



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Cr(III) ve Cr(VI) MARUZİYETİNDE *Ceratophyllum demersum* L.'NİN
BİYOLOJİK CEVABI: KONSANTRASYON VE UYGULAMA
PERİYODUNUN ETKİSİ**

**Hazırlayan
Fatih Doğan KOCA**

**Danışman
Doç. Dr. Fatih DUMAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Ağustos 2012
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Cr(III) ve Cr(VI) MARUZİYETİNDE *Ceratophyllum demersum*
L.'NİN BİYOLOJİK CEVABI: KONSANTRASYON VE
UYGULAMA PERİYODUNUN ETKİSİ**

**Tezi Hazırlayan
Fatih Doğan KOCA**

**Tezi Yöneten
Doç. Dr. Fatih DUMAN**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Ağustos 2012
KAYSERİ**

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı Soyadı: Fatih Doğan KOCA

İmza :



Cr(III) ve Cr(VI) MARUZİYETİNDE *Ceratophyllum demersum* L.'nin BİYOLOJİK CEVABI: KONSANTRASYON VE UYGULAMA PERİYODU adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.



Tezi Hazırlayan
Fatih Doğan KOCA



Danışman
Doç. Dr. Fatih DUMAN



Biyoloji Anabilimdalı Başkanı
Prof. Dr. Ahmet AKSOY

Doç. Dr. Fatih DUMAN danışmanlığında **Fatih Doğan KOCA** tarafından hazırlanan “**Cr(III) ve Cr(VI) Maruziyetinde *Ceratophyllum demersum L.*'nin Biyolojik Cevabı: Konsantrasyon ve Uygulama Periyodu**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.


08/06/ 2012

JÜRİ:

Başkan: Doç. Dr. Murat KAYA
Üye: Doç. Dr. Fatih DUMAN
Üye: Yrd. Doç. Dr. Didem AYDIN

**ONAY** :

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 31/08/2012 tarih ve 2012/39-03 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

31 / 08 / 2012

Prof. Dr. Necmettin MARAŞLI
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bana yol gösteren, bu çalışmanın tasarlanıp yürütülmesinde ve çalışmalarımın her aşamasında değerli bilgi ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Fatih DUMAN'a yakın ilgi ve yardımlarından dolayı Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet AKSOY'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Arazi çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen, Arş. Gör. Musa KAR ve Arş. Gör. Ahmet CEYLAN'a, ayrıca laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Zeliha LEBLEBİCİ'ye teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi, tez çalışmam süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme, sonsuz minnetlerimi sunarım.

**Cr(III) ve Cr(VI) MARUZİYETİNDE *Ceratophyllum demersum* L.'nin
BİYOLOJİK CEVABI: KONSANTRASYON VE UYGULAMA PERİYODU**

Fatih Doğan KOCA

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Haziran 2012

Danışman: Doç. Dr. Fatih DUMAN

KISA ÖZET

Bu çalışmada farklı krom (Cr) türlerinin sucul bitkilerde meydana getirdiği biyolojik cevabın süre ve konsantrasyon bağımlı olarak incelenmesi amaçlanmıştır. *Ceratophyllum demersum* L. bitkisi değişen konsantrasyon (1, 2, 5 ve 10 mM) ve sürelerde (1, 2, 4 ve 7 gün) Cr(III) (CrCl_3) ve Cr(VI) ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)'ya maruz bırakılarak Cr akümüasyonu, Göreceli büyüme oranı (GBO), MDA içeriği, elektriksel iletkenlik (EC), fotosentetik pigmentasyon, protein ve prolin içeriğinin yanı sıra SOD (Superoksit dismutaz) ve CAT (Katalaz) enzim aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan iki yönlü varyans analizi (Two-way ANOVA) ile incelenen her bir parametre üzerine süre ve konsantrasyonun tekli(single) ve birlikte (combined) etkileri belirlenmiştir. Hem Cr(III) hemde Cr(VI) uygulamaları için, çalışılan tüm parametreler üzerine konsantrasyonun önemli etkiye sahip olduğu görülmüştür. Ancak, Cr(III) uygulaması için MDA ve protein içeriğine, Cr(IV) uygulamasında ise prolin içeriği üzerine uygulama süresinin önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Her iki Cr türü için de genel olarak çalışılan parametreler üzerine konsantrasyonun uygulama süresinden daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bunlara ek olarak, hem Cr(III) hem de Cr(VI) uygulamaları için GBO, EC, protein içeriği ve antioksidant enzim aktivitelerindeki değişim üzerine süre ve konsantrasyonun sinerjistik etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların fitoremediasyon ve bitki biyoteknolojisi çalışmalarında faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Krom akümüasyonu; *Ceratophyllum demersum*; Oksidatif stres, süre ve konsantrasyon etkisi

**Cr(III) and Cr(VI) EXPOSURE *Ceratophyllum demersum* L. BIOLOGICAL
RESPONSE: CONCENCRATION AND DURATION**

Fatih Doğan KOCA

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M. Sc. Thesis, June 2012

Supervisor: Associate Prof. Dr. Fatih DUMAN

ABSTRACT

The purpose of this study is to analyze the biological responses of aquatic plants to different types of chromium (Cr), depending on duration and concentration. The plant *Ceratophyllum demersum* L. was exposed to Cr(III) and Cr(VI) in variable concentrations and durations (1, 2, 4 and 7 days) and consequently the Cr accumulation, relative growth rate (RGR), lipid peroxidation (MDA content), electrical conductivity (EC), photosynthetic pigmentation, proline content and antioxidant enzyme activities were examined. The single and combined effects of duration and concentration of each parameter were determined through conducting a two-way ANOVA. For both the Cr(III) and Cr(VI) applications, it was observed that concentration has a significant effect on all the parameters. However, it was determined that the duration of application holds no substantial effect over proline content in the Cr(III) application, or on MDA and protein content in the Cr(VI) application. It was determined that concentration holds greater importance for both Cr types studied than duration of application. Additionally, it was determined that duration and concentration have a synergistic effect on the changes of the RGR, EC, protein content and antioxidant enzyme activities in both Cr(III) and Cr(VI) applications. The obtained results are envisioned to be of service in favor of phytoremediation and plant biotechnology studies.

