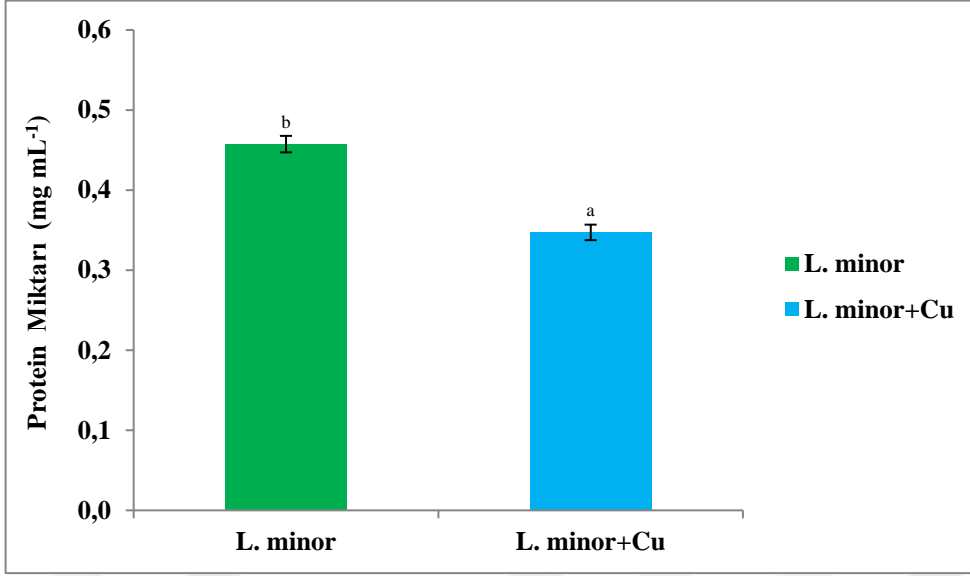
Şekil 8. *L. minor*' da bakır uygulamasının KI-b miktarına etkisi.



Şekil 9. *L. minor*' da bakır uygulamasının karotenoid miktarına etkisi.

4.2. Protein Analizi

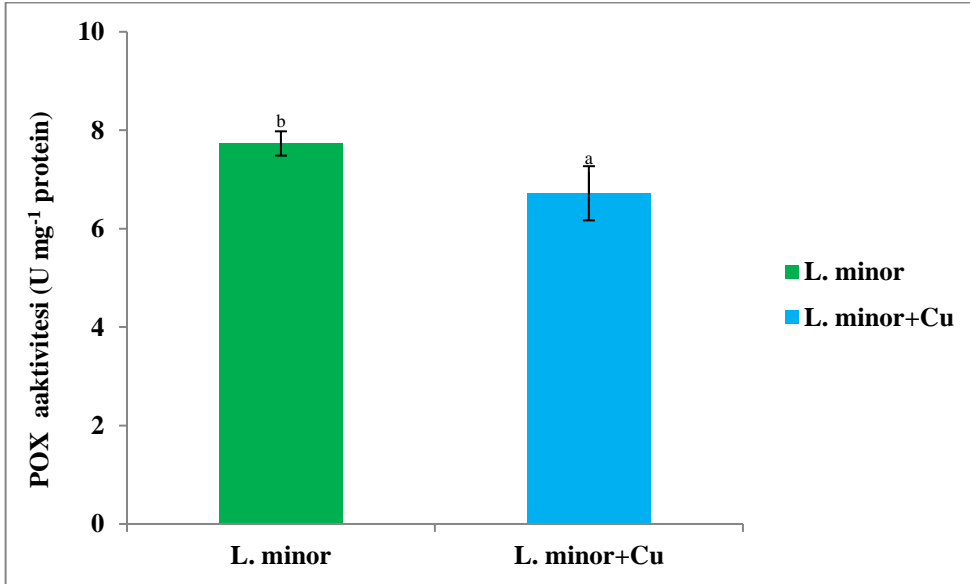
Kontrol grubuna kıyasla 10 mg L⁻¹ Cu içeren ortamda protein içeriği anlamlı şekilde %24 azalmıştır (Şekil 10).



Şekil 10. *L. minor*' da bakır uygulamasının protein miktarına etkisi.