Keywords: Chromium accumulation; Oksidative Stres; duration and concentration effect

İÇİNDEKİLER

Cr(III) ve CR(VI) MARUZİYETİNDE *Ceratophyllum demersum* L.'nin BİYOLOJİK CEVABI: KONSANTRASYON VE UYGULAMA PERİYODU

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
KISA ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	3
1.1.1. Bitkilerde Bulunan Serbest Radikaller	4
1.2. Antioksidan Savunma Sistemi.....	4
1.2.1. Enzimatik Olmayan Savunma Sistemi.....	5
1.2.2. Enzimatik Savunma Sistemleri.....	5
1.2.2.1. Askorbat Peroksidaz (APX).....	5
1.2.2.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)	5
1.2.2.3. Katalaz (CAT)	6
1.3. Biyomoleküllerin Oksidasyonu	6
1.3.1. Lipit Peroksidasyonu	6
1.3.2. Prolin Birikimi.....	6
1.4. Ağır Metaller ve Krom.....	7

1.4.1. Ağır Metallerin Genel Özellikleri	7
1.4.2. Ağır Metallerin Bitkiler Tarafından Alınması	7
1.4.2.1. Köklerle Alınım	7
1.4.2.2. Sürgünlere Taşınması	8
1.4.2.3. Metallerin Bitkilerde Detoksifikasyonu	8
1.4.3. Krom'un Özellikleri ve Türevleri.....	9
1.4.4. Krom'un Atıklarda Kullanımı.....	9
1.4.5. Bitkiler Tarafından Krom Alınımı	10
1.4.6. Krom Fitotoksitesitesi	11
1.4.6.1 Büyüme ve Gelişmeye Etkisi	11
1.4.6.2. Biyokimyasal Etkisi.....	11
1.5. Fitoremediasyon	12
1.5.1. Fitoekstraksiyon	12
1.5.2. Fitostabilizasyon.....	13
1.5.3. Fitovolatilizasyon	13
1.5.4. Rizodegradasyon	14
1.5.5. Fitodegradasyon	14
1.5.6. Rizofiltrasyon	14
1.6. Fitoremediasyon Yönteminin Avantaj ve Dezavantajları	15
1.7. Literatür Özeti	15

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2. 1. <i>Ceratophyllum demersum</i>	23
2.2. Deney Materyalinin Toplanması ve Deney Düzeneginin Hazırlanması.....	24
2.3. Deney düzenegi	24
2.4. Göreceli Büyüme Oranı	25
2.5. Krom akümülyasyonunun belirlenmesi	25
2.6. İyon kaçışı	25

2.7. Lipit peroksidasyonu.....	25
2.8. Protein tayini.....	26
2.9. Klorofil ve karotenoid tayini	26
2.10. Prolin tayini.....	26
2.11. Antioksidan Enzim Tayini	26
2.12. İstatistik	27

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Akümülayon	28
3.2. Göreceli Büyüme Oranı (GBO).....	32
3.3. Elektriksel İletkenlik (EC).....	35
3.4. Lipit Peroksidasyonu (MDA)	38
3.5. Fotosentetik Pigmentler	40
3.5.1. Klorofil a	40
3.5.2. Klorofil b	43
3.5.3. Karotenoid	45
3.6. Prolin	48
3.7. Protein	51
3.8. Antioksidan Enzimler	53

4. BÖLÜM

SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

4.1. Cr Akümülayon.....	59
4.2. Göreceli Büyüme Oranı (GBO).....	60
4.3. Elektriksel İletkenlik (EC) ve Lipit Peroksidasyonu (MDA)	61
4.4. Fotosentetik Pigmentasyon.....	62
4.5. Prolin	62

4.6. Protein	63
4.7. Antioxidant enzimler.....	63
4.8. Sonuç ve Öneriler	64
KAYNAKLAR	64
EKLER.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	74

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2. 1. <i>Ceratophyllum demersum</i> bitkisinin Sistematığı.....	23
Tablo 3. 1 Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde krom akümülyasyonu için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	29
Tablo 3. 2. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde krom akümülyasyonu için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	30
Tablo 3. 3. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde krom akümülyasyonu için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	30
Tablo 3. 4. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde krom akümülyasyonu için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	30
Tablo 3. 5. Cr(III) ve Cr(VI) nın süre, konsantrasyon, süre-konsantrasyon etkisi	31
Tablo 3. 6. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde GBO için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	34
Tablo 3. 7. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde GBO için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir)	34
Tablo 3. 8. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde GBO için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	34
Tablo 3. 9. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde GBO için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	34
Tablo 3. 10. Krom akümülyasyonu ile diğer ölçüm parametreleri arasında bulunan ilişkiler.	35

Tablo 3. 11. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde EC için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	37
Tablo 3. 12. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde EC için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	37
Tablo 3. 13. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde EC için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	37
Tablo 3. 14. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde EC için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	37
Tablo 3. 15. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde MDA için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	39
Tablo 3. 16. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde MDA için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	39
Tablo 3. 17. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde MDA için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	40
Tablo 3. 18. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde MDA için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	40
Tablo 3. 19. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde klorofil a için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	42
Tablo 3. 20. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde klorofil a için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	42
Tablo 3. 21. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde klorofil a için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir)	42

- Tablo 3. 22. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde klorofil a için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).42
- Tablo 3. 23. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde klorofil b için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).44
- Tablo 3. 24. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde klorofil b için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).44
- Tablo 3. 25. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde klorofil b için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).45
- Tablo 3. 26. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde klorofil b için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).45
- Tablo 3. 27. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde karotenoid için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).47
- Tablo 3. 28. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde karotenoid için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).47
- Tablo 3. 29. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde karotenoid için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).48
- Tablo 3. 30. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde karotenoid için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).48
- Tablo 3. 31. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde prolin için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).50
- Tablo 3. 32. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde prolin için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir)50

Tablo 3. 33. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde prolin için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	50
Tablo 3. 34. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde prolin için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).....	50
Tablo 3. 35. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde protein için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	52
Tablo 3. 36. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde protein için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	52
Tablo 3. 37. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde protein için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	53
Tablo 3. 38. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde protein için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	53
Tablo 3. 39. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde SOD için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	56
Tablo 3. 40. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde SOD için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	56
Tablo 3. 41. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde SOD için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	56
Tablo 3. 42. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde SOD için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	56
Tablo 3. 43. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde CAT için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).	57

- Tablo 3. 44. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde CAT için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir)57
- Tablo 3. 45. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde CAT için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).57
- Tablo 3. 46 Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde CAT için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).58

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 3. 1. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde Cr akümülyasyonu (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....27
- Şekil 3. 2. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde Cr akümülyasyonu (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....29
- Şekil 3. 3. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde göreceli büyüme oranı (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....33
- Şekil 3. 4. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde göreceli büyüme oranı (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....33
- Şekil 3. 5. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde elektriksel iletkenlik (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....36
- Şekil 3. 6. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde elektriksel iletkenlik (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....36
- Şekil 3. 7. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde MDA birikimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....38
- Şekil 3. 8. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde MDA birikimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....39
- Şekil 3. 9. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde klorofil a değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....41
- Şekil 3. 10. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde klorofil a değişimi (Değerler, 3 tekrarın

	ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....	41
Şekil 3. 11.	Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış <i>C. demersum</i> bitkisinde klorofil b değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....	43
Şekil 3. 12.	Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış <i>C. demersum</i> bitkisinde klorofil b değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....	44
Şekil 3. 13.	Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış <i>C. demersum</i> bitkisinde karotenoid değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....	46
Şekil 3. 14.	Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış <i>C. demersum</i> bitkisinde karotenoid değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....	47
Şekil 3. 15.	Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış <i>C. demersum</i> bitkisinde prolin içeriği (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....	49
Şekil 3. 16.	Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış <i>C. demersum</i> bitkisinde prolin içeriği (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....	49
Şekil 3. 17.	Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış <i>C. demersum</i> bitkisinde protein değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....	51
Şekil 3. 18.	Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış <i>C. demersum</i> bitkisinde protein değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....	52
Şekil 3. 19.	Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış <i>C. demersum</i> bitkisinde SOD aktivitesi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....	54

- Şekil 3. 20. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde SOD aktivitesi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....54
- Şekil 3. 21. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde CAT aktivitesi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....55
- Şekil 3. 22. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde CAT aktivitesi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).....55

GİRİŞ

Su bütün canlıların canlılık faaliyetlerini devam ettirebilmesi için gerekli bir bileşiktir. Fakat son yıllarda küresel ısınma ve iklim değişiklikleri nedeniyle dünyada su rezervuarlarının hızla tükendiği bilim adamları tarafından açık bir şekilde belirlenmiştir. Su kaynakları küresel ısınma tehdidi altındayken, mevcut su kaynaklarımızda çeşitli etmenlerle kirlenmektedir. Bu kirliliğe sebep olan etmenlerin küçük bir kısmı asit yağmuru, suyun doğada döngüsü gibi çevresel faktörler iken en önemli kirletici faktörü insandır.

Özellikle son yıllarda kentsel yerleşimin hızla artması, tarımsal faaliyetlerin bilinçsizce sürdürülmesi, gelişen sanayileşme, madencilik çalışmaları gibi çeşitli nedenlerle çevre kirliliği önemli bir sorun haline gelmiştir. Ekosistemin sistemler zinciri olduğu göz önünde bulundurulursa; her hangi bir sisteme bırakılan bir atık o sistemde kalmayacak, doğal döngü veya dış etkenler ile farklı sistemlere bulaşacaktır. Genel olarak toprağa bırakılan bir atık yıkanma yoluyla yeraltı sularına ve daha sonra su sistemlerine, havaya bırakılan atıklar da yağmur, kar gibi doğal olaylar ile toprak sistemlerine ve sonuçta su sistemlerine bulaşmaktadır. Dolayısıyla kirlilik bölgesel değil evrenseldir. Bu yüzden su kaynaklarının bu kirlenmenin etkisinden korunması ve kirletilmiş suların temizlenmesi küresel bir amaç halini almıştır.

Sularda kirlenme genel olarak;

- a) Organik kirlenme,
- b) Anorganik kirlenme,
- c) Bakteriyel kirlenme,
- d) Termal kirlenme olmak üzere dört ana başlıkta toplanır [1].

EPA (1993)' nın tespit ettiği kirleticiler arasında 13 metal kirletici bulunmaktadır. Bu metal ve metaloidler; kadmiyum, kurşun, antimon, arsenik, berilyum, krom, bakır, civa,

nikel, selenyum, gümüş, talyum ve çinkodur. Bu kirleticiler dünyanın çoğu yerinde çevre koruma örgütlerince öncelikli kirleticiler listesine dahil edilmiştir [2].

Periyodik cetvelin VIB grubunda yer alan krom dünyada en bol bulunan 7. elementtir. Krom (Cr), insan kaynaklı aktiviteler nedeniyle sucul ve karasal ekosistemlerde kontaminasyona sebep olmaktadır. Cr çevrede Cr^{+2} , Cr^{+6} değerlikleri aralığında değişen oksidasyon durumlarında bulunmakta ve Cr(III) ile Cr(VI) en kararlı ve yaygın oksidasyon durumu oluşturmaktadır. Cr(VI), Cr(III)'ten daha toksik olup, Cr(III)'te oksidatif stresi uyarmaktadır [3, 4].

Cr fitotoksitesisi bitkilerde oksidatif strese sebep olarak, antioksidan enzim aktivitesinde değişime, pigment yapısının bozulmasına, kloroplast ve membran yapısının bozulmasına, metabolik aktivite bozulmasına, bitki büyümesinin engellenmesine sebep olmaktadır [3, 4].

Bitki kroma maruz kaldığında, bitkide reaktif oksijen türleri (ROS) oluşmakta ve oksidatif stres gözlenmektedir. Serbest radikallerin varlığı bitkide lipit, protein, prolin gibi biyomoleküllerin oksidatif hasarına neden olmaktadır. Bitkiler ROS'u temizlemek ve oksidatif stresten korunmak için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşmuş savunma sistemine sahiptir. Özellikle süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX) gibi enzimatik antioksidanlar oksidatif stres koşullarında meydana gelen reaktif oksijenleri temizlemede önemli rol oynamaktadır [4].

Fitoremediasyon teknolojisi, su veya toprak sistemlerine kontamine olmuş kirleticilerin bitkiler tarafından absorbe edilmesidir. Bitki bünyesine giren ağır metal gibi toksik kirleticiler, bitki köklerinde şelat oluşturarak akümüle olmakta veya bitkinin sürgünlerine taşınmaktadır [5].

1. BÖLÜM

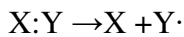
GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

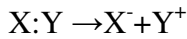
Atomik veya moleküler yapıda yörüngesinde reaktif durumda olan, çiftleşmemiş elektron bulunduran moleküller serbest radikal olarak adlandırılır. Reaktif oksijen türleri (ROS) de denilen serbest radikaller diğer moleküllerle kolay bir şekilde elektron alışverişine girme eğilimindedir [6]. Serbest radikaller canlılarda kloroplast, mitokondri gibi organellerde elektron taşınması sonucunda oluşmakta ve elektron transferi, enerji üretimi gibi birçok metabolik olaylarda rol oynamaktadır. Aynı zamanda ROS bitkiler için, patojen veya herbivor saldırılara karşı savunmada önemli bir yere sahip bileşikler olup genellikle antimikrobiyal savunma sırasında oluşmaktadır. Örneğin herbivor yaralanma sonucunda oluşan sistemin plazma duvarında bulunan reseptörler aracılığıyla hücre içine sinyal göndermektedir. Sinyalle birlikte jasmonik asit (JA) sentezlenmekte ve sentezlenen JA domates yapraklarında bulunan mezofil hücrelerinin savunma genlerini uyarmaktadır [6]. Bitki normal şartlar altında serbest radikallerin oluşumunu ve yıkımını kendi bünyesinde düzenlemektedir. Fakat bitkiler stres koşullarına maruz kaldıklarında, serbest radikaller ile antioksidan sistemi arasında denge bozulmakta ve bu durum bitkilerde protein denaturasyonu, lipid peroksidasyonu, DNA mutasyonları gibi oksidatif hasarlara sebep olmaktadır [6].

Bir serbest radikal;

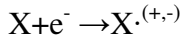
1) Kovalent bağ taşıyan bir molekülün homolitik yıkıma uğramasıyla her bir parçada ortak elektronlardan birinin kalması sonucunda;



2) Normal bir molekülün bir elektron kaybetmesi veya heterolitik bölünmeye uğramasıyla kovalent bağı oluşturan iki elektron atomların birinde kalması sonucunda;



3) Normal bir moleküle bir tek elektron eklenmesi ile;



olmak üzere üç yolla oluşmakta ve oluşan serbest radikaller, nötr, pozitif yüklü veya negatif yüklüdür [7].

1.1.1. Bitkilerde Bulunan Serbest Radikaller

Bitkiler ve aerobik canlılar enerji üretimi için oksijene ihtiyaç duymaktadırlar. Bitkilerin O_2 'i H_2O 'ya indirgemesi sırasında ROS adı verilen süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil (OH^\cdot) reaktifleri oluşmaktadır. Enerjinin artmasıyla O_2 daha reaktif olan singlet oksijene (1O_2) dönüşmekte ve oluşan 1O_2 diğer moleküllerle reaksiyona girerek hidroperoksit türevlerini meydana getirmektedir. Oldukça reaktif olan O_2^- 'in yarı ömrü 2-4 μ sn kadar kısa olduğundan, membrandan geçmeden süperoksit dismutaz (SOD) tarafından H_2O_2 'ye dönüştürülmektedir. H_2O_2 1 msn yarı ömre sahip bir kısmen reaktif bileşiktir. H_2O_2 özellikle kalvin döngüsünde kullanılan CuMg-SOD ile Fe-SOD enzimlerinin tiyol gruplarını okside etmekte ve böylece enzimlerin inaktif hale gelmesine sebep olmaktadır. Bitkilerde oluşan bir diğer serbest radikal (OH^\cdot) ise en reaktif radikal olup tüm moleküllerle reaksiyona girmektedir [8]. (OH^\cdot) yüksek reaktif özelliği nedeniyle enzimatik şekilde güçlükle kontrol edilmekte ve aşırı miktarda üretildiğinde hücre ölümüne sebep olmaktadır. Aerobik canlılar süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile canlılar bu reaktiften korunmaya çalışmaktadır [8].

1.2. Antioksidan Savunma Sistemi

Canlılarda bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddelere antioksidan maddeler, antioksidanlarla gerçekleşen bu olaya antioksidan savunma sistemi adı verilir [6]. Bitkiler ROS'un üretilmesiyle meydana gelen oksidatif strese antioksidan savunma sistemleri ile direnç göstermektedir. Antioksidan savunma sistemleri enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemleri olmak üzere iki grupta toplanır [6, 9].

1.2.1. Enzimatik Olmayan Savunma Sistemi

Enzimatik olmayan (Non-enzimatik) savunma sistemi vitamin A,C,E, KoenzimQ10, melatonin hormonu, karotenoid ve flavonollerden ve birçok fotokimyasallardan oluşmaktadır [6, 9]. Enzimatik olmayan bu moleküller elektron veya hidrojen bırakarak serbest radikallerin atılmasında önemli rol oynarlar [9]. Sadece bitkisel organizmalar tarafından sentezlenen, Vitamin E grubunda bulunan tokoferoller, özellikle kloroplast membranında bulunarak burada meydana gelecek oksidatif hasara karşı koruyucu etki göstermektedir [8]. Ayrıca Vitamin E lipid peroksidasyonunu engellemede rol oynamaktadır [6]. Karotenoidler grubuna giren likopen ve karotenler antioksidan özelliği göstermekte olup bitki ve hayvan hücrelerini singlet oksijenin neden olduğu oksidatif hasardan korumaktadır [2, 6].

1.2.2. Enzimatik Savunma Sistemleri

1.2.2.1. Askorbat Peroksidaz (APX)

Askorbat peroksidaz (APX) biyotik ve abiyotik stres koşullarında meydana gelen H_2O_2 'nin detoksifikasyonundan sorumlu olan önemli bir enzimdir. Bitkilerde bulunan APX, bulunduğu bitki türlerine göre aktivite göstermektedir. APX; kloroplastlarda stromal APX (sAPX), tilakoid membranına bağlı APX (tAPX), peroksisom membranına bağlı APX (mAPX), sitozolik APX (cAPX) ve mitekondri membranına bağlı (mitAPX) olmak üzere farklı organellerde lokalize olmuş beş izomere sahiptir [6].

1.2.2.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), bütün aerobik canlılarda bulunan, bulunduğu organizmada oksijen türlerinin toksik etkilerine karşı savunma sisteminde rol oynayan önemli bir enzimdir. SOD stres koşullarında oluşan (O_2^-) 'in, H_2O_2 ve O_2 'e dismutasyonunu gerçekleştirmektedir. $(^1O_2)$ ve (OH^\cdot) radikallerini direk etkilemesi ile ilgili yeterli kanıt mevcut değildir, fakat SOD kimyasal reaksiyonlarla bu reaktifleri direk elimine etmektedir. SOD, özellikle katalaz (CAT) enzimi ile birlikte çalışarak yüksek reaktiflerin ve toksinlerin birçoğunun oluşumunu engellemektedir. Yüksek reaktif özelliğine sahip (O_2^-) , SOD tarafından daha düşük seviyede reaktif özellik gösteren

H₂O₂'ye dönüşmekte ve meydana gelen H₂O₂'de CAT tarafından suya (H₂O) dönüşmektedir [9].