4.3. POX Aktivitesi

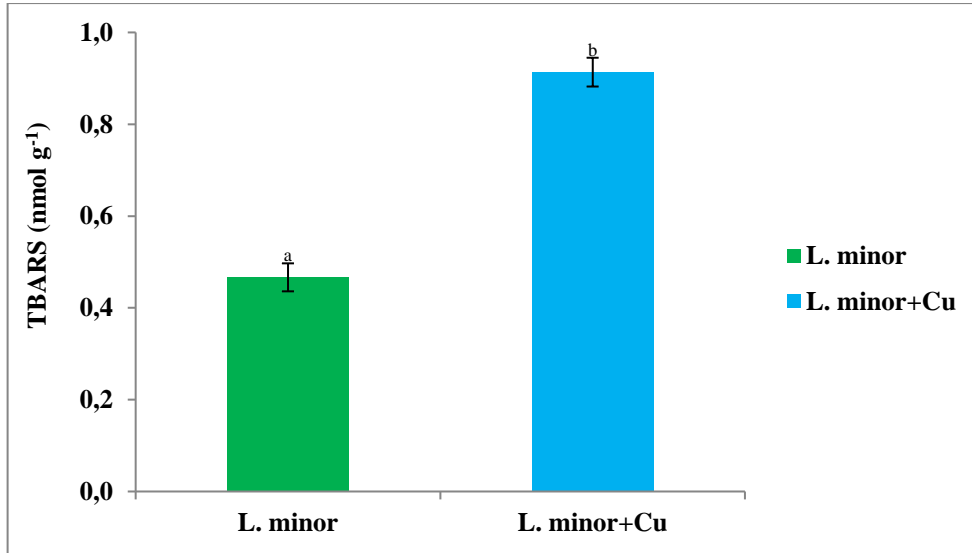
Kontrol grubuna kıyasla 10 mg L⁻¹ Cu içeren ortamda *L. minor*'un POX aktivitesi anlamlı şekilde %13 azalmıştır (Şekil 11).



Şekil 11. *L. minor*' da bakır uygulamasının POX aktivitesine etkisi.

4.4. Lipit Peroksidasyon Miktarı

Kontrol grubuna kıyasla 10 mg L⁻¹ Cu içeren ortamda *L. minor*'da lipit peroksidasyon (TBARS) miktarı anlamlı şekilde %95 artmıştır (Şekil 12).



Şekil 12. *L. minor*' da bakır uygulamasının lipit peroksidasyona (TBARS) etkisi.

4.5. Mitotik İndeks

Mitotik indekste (Tablo 4) profaz safhasında Cu+*L.minor* %60 ile en yüksek orana sahip bulunmuştur, kontrole kıyasla %4 fazladır. Metafaz safhasında ise en yüksek aktivite hem Cu+*L.minor* hem de *Lemna* kontrol grubunda %2,8 olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde anafazda en yüksek indeks kontrolde %2,69 iken en düşük %0,9 ile Cu içeren ortamda bulunmuştur. Bununla birlikte Cu+*L.minor* ve *Lemna* kontrol grubunda anafaz %1,98 olarak belirlenmiştir. Telofaz safhası mitotik indekste en yüksek *L.minor* kontrol grubunda bulunurken Cu+*L.minor* de kontrole kıyasla %30 daha fazla telofaz gerçekleştiği saptanmıştır. Sonuç olarak, mitotik indeks kontrol, *L.minor*, Cu ve *L.minor*+Cu içeren ortamlarda sırasıyla% 85, %88, %73 ve %86 olarak belirlenmiştir. Buna göre, kontrole kıyasla Cu içeren ortamda mitotik indeks %12 azalırken, *L.minor*+Cu içeren ortamda tekrar kontrol seviyesine geldiği belirlenmiştir.

Mitotik indeksin belirlenmesi sırasında çeşitli mitotik anomaliler gözlenmiştir (Tablo 5). Özellikle metafaz safhasında Cu içeren ortamda anomali gösteren hücrelerin toplam hücrelere oranı %0,66 iken Cu + *L.minor*'da %0,18 bulunmuştur. Anafaz safhasında ise Cu içeren ortamda % 1,15 olarak artarken Cu + *L.minor* grubunda %0,72 azalmıştır (Şekil 13).

Tablo 4

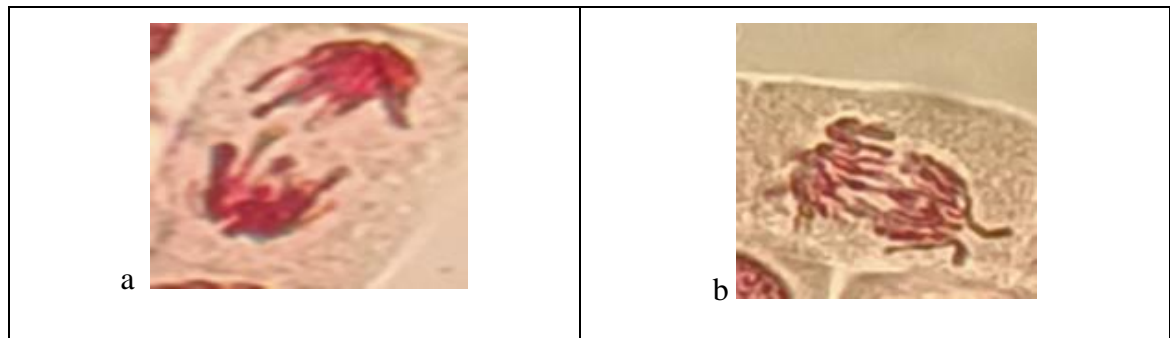
Mitotik indeks sonuçları

Hücre Bölünme Evreleri	Kontrol Hoagland	Kontrol <i>Lemna</i>	Cu	Cu+ <i>Lemna</i>
İnterfaz	36,04	48,01	30,32	40,32
Profaz	56,63	44,49	49,68	60,65
Metafaz	2,34	2,8	2,16	2,79
Anafaz	2,69	1,98	0,90	1,98
Telofaz	5,53	7,22	6,93	6,71
TOPLAM (%)	85	88	73	86

Tablo 5

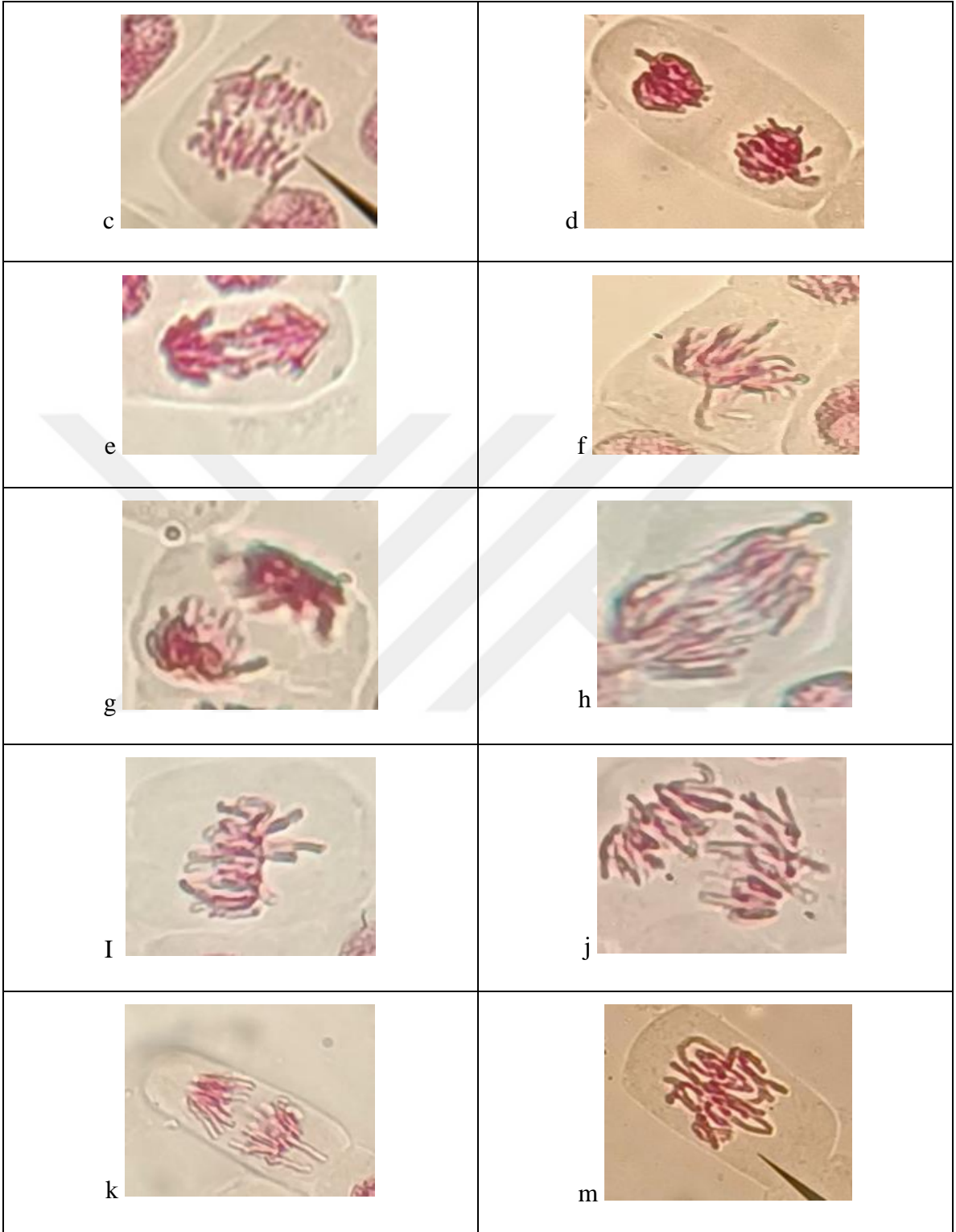
Anomali görülen hücre bölünme evreleri

Anomali Görülen Hücre Bölünme Evreleri	Cu	Cu+ <i>Lemna</i>
Metafaz	% 0,66	% 0,18
Anafaz	% 1,15	% 0,72



Şekil 13. Cu içeren suda gelişen soğan kök ucu mitozunda belirlenen bazı anomaliler (a: Mikronukleus, b: Anafazda köprü ve kalgın kromozom).