1.2.2.3. Katalaz (CAT)

Katalaz (CAT) bütün ökaryot canlılarda bulunan, substrata ilgisi az olmasına rağmen yüksek aktivite gösteren bir enzimdir [2, 6]. CAT, H₂O₂ radikalini bağlayan iki aktif bölgeye sahip olup, H₂O₂'nin su ve oksijen'e dönüşmesinde önemli rol oynamaktadır [6]. Özellikle C3 bitkilerinde fotorespirasyon sırasında oluşan H₂O₂'nin uzaklaştırılmasında kullanılan CAT, aynı zamanda kalvin döngüsünde tiol düzenleyici enzimleri korumaktadır [6, 9]. CAT ve SOD en önemli antioksidan enzimleri arasında olup, kombine çalışmaları durumunda (¹O₂) ve H₂O₂ radikallerinin su ve moleküler oksijene dönüşmesinde yüksek başarı göstermektedirler [2, 9].

1.3. Biyomoleküllerin Oksidasyonu

1.3.1. Lipit Peroksidasyonu

Canlılarda serbest radikallerin oluşumu ve yok edilme hızlarının denge durumuna oksidatif denge denir ve oksidatif denge sağlandığı sürece canlılar serbest radikallerden etkilenmezler. Çeşitli stres faktörleri serbest radikallerin oluşum ve yok olma hızlarını değiştirmekte, böylece oksidatif dengenin bozulmasıyla oksidatif stres meydana gelmektedir [7]. Oksidatif stresle birlikte oluşan ROS'lar yaşayan tüm organizmalara zarar veren lipit peroksidasyonuna yol açmaktadır [10]. Lipit peroksidasyonu hücre ve membranların yapısını, işlevini etkileyerek dönüşümü mümkün olmayan hasarlara yol açmaktadır [10, 11]. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen keton, MDA gibi hidrokarbon parçaları içeren lipit kaynaklı radikaller oksidatif stresin etkisini artırarak DNA ve proteinlere zarar vermektedir [10, 11]. MDA birikimi lipit peroksidasyonunun bir göstergesi olup, MDA'nın aşırı birikimi lipit peroksidasyonun yüksek seviyede olduğunu göstermektedir [11].

1.3.2. Prolin Birikimi

Prolin, bitki ve hayvan membranlarında bulunan non-enzimatik bir antioksidandır. Prolin redoks sinyalinde önemli bir molekül olmasının yanı sıra, bitkilerde stres

koşullarında meydana gelen (OH[•]) radikallerini uzaklaştırarak ROS'un etkisini azaltmaktadır [10]. Ayrıca prolin birikimi, lipid peroksidasyonunun sebep olduğu hücre membranının tahribinden kaynaklanan ozmotik stresi önlemektedir [11]. Özellikle Cr gibi birçok ağır metalin sebep olduğu stres koşullarında prolin bitki dokularında yüksek seviyede birikmektedir [11].

1.4. Ağır Metaller ve Krom

1.4.1. Ağır Metallerin Genel Özellikleri

Atomik yoğunluğu 6 g/cm³'ten büyük olan metal ve metaloid gruplarına genel olarak ağır metaller denir ve toksik etkiye sahip olan Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb ve Zn elementleri için kullanılır [2]. Ağır metaller doğada kaya ve maden cevherlerinde bulunmakta ve buralardan su, sediment ve topraklara doğal yollarla bulaşmaktadır [2]. Ağır metal gruplarında bulunan bazı elementler çoğu organizma için iz miktarda da olsa gerekli olup, eksikliğinde canlıların zarar görmesine sebep olabileceği gibi, yüksek konsantrasyonlarda da canlılara toksik etki oluşturmaktadır.

1.4.2. Ağır Metallerin Bitkiler Tarafından Alınması

Ağır metallerin bitkiler tarafından alınmasında, bitki kökleri tarafından ağır metallerin absorpsiyonu, ksilem yoluyla sürgünlere taşınımı, ağır metalin detoksifikasyonu olmak üzere üç temel basamak izlenir [12].

1.4.2.1. Köklerle Alınım

Hiperakümülatör bitkilerin topraktan metalleri alarak bünyelerinde akümüle etme yetenekleri oldukça yüksektir. Metallerin bitki tarafından alınımına, toprakta bulunan metallerin çözünürlüğü, toprağın metal içeriği, su içeriği, toprakta bulunan organik maddeler, pH, bitki köklerinde bulunan mikroorganizmalar ve rizosfer tabakada bulunan diğer elementler etki etmektedir [12]. Bitkiler toprakta çözülmüş halde olan serbest metalleri kolaylıkla alabilmektedirler. Genellikle ağır metallerin toprakta çözünmemiş halde bulduklarından dolayı bitki kökleriyle alınımı zordur [12]. Bitkiler toprağa metal şelatlandırıcı moleküller ve proton salgılayarak metallerin serbest hale gelmesini sağlarlar [2]. Bitki kökleri ile toprakta bulunan mikroorganizmaların ilişkileri

bitkinin, proton, organik asit, fitojelatin (PCs), amino asit ve enzim salgılarını artırmakta ve böylece rizosferde metallerin biyoalımını sağlamaktadır [12]. Kök tarafından salgılanan proton rizosferi asitleştirmekte ve asitli ortamda metal iyonları kolaylıkla çözülerek bitki bünyesine alınmaktadır. Köklerden proton H^+ -ATPaz ve H^+ pompaları ile salınmaktadır. Bitki kökleri organik asit salgılayarak ağır metalleri çözmekte ve bünyelerine almaktadır. Bazı bitki kökleri bakteri ve mikorizal fungi gibi mikroorganizmaları yoğun bir şekilde rizosferde barındırmaktadır. Bu durumda oluşan kök-bakteri birlikteliği ve mikoriza ağır metallerin çözünmesini sağlayarak bitki hücrelerine alınımını kolaylaştırmaktadır [12]. Kök içine giren metaller daha sonra bitki hücrelerine iyon taşıyıcıları ile girmektedir [2].

1.4.2.2. Sürgünlere Taşınması

Metaller bitkilere alındıktan sonra bitki köklerinde ve toprak üstü kısımlarında birikebilir. Köklerde akümüle olmayan metaller, ksilem veya floemle sürgünlere taşınmaktadır. Ksilem kanalıyla taşınan metaller, kaspari şeritine geçerler. Kaspari şeriti ekstrasellüler geçişi kapattığından dolayı taşınma buradan sonra intrasellüler yolla olmaktadır. Floemden bitki hücrelerine ilerleyen metaller ise, organik asitlerle şelatlı olarak veya metalotiyoninler ile taşınmaktadır [2].

1.4.2.3. Metallerin Bitkilerde Detoksifikasyonu

Bitki hücreleri tarafından alınan ağır metallerin detoksifikasyonu temel olarak; metallerin hücre duvarı gibi apoplastik dokulara dağılması, bir ligand ile metallerin şelasyon oluşturması ve daha sonra metal-ligand kompleksinin vakuolde ayrışması mekanizmasına dayanmaktadır [12]. Ligandlarla kompleksleşme kökler tarafından malat ve sitrat gibi organik asitlerin salınmasıyla hücre dışında meydana gelebileceği gibi, metalotionin (MTs) ve PCs gibi peptid ligantlarla hücre içinde de gerçekleşmektedir. Bitkinin ağır metale maruz kaldığı durumlarda bitki hücre ve dokularında PCs hızla uyarılmaktadır. MTs kodlanmış bir gen olup, PCs glutamin (Glu), sistein (Cys) ve glisin (Gly) olmak üzere üç amino asitten oluşmakta ve tripeptid glutatyon (GSH) tarafından enzimatik olarak sentezlenmektedir [12].

1.4.3. Krom'un Özellikleri ve Türevleri

Krom periyodik cetvelin VI B grubunda yer almaktadır. Krom doğada asla tek bir element halinde bulunmayıp, oksijen ve demirle bileşik oluşturarak kromit (FeCr_2O_4) olarak bulunmaktadır [13]. Krom doğada en yaygın kullanılan 21. elementtir [13]. Genellikle kağıt sanayii, organik kimyasallar, petrokimya sanayii, petrol rafineleri, demir çelik dökümhaneleri, metal sanayii, motorlu taşıt ve uçak kaplamasında, cam, çimento ve asbest üretiminde, tekstil sanayinde ve tabakhane gibi birçok endüstri dallarında yaygın olarak kullanılmaktadır [1]. Yılda yaklaşık 107 ton üretilen krom çeşitli endüstri dallarında kullanımı sonucunda farklı bileşikleri halinde çevreye bırakılmaktadır [5].

Kromun Cr^{+2} ve Cr^{+6} ve değerlikleri arasında değişen birkaç oksidasyon durumu vardır. Krom doğada en yaygın olarak kimyasal yapıları tamamen birbirinden farklı olan Cr(III) ve Cr(VI) olarak bulunmaktadır [13].

Cr(III) çeşitli ligantlarla kompleks halinde olan bir asittir. Cr^{3+} , $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Cr}(\text{OH})\text{O}_3$, ve $\text{Cr}(\text{OH})^{4+}$, Cr(III)'ün temel türevleridir [13]. Çözünmüş halde bulunan Cr(III) oksijen, nitrojen ve sülfür içeren ligantlara yüksek affinite gösterir ve yüzeyden emilimi kolaydır [13].

Cr(VI) tuzları suda çözünebilir ve oldukça hareketli formdadır. Genellikle aerobik topraklarda ve su sistemlerinde bol bulunan Cr(VI) bulunduğu çevrede uzun süre kalabilmektedir. Cr(VI) yüksek oksitleyici, yüksek çözünürlük ve zardan kolay geçebildiğinden dolayı Cr(III)'ten daha toksiktir [13].

Cr(VI)'nın Cr(III)'e indirgenmesi Fe(II), felvik asit gibi molekül ağırlığı düşük organik bileşikler tarafından gerçekleşebilmekte, oksijenin bol bulunması durumunda ise Cr(III), Cr(VI)'ya oksitlenebilmektedir [13].

1.4.4. Krom'un Atıklarda Kullanımı

Krom yaklaşık yüz yılı aşkın bir süre önce paslanmaz çelik olarak kullanılmaya başlanmış, daha sonra yaygınlaşarak elektroplat, boya ve pigment sanayii, tekstil sanayii, baskı sektörü, yağ endüstrisi, kibrit ve havai fişek yapımını, ahşap işleme, tabakhane gibi birçok endüstri dallarında kullanılmaya başlanmıştır [13].

Krom tabakhane atıklarında en bol bulunan ağır metaldir. Deri işlenmesinde kullanılır ancak kromun tamamı deri tarafından alınamamakta ve büyük bir kısmı atık içinde kaçmaktadır. Deri tabaklama işleminden işleminden dolayı krom bileşiklerinin büyük bir miktarı çevreye katı, sıvı ve gaz atıkları olarak boşaltılmakta, biyolojik ve ekolojik çevreye olumsuz etki yapmaktadır. Bazı raporlarda tabakhane atıklarındaki krom değerlerinin yerli ve uluslar arası standartlarca belirlenen güvenli limitin çok üzerinde olduğu gözlenmiştir [5]. Hindistan gibi ülkelerde sadece tabakhanelerde yılda 32.000 ton krom sülfat tuzları kullanılmakta ve atık olarak bırakılan çamur, kromun farklı değerliklerini içermektedir. Tabakhane atıklarından oluşan çamur çevreye bırakıldığında çamurda bulunan Cr(III) bileşikleri Cr(VI)'ya oksitlenerek toprakta süzöldükten sonra yeraltı sularına karışmaktadır [13].

1.4.5. Bitkiler Tarafından Krom Alınımı

Bitkiler toksik bir metal olan kromu bünyelerine almak için özelleşmiş bir mekanizmaya sahip değillerdir. Bitkiler, kendi metabolizmaları için alınması zorunlu olan metal taşıyıcılara sahiptir ve krom bu taşıyıcılar vasıtasıyla bitki bünyesine girmektedir [11].

Kromun bitkiye alınımında etkili olan faktörlerden bir diğeri de kromun oksidasyon durumudur. Cr(VI) esansiyel anyon taşıyıcıları vasıtasıyla, demir, fosfor ve kükürt ile rekabet ederek aktif bir mekanizmayla taşınmaktadır [11]. Cr(VI) genellikle fosfat-sülfat taşıyıcılarını kullanarak hücre zarından aktif bir mekanizma ile kolay ve hızlı bir şekilde geçmektedir [13].

Cr(III) hücre içine herhangi bir spesifik taşıyıcı ile alınmamaktadır. Cr(III) uygun lipofilik ligandlarla kompleks halinde bulunduğunda difüzyonla pasif bir şekilde hücre içine girebilmektedir [11, 13].

Cr(VI) membranlara geçerek hücre içi materyallerle etkileşime girmekte, fakat Cr(III) hücre membranında kalmakta ve burada birikmektedir [11].