Şekil 13' ün devamı



Şekil 13. Cu içeren suda gelişen soğan kök ucu mitozunda belirlenen bazı anomaliler (c-h : Anafazda köprü ve kalgın kromozom d: Kalgın kromozom e: Anafazda köprü f: Metafazda düzensiz dağılım g: Anafazda yanlış kutuplaşma ı: Metafazda tabla kayması j: Anafazda düzensiz dağılım k: Anafazda kalgın kromozom m: Metafazda yapışıklık).

4.6. Su Örneklerinde Cu Metal Miktarı

Deneme desenine uygun olarak elde edilen dört grubun Cu içeriğine ait sonuçlar Tablo 6'da verilmiştir. Buna göre sadece Hoagland besin solüsyonu içeren kontrol grubunda Cu miktarı 0.08 mg L^{-1} olarak belirlenmiştir. *L. minor* içeren kontrol ortamında ise Cu miktarı azalmış ve 0.06 mg L^{-1} olarak saptanmıştır. Bakır içeren ortam $10,00 \text{ mg L}^{-1}$ ile en yüksek miktara sahip bulunmuştur. Cu içeren ortama eklenen *L. minor*'un ise bu miktarı 0.09 mg L^{-1} 'ye indirdiği ve bakır içeren ortamdaki bakır miktarını %99,5 azalttığı belirlenmiştir.

Tablo 6

Deneme sonunda elde edilen örnek sularındaki Cu miktarları.

Örnek:	$C_{Cu} \pm 0,005^*$ (mg L^{-1})
Kontrol	0,08
Kontrol+ <i>L. minor</i>	0,06
Cu+ <i>L. minor</i>	0,09
Cu	10,00

*Standard sapma

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Ağır metaller bitkilerin ekosistemlerinde metal stresine neden olurlar. Diğer yandan, ağır metallerin varlığı sucul ortamda kirliliğe de yol açmaktadır (Ustaoğlu vd., 2016). Cu bir geçiş metalidir. Galvaniz kaplama, cam imalatı, elektrikli ve elektronik cihazlar, metal endüstrisi, seramik, boru alt yapısı, sıhhi tesisat faaliyetleri (Ali vd., 2016), tekstil ve deri endüstrisi (Farid vd., 2022) ile tarımda kullanılan Cu içerikli pestisitler iyi bilinen Cu kaynaklarıdır. Cu bitkilerin büyüme ve gelişimi için gerekli bir elementtir ve eksikliğinde büyüme engellenir. (Ali vd., 2016). Ancak sucul ortamda yüksek Cu birikimi birçok bitki için toksik etkiye sahiptir.

Bu tez çalışmasında *L.minor*'un Cu içeren sudaki fitoremediasyon yeteneği ile biyokimyasal yanıtları (pigment içeriği, POX aktivitesi, protein miktarında meydana gelen değişimler) araştırılmıştır. Ayrıca fitoremediasyon suda ile yüksek konsantrasyonda Cu içeren suda köklendirilen *A. cepa* bitkilerinin kök ucu mitozunda meydana gelen etkiler belirlenmiştir.

Cu kirliliğinin fitoremediasyon ile temizlenmesine ilişkin araştırmalar *L.minor*'un etkili bir Cu biriktiricisi olduğuna işaret etmektedir. Buna göre, *L. minor* sudaki Cu miktarının % 91-99'unu biriktirebilmektedir (Üçüncü vd., 2013; Daud vd., 2018).

Ayrıca *L.minor*'un 0,25, 0,5 ve 1,0 mg L⁻¹ Cu maruz kaldığında maksimum uzaklaştırma etkinliğinin 5 gün sonra sırasıyla %34, %52 ve %74 olduğu rapor edilmiştir (Al-Baldawi 2022). Sonuçlarımız 10 mg L⁻¹ CuSO₄ ün %90'ının sudan *L. minor* aracılı temizlendiğini göstermiştir ve literatür verileriyle uyumludur (Hou, vd. 2007).