1.4.6. Krom Fitotoksitesitesi

1.4.6.1 Büyüme ve Gelişmeye Etkisi

Toprak ve sudaki krom kontaminasyonlarının fizyolojik etkisi bitki türlerine göre farklılık göstermektedir. Krom'un toksik etkisi görsel olarak bitki büyümesinin inhibisyonu, yaprak semptomları ve organ seviyesinde azalma olarak gözlenmektedir [5]. Krom su sistemlerinde düşük konsantrasyonlarda bulunduğu bitkilerin büyümesini etkilemezken, yüksek konsantrasyonlarda büyümeyi engellemektedir [13].

Myriophyllum spicatum bitkisi üzerinde kromun büyümeye etkisi araştırılmış ve elde edilen sonuçlara göre 50 µg/L Cr konsantrasyonunda sürgün uzunluğunun arttığı, 100 µg/L Cr konsantrasyonunda büyümenin engellendiği gözlenmiştir [13].

Lemnaceae familyası kroma kısmen toleranslıdır. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada *Spirodela polyrrhiza* bitkisinin 0.02 mM, *Lemna minor* bitkisinin 0.00002 mM krom konsantrasyonlarında, bitki büyümesinde büyümede azalma gözlemişlerdir [13]. Kromun yüksek konsantrasyonlarında su mercimeklerinde klorosize sebep olduğu gözlenmiştir. Su mercimeklerinde bazı metallerin toksik etkileri karşılaştırılmış ve toksik etkileri büyükten küçüğe doğru Cu>Se>Pb>Cd>Ni>Cr olarak bulunmuştur. Kromun su mercimeklerine en az zarar verdiği tespit edilmiştir [13].

1.4.6.2. Biyokimyasal Etkisi

Araştırmacılar tarafından krom toksitesitesinin klorofil, karotenoid, amino asit, DNA, RNA ve fotosentez gibi biyokimyasal etkileri araştırılmıştır [13]. *Limnanthemum aristatum* bitkisinin krom maruziyetinde klorofil içeriğinde azalma, karotenoid içeriğinde bir değişim olmadığı gözlenmiştir [13]. *Ceratophyllum demersum* bitkisinin krom maruziyetinde ise, artan krom konsantrasyonuyla birlikte klorofil içeriğinde azalma, karotenoid, protein içeriğinde ise artma gözlenmiştir [13]. *Hydrilla verticillata* bitkisinde 1 mg/L krom konsantrasyonlarında klorofil içeriğinin %26'sının kaybolduğu gözlenmiştir [13]. *Pistia stratiotes* bitkisinde 1 mg/L krom uygulamasında klorofil içeriğinin azalma, 10 mg/L krom uygulamasında protein miktarında azalma gözlenmiş, 5 mg/L krom konsantrasyonunda DNA, katalaz ve peroksidazlara bir etki

gözlenmemiştir. 20 mg/L Cr konsantrasyonunda üçüncü gün bitkinin öldüğü gözlenmiştir [13].

1.5. Fitoremediasyon

Fitoremediasyon toprak ve sulara kontamine olmuş kirleticileri parçalamak ve yok etmek için bitkilerin kullanılmasıdır [16]. Fitoremediasyon için bitki türleri seçilirken, yıkıcı enzimleri üretmesi, büyüme ve verim oranı, kök zonunun derinliği ve kirleticileri biriktirme yetenekleri göz önünde bulundurulmaktadır [16]. Toprak veya sularda kontamine olmuş metallerin alınma yetenekleri bitkiden bitkiye farklılık göstermektedir. Örneğin, Brassicaceae familyasına ait türlerinin Cr'u daha etkin şekilde aldığı bildirilmiştir [14].

Hiperakümülatör bitkiler yüksek konsantrasyonlarda metal akümüle etmektedirler. Metal hiperakümülatörler metal toleransı ve gövdede metal akümülyasyonunu sınırlayan fizyolojik engellerin üstesinden gelmektedirler [16].

Organik kirleticilerin bitki bünyesine alınmasındaki etkili olan faktörler;

- Organik maddenin çözünürlük, molekül ağırlığı gibi fiziksel ve kimyasal özellikler,
- Sıcaklık, pH, nem içeriği gibi çevresel özellikler,
- Kullanılan bitkinin kök yapısı, salgıladığı enzim türü gibi özelliklerdir [17].

Fitoremediasyon yönteminde kullanılan bitkiler hasat edildikten sonra gübre olarak kullanılabilen veya içeriğindeki metal iyonlarının geri kazanımı sağlanabilmektedir [18]. Örneğin ABD'de hasat edilen bitkilerden altın ve nikel gibi elementler yeniden kazanılmaktadır [18].

1.5.1. Fitoekstraksiyon

Fitoekstraksiyon yöntemi toprakta bulunan kirleticilerin bitki kökleri tarafından absorbe edilmesidir. Bitkisel özütleme de denilen fitoekstraksiyon yönteminde, metal ve radyoaktif elementler bitkiler tarafından daha az zararlı olan taşınabilir kimyasal maddelere dönüştürerek bünyesine almaktadır. [16, 18]. Metallerin bitki kökleriyle alınabilmesi için toprakta çözülmüş olması gerekmektedir. Bitki kökleri metal şelatın moleküller veya metal reduktazlar salgılayarak metallerin çözünmesini ve serbest hale

gelmesini sağlamaktadırlar. Metaller toprakta çözünür çözünmez, bitki köklerine intrasellüler veya ekstrasellüler yolla giriş yaparlar. İntrasellüler yolla giriş yaparken, kök hücrelerinin plazma zarında metal taşıma proteini veya iyon kanalını kullanmaktadır. Metal iyonları bitki köklerinden giriş yaptıktan sonra kökte şelat formunda depolanmakta veya sürgünlere taşınmaktadır [16].

Fitoekstraksiyon amaçlı kullanılan doğal hipoakümülatörlerin metal alım hızlarının yavaş olması bu bitkiler için dezavantaj oluşturmaktadır. Metal alım hızlarının yavaş olması doğal hipoakümülatörlerin yavaş büyümesi ve toprakta metal çözünmesinin sınırlı olmasından kaynaklanmaktadır [16].

1.5.2. Fitostabilizasyon

Fitostabilizasyon kirlenmiş toprak ve sedimentin bitki örtüsü tarafından tutularak kirleticilerin toprakta yayılmasını önlemek amacıyla kullanılan yöntemdir [5]. Özellikle atık sularda metal kontaminasyonlarına uygulanabilir [5].