Yüksek bitkilerin fotosentetik faaliyetlerinin en önemli bileşenleri klorofil a, klorofil b ve karotenoid gibi pigmentlerdir. Ağır metal stresi bitkilerde kloroza ve nekroza sebep olur ve bitkide biyokütleyi, fotosentetik hızı azaltarak büyümeyi inhibe eder (Sevgi ve Leblebici, 2022). Benzer şekilde *L. gibba*' da artan Cu konsantrasyonlarında klorofil miktarlarında azalma rapor edilmiştir (Megateli, vd., 2009). Araştırma sonuçlarımız CuSO₄ uygulamasıyla *L. minor*' ün Kl-a, karotenoid miktarının kontrole kıyasla sırasıyla %40, %49 ve %50 azaldığını göstermiştir. Pigment miktarının azalması, kloroz ile düşük fotosentetik etkinlik beraberinde ROT üretiminin kloroplastlarda tillakoid sistemdeki düzensizlikler ile antioksidan savunma sisteminin uyarılmasına neden olur (Ali vd., 2016). Bu bağlamda, ağır metal stresinin ROT miktarında ve lipid peroksidasyonda artışa neden olduğu iyi bilinmektedir (Hou vd., 2007; Radic vd., 2010; Farid vd., 2022; Sevgi ve Leblebici, 2022). Sonuçlarımıza göre CuSO₄ POX aktivitesini kontrole kıyasla %13 azaltırken, lipid peroksidasyonu iki kat artırmıştır. Buna göre CuSO₄ kaynaklı ağır metal stresi *L. minor*' de oksidatif strese neden olmuştur. *L. minor*' ün yüksek metal tutma kapasitesine sebep olduğu (Ustaoglu vd., 2016) ve Cu toksitesinin (10 mg L⁻¹) *L. minor*' un antioksidan sistemini parçalayabileceği (Hou vd., 2007) rapor edilmiştir. Yüksek metal stresinin hücrenin farklı bölgelerinde lokalize olan antioksidan enzimlerinin inhibisyonuna neden olurken (Hou vd., 2007) dereden toplanan *L. minor* örneklerinde POX ve lipid peroksidasyon miktarının arttığının gösterilmesi (Radic vd., 2010) *L. minor*' de antioksidan savunma sisteminin kontrollü laboratuvar koşulları ile alan çalışmaları sırasında farklı sonuçlar verebileceğini göstermektedir. 10 mg⁻¹ konsantrasyonundan düşük miktardaki Cu varlığının *L. minor*' un ağır metal stresini tolere ettiği bildirilmiştir (Hou vd., 2007). Bu bağlamda, antioksidan kapasitenin tamamı olmasa da sadece POX aktivitesindeki azalma ile lipid peroksidasyondaki artış literatür bilgisi ile uyumludur. Bununla birlikte antioksidan enzimlerinin tamamının çalışması buradaki mekanizmanın anlaşılması için daha aydınlatıcı olabilecektir. Bunun başka nedeni yüksek metal stresi ile hücresel sistem fonksiyonlarının bozulması olabilir. (Hou vd., 2007).

CuSO₄ içeren ve fitoremediasyon ile elde edilen suların *A. cepa* kök ucu mitotik aktivitesine etkisine ilişkin sonuçlar, Cu toksitesinin mitotik indeksi anlamlı şekilde azalttığını göstermiştir. Diğer yandan, *L. minor* varlığında fitoremediasyon ile elde edilen suyun kontrol bitkilerle aynı seviyede mitotik indekse sahip bulunmuştur. Araştırmamızda

L.minor'un içerdiği Cu miktarı ölçülmemiştir, ancak literatürde bu bitkinin etkili fitoremediasyon ile belli bir konsantrasyonun altındaki (10 mg L^{-1}) Cu toksisitesini tolere ettiğini (Hou vd., 2007) ve bunu Cu biriktirerek yaptığı açıkça gösterilmiştir.(Al Bodowi vd., 2022).Ek olarak araştırmamızda *L. minor* + Cu grubunda Cu %90 azaldığı da gösterilmiştir. Buna göre, *L. minor* Cu biriktirme yoluyla suyun Cu miktarını azalmıştır. Böylece mitotik indekste, Cu içeren suya kıyasla bir iyileşme belirlenmiştir. Benzer durum mitotik anomaliler için de saptanmıştır. Mitotik indeksten iyileşme beraberinde azalan mitotik anomaliler belirlenmiştir.

Bir sulak alan ekosisteminde bir ağır metal kontaminasyonunda en yüksek mitotik inhibisyonun Pb^{+2} ile ortaya çıktığı Cu^{+2} 'nin en düşük mitotik inhibisyona olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada mutajenik potansiyel, hücre apoptozu ve nekroz insidansı ile değerlendiren sitotoksitede Cu^{+2} 'nin Pb^{+2} 'dan sonra 3.sırada yer aldığı rapor edilmiştir. (Jayawardena vd., 2021). Cu toksitesine karşı risklerin azaltılması için resrevatoral (Macar vd., 2020), yaban mersini özütleri (Macar vd. 2020), *Pilina peruviana* kabuğu ekstraktı (Francescon vd., 2018) sodyum benzoat (Nafea vd., 2022) ve bazı farmasötik atık maddelerin (*Ciprofloxacin*, *Arthemetrin*, *Pseudophedrin*) mitotik indeks üzerine retroaktif bir ajan olarak olumlu etkileri rapor edilmiştir.

Fitoremediasyon, düşük maliyeti çevre dostu bir biyoteknolojidir. (Al-Badowi, 2022). Biyoremediasyon ise biyolojik birikim, biyosorpsiyon ve fitoremediasyonu içeren tehlikeli maddeleri daha az toksik veya toksik olmayan maddelere ayırmak için doğal organizmaları kullanan bir uygulamadır. Bu tez çalışmasında *L.minor*'un fitoremediasyon yeteneğiyle, Cu toksisitesinin azalmasına bağlı olarak biyokimyasal parametrelerdeki mitotik indekste gerilemenin iyileştiği gösterilmiştir (Kayıhan ve Kayıhan, 2019). Sonuç olarak, *L. minor* ile gerçekleştirilen biyoremediasyon Cu kaynaklı su kirliliğini azaltmıştır. Gelecekte, benzer çalışmaların daha geniş ölçekte diğer metaller içinde çalışmasının, ekosistemdeki kirliliği azaltmasına katkı sağlayacağı inancındayız. Ek olarak *L.minor*'un fitoremediasyon yeteneği ile Cu toksitesinin etkileri biyokimyasal ve moleküler parametreler ile daha ayrıntılı çalışarak ekosistemde var olan kirliliğin azaltılmasında katkı sağlayacaktır.

KAYNAKÇA

- Akel, E. (2006). Kırmızı yanaklı Singapur tatlı su kaplumbağalarının (*Pseudemys scripta elegans*) akvaryum ortamında su mercimeği (*Lemna minor* L.) ile beslenme imkanları üzerine mukayeseli araştırmalar. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.
- Al-Baldawi, I. A., Yasin, S. R., Jasim, S. S., Abdullah, S. R. S. ve Almansoori, A. F. (2022). "Removal of copper by *Azolla filiculoides* and *Lemna minor*: phytoremediation potential, adsorption kinetics and isotherms". *Heliyon*, 8(11).
- Ali, H., Khan, E. ve Sajad, M. A. (2013). "Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications". *Chemosphere*, 91(7), 869-881.
- Alvarado, S., Guedez, M., Lue-Meru, M. P., Nelson, G., Alvaro, A., Jesus, A. C. ve Gyula, Z. (2008). "Arsenic removal from waters by bioremediation with the aquatic plants Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Lesser Duckweed (*Lemna minor*)". *Bioresource technology*, 99(17), 8436-8440.
- Apel K. ve Hirt H. (2004) "Reactive oxygen species: metabolism oxidatives and signal transduction". *Annual Review of Plant Biology*, 55:373–399.
- Axtell, N. R., Sternberg, S. P. ve Claussen, K. (2003). "Lead and nickel removal using *Microspora* and *Lemna minor*". *Bioresource technology*, 89(1), 41-48.
- Aybar, M., Bilgin, A. ve Sağlam, B. (2015). "Fitoremediasyon yöntemi ile topraktaki ağır metallerin giderimi". *Doğal Afetler ve Çevre Dergisi*, 1(1-2), 59-65.
- Chowdhary, P., Singh, A., Chandra, R., Kumar, P. S., Raj, A. ve Bharagava, R. N. (2022). "Detection and identification of hazardous organic pollutants from distillery wastewater by GC-MS analysis and its phytotoxicity and genotoxicity evaluation by using *Allium cepa* and *Cicer arietinum* L." *Chemosphere*, 297 (2022): 134123.
- Daud, M. K., Ali, S., Abbas, Z., Zaheer, I. E., Riaz, M. A., Malik, A. ve Zhu, S. J. (2018). "Potential of duckweed (*Lemna minor*) for the phytoremediation of landfill leachate". *Journal of chemistry*, 1-9.
- Demirci, F. ve Dursun, H. Y. (2015). *Türkiye’de Tarım İlaçları Üretim ve Kullanımı*. Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongre Kitabı. Ankara, 1, 1069-1079.

- FAO, (2017). Ağır Mataller. Erişim Tarihi: 20 Temmuz 2023, <https://www.fao.org/3/i7754e/i7754e.pdf>.
- Farid, M., Sajjad, A., Asam, Z. U. Z., Zubair, M., Rizwan, M., Abbas, M. ve Alabdallah, N. M. (2022). "Phytoremediation of contaminated industrial wastewater by duckweed (*Lemna minor* L.): Growth and physiological response under acetic acid application". *Chemosphere*, 304, 135262.
- Franscescon, F., Mazon, S. C., Bertoncetto, K. T., Boligon, A. A., Sachett, A., Rambo, C. L. ve Siebel, A. M. (2018). "Protective role of jaboticaba *Plinia peruviana* peel extract in copper-induced cytotoxicity in *Allium cepa*". *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 35322-35329.
- Gallego, Jorge L., and Jesus Olivero-Verbel. "Cytogenetic toxicity from pesticide and trace element mixtures in soils used for conventional and organic crops of *Allium cepa* L." *Environmental Pollution*, 276 (2021): 116558.
- Gültekin M.H. ve Aki C. (2021). "Genotoxic Effects of Spirotetramat on *Allium cepa* L.". *International Journal of Scientific and Technological Research*, 7(6) 2422-8702.
- Güneş H. V. (2006). Moleküler Hücre Biyolojisi, Eskişehir, Kaan Kitapevi.
- Hasanuzzaman, M., Al Mahmud, J., Anee, T. I., Nahar, K. ve Islam, M. T. (2018). "Drought stress tolerance in wheat: omics approaches in understanding and enhancing antioxidant defense". In Abiotic stress-mediated sensing and signaling in plants: an omics perspective (pp. 267-307). *Springer*, Singapore.
- Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q. ve Chang, C. C. (2007). "Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*)". *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(1), 62-69.
- Hu, C., Liu, L., Li, X., Xu, Y., Ge, Z. ve Zhao, Y. (2018). "Effect of graphene oxide on copper stress in *Lemna minor* L.: evaluating growth, biochemical responses, and nutrient uptake". *Journal of Hazardous Materials*, 341, 168-176.
- İnaltun, H. (2024). Fen Bilgisi Öğretmen Adaylarının Fark Etme Becerilerinin İncelenmesi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, (69), 24-51.

- INPN, (2023). Su mercimeğinin ve mutfak soğanının taksonomisi. (Erişim tarihi: 20 Haziran 2023). https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/105431/tab/taxo.
- Jayawardena, U. A., Wickramasinghe, D. D. ve Udagama, P. V. (2021). "Cytogenotoxicity evaluation of a heavy metal mixture, detected in a polluted urban wetland: Micronucleus and comet induction in the Indian green frog (*Euphlyctis hexadactylus*) erythrocytes and the *Allium cepa* bioassay". *Chemosphere*, 277, 130278.
- Kacar, B. (2012). *Temel Bitki Besleme*. Nobel Yayınları, No:206, Ankara.
- Kaçar, B., Katkat, A.V., Öztürk, Ş., (2010). *Bitki Fizyolojisi* Nobel Yayın No: 848, Fen Bilimleri: 28, Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi Yayın No: 46.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal G., Güven A. ve Timur S. (2007). *Metallerin Çevresel Etkileri –I*. (Erişim tarihi: 13 Mayıs 2007). www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf.
- Kanner, J. ve Kinsella, J.E., (1983). "Lipid Deterioration Initiated By Phagocytic-Cells In:73 Muscle Foods-Beta-Carotene Destruction by A Myeloperoxidase Hydrogen Peroxide Halide System". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31: 370-376.
- Kayıhan, C. ve Kayıhan D. S. (2019). "Biyoremediasyon. (Ed. Özden Çiftçi Y. ve Altınkut Uncuoğlu A.). *Bitki Biyoteknolojisinde Güncel Yaklaşımlar* (s. 291-300). Ankara.
- Macar, O., Macar, T. K., Çavuşoğlu, K. ve Yalçın, E. (2020). "Protective effects of anthocyanin-rich bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract against copper (II) chloride toxicity". *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 1428-1435.
- Macar, T. K., Macar, O., Yalçın, E., & Çavuşoğlu, K. (2020). "Resveratrol ameliorates the physiological, biochemical, cytogenetic, and anatomical toxicities induced by copper (II) chloride exposure in *Allium cepa* L.". *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 657-667.
- Madhava, R. K. M. ve Sresty, T. V. S. (2000). Antioxidative parameters in the seedlings of pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses". *Plant Science*.157(1):113-128.
- Marschner, H. (1995). "Mineral nutrition of higher Plants". 2nd edition, (Marschner P. Eds.) Academic Press, London, UK.

- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C. ve Giovannini, C. (2005). "Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes". *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(10), 577-586.
- MEB, (2023). Hücre Döngüsü. (Erişim Tarihi: 05 Temmuz 2023). <https://webders.net/522/hucre-dongusu-siklusu.html>.
- Megateli, S., Semsari, S. ve Couderchet, M. (2009). "Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(6), 1774-1780.
- Mittler, R. (2002). "Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance". *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410.
- Muthukumar, M. (2022). "Aquatic plant remediation to control pollution". In *Biological Approaches to Controlling Pollutants* (pp. 365-397). Woodhead Publishing.
- Nafea, E. K. ve Khalil, M. I. (2022) "Studying the effect of heavy metals and the preservative at the cellular level using *Allium Cepa* L. as a bioindicator". *Journal of Health Sciences*, 6(S2), 11634-11643.
- Radic, S., Stipanicev, D., Cvjetko, P., Mikelic, I. L., Rajčić, M. M., Sirac, S. ve Pavlica, M. (2010). "Ecotoxicological assessment of industrial effluent using duckweed (*Lemna minor* L.) as a test organism". *Ecotoxicology*, 19, 216-222.
- Saygıdeğer, S., (1996). "*Lemna gibba* L. ve *Lemna minor* L. (*Lemnaceae*)'nin Morfolojik Anatomik Ekolojik ve Fizyolojik Özellikleri". *Ekoloji Dergisi*, 18, 8-11.
- Sevgi, K. ve Leblebici, S. (2022). "Bitkilerde Ağır Metal Stresine Verilen Fizyolojik ve Moleküler Yanıtlar". *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 7 (4), 528-536.
- Sönmez, A.Y., Hisar, O., Karataş, M., Arslan, G. ve Aras, M.S., (2008). Sular Bilgisi. Nobel Yayın Dağıtım A.Ş. Ankara.
- Şık, L., Acar, O. ve Akı, C. (2009). "Genotoxic effects of industrial wastewater on *Allium cepa* L.". *African Journal of Biotechnology*, 8(9).

- Tekoğul, H. (2020). *Tarım Bilimleri ve Su Ürünlerinde Vizyonel Çalışmalar*. Mustafa Tolga Tolon, Banu Yücel, Ed., Akademisyen kitabevi A.Ş., pp. 71-88. Ankara.
- Topaktaş, M., Rencüzoğulları, E., (2010). “Sitogenetik”, Nobel Yayın Dağıtım, Türkiye Çevre Eğitim Vakfı, Ankara.
- Töre, G. Y. ve Özkoç, Ö. B. (2022). “Recent developments in aquatic macrophytes for environmental pollution control: A case study on heavy metal removal from lake water and agricultural return wastewater with the use of duckweed (*Lemnaceae*).” *Phytoremediation Technology for the Removal of Heavy Metals and Other Contaminants from Soil and Water. Elsevier, 75-127.*
- Török, A., Buta, E., Indolean, C., Tonk, S., Silaghi-Dumitrescu, L. ve Majdik, C. (2015). “Biological removal of triphenylmethane dyes from aqueous solution by *Lemna minor*”. *Acta Chimica Slovenica, 62(2), 452-461.*
- Upcraft, T. ve Guo, M. (2020). “Phytoremediation value chains and modeling”. *Sustainable Remediation of Contaminated Soil and Groundwater, 325-366.*
- Ustaoğlu, D., Terzioğlu, K., Hasan, T., Yılmaz, E. ve Tunca, E. (2015). “Sucul Ortamlardaki Bakırın (Cu), Su Mercimeği (*Lemna minor* Linneaus 1753) ile Fitoremediasyonu”. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 5(2), 10-22.*
- Üçüncü, E., Tunca, E., Fikirdeşici, Ş., Özkan, A. D. ve Altındağ, A. (2013). “Phytoremediation of Cu, Cr and Pb mixtures by *Lemna minor*”. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 91(5), 600-604.*
- Wahaab, R. A., Lubberding, H. J. ve Alaerts, G. J. (1995). “Copper and chromium (III) uptake by duckweed”. *Water Science and Technology, 32(11), 105-110.*
- Yadav, S. K. (2010). “Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of Plants”. *South African Journal of Botany, 76(2), 167-179.*
- Yanık, T. ve Atamanalp, M. (2001). Balık Yetiştiriciliğinde Su Kirliliğine Giriş. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:226, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum.

Yerli, C., akmakc, T., Sahin, U. ve Tfenki, Ő. (2020). “Ağır Metallerin Toprak, Bitki, Su ve İnsan Sağlığına Etkileri”. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 103-114.



ÖZGEÇMİŞ