Kontrolsüz su akışı, rüzgar gibi faktörler toprak ve sedimentin hareketine neden olur ve bu olaya erozyon denir. Erozyon durumunda toprak yer değiştirdiğinden dolayı kirleticilerde toprakla birlikte hareket etmekte ve bu hareket nedeniyle kirleticiler toprakta yayılarak noktasal olmayan kirletici konumuna gelmektedir. Fitostabilizasyon amacıyla kullanılan bitkiler toprak ve sedimenti kökleriyle tutarak erozyona karşı engel oluşturmakta ve böylece noktasal olmayan kirliliği en aza indirmektedir [5]. Fitostabilizasyon teknolojisinde bitkilerin kök yapısı, mikrobiyolojisi ve kimyasal bileşenleri büyük önem arz etmekte olup, tipik olarak ot, otsu ve sulak alan bitkileri gibi fibrilli kök sistemine sahip bitkiler kullanılmaktadır [5, 18].

1.5.3. Fitovolatilizasyon

Fitovolatilizasyon, bitkiye alınan kirleticilerin buharlaşması olayıdır. Bitki tarafından alınan ağır metaller gibi kirleticiler kimyasal ayrışma ve fitovolatilizasyonla daha az toksik türevlerine dönüştürülerek buharlaşmaktadır. Örneğin tütün bitkisi bünyesinde yüksek toksik özelliği gösteren civa, kimyasal ayrışma ve fitovolatilizasyon sonucunda daha az toksik element civa olarak atmosfere karışabilmektedir [5]. Ancak bitki bünyesine alınan temel kirleticilerin buharlaşma ile doğrudan atmosfere karışma riski bu sistem için dezavantaj oluşturmaktadır [5].

1.5.4. Rizodegradasyon

Rizodegradasyon teknolojisi, bitki köklerinin çevresinde mikroorganizmaların zenginleşerek organik bileşikleri toprakta parçalama mekanizmasına dayanmaktadır. Kirleticilerin doğal ortamda etkisiz hale getirilmesi bu sistem için bir avantaj oluşturmaktadır. Ancak bu sistemde toprakta parçalanmış kirleticiler atmosfere karışmakta veya bitki tarafından alınmaktadır [18].

1.5.5. Fitodegradasyon

Fitotransformasyon da denilen fitodegradasyon, bitki tarafından alınan kirleticilerin enzimatik reaksiyonlarla parçalanması olayıdır [5]. Bitki bünyesine alınan kirleticiler metabolik olaylarla parçalanmakta ve kirleticilerin yapısı bozulmaktadır. Kirleticilerin bitki tarafından alınması, bitki türlerine, toprak koşullarına, kirleticilerin toprakta kalma sürelerine ve kirleticilerin suda çözünürlüğüne bağlı olup suda kolay çözünen kirleticiler bitki içine güçlükle alınmaktadır [18].

Kirleticilerin indirgenmesi ve bozulmasının bitki içerisinde fizyolojik olaylarla meydana gelmesi ve mikroorganizmalara bağımlı olmaması sisteme avantaj sağlamakta, ancak zehirli ürünlerin oluşma ihtimali ve bu ürünleri kestirebilmenin zor olması sisteme dezavantaj bir özellik kazandırmaktadır [18].

1.5.6. Rizofiltrasyon

Rizofiltrasyon sulu çözeltilerden ağır metallerin ve çeşitli toksik bileşiklerin bitki kökünde absorblanmasıdır. Kök yüzeyi ile absorpsiyon fizikokimyasal süreçlere bağlı olarak daha yaygın ve hızlı bir mekanizma olup, ölü köklerde bile gerçekleşebilmektedir. Özellikle hidrofobik kültürler sudan ağır metalleri hızlı bir şekilde kaldırıp bünyelerine alarak kök ve sürgünlerinde depolamaktadırlar [5].

Rizofiltrasyon tekniği uzun yıllardır sulak alanlarda başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. Sulak alanlarda bu bitkilerin uzun süreli kullanımı asit maden drenajında pH seviyesini artırmakta ve toksik metallerin ortamdan kaldırılmasını sağlamaktadır [5].

Rizofiltrasyon tekniğinin düşük maliyet gerektirmesi, karasal ve sucul bitkilerin kullanılabilmesi sisteme avantaj sağlamaktadır [5, 18].

1.6. Fitoremediasyon Yönteminin Avantaj ve Dezavantajları

Sularda kirliliğe sebep olan organik ve inorganik kirleticilerin kaldırılmasında fitoremediasyon tekniğinin uygulanması çeşitli avantajlar sağlamanın yanı sıra dezavantajlarda meydana getirmektedir.

Avantajları;

- Daha ekonomik olması,
- Yeni bir bitki topluluğu oluşturmasına gerek kalmadan bölgenin tekrar kullanılmasını sağlaması,
- Görünüş olarak estetik olması,
- Kirletilmiş alanların başka yerlere taşınmasına gerek olmadığında kirleticilerin yayılmasını azaltması,
- Birden fazla kirleticiler tarafından kirletilmiş alanların arıtımı için kullanışlı olmasıdır.

Dezavantajları;

- Bitkinin büyümesi ve gelişmesi için biyolojik ve coğrafik şartlara gereksinim duyması,
- Bitkinin kitleciye karşı direnç ve toleransına göre başarı göstermesi,
- Bitkinin dökülen kısımlarında biriken kirleticilerin tekrar toprağa karışması,
- Hasat edilen bitki yakıt olarak kullanıldığında kirleticilerin tekrar çevreye verilmesi,
- Uzun vadeli bir süreçten sonra sonuç alınması
- Kirleticileri toplayan bitkilerin hasatından sonra değerlendirilme şekli bu fitoremediasyon tekniğinde dezavantaj bir durum oluşturmaktadır [18].

1.7. Literatür Özeti

Su kirliliği ve zararları artık bütün dünyanın meselesi haline gelmiştir. Sularda meydana gelen kirlenmelerin suçlu bitkilere etkilerini saptamak için ve suçlu bitkiler kullanarak kirletilmiş suların temizlenebilmesi için bilim adamları tarafından birçok çalışma yapılmıştır.

Paiva ve arkadaşları (2009), *Eichhornia crassipes* bitkisini 0, 2 ve 4 gün süreyle 1 ve 10 mM Cr(III) (Cr_2O_3) ve Cr(VI) ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)'ya maruz bırakarak, krom akümüasyonu, gaz değişimi ve fotosentetik pigment içeriğini incelemişlerdir. Sonuçta, Cr(VI)'nın fotosentetik pigment içeriği ve gaz değişimini olumsuz yönde etkilediği ayrıca, Cr(VI)'ya maruz bırakılan bitkilerin Cr akümüasyonunun daha fazla olduğu belirlenmiştir [3].

Sinha ve arkadaşları (2005), *Pistia stratiotes* sucul bitkisini Cr(VI) ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)'nın artan süre (48, 96 ve 144 saat) ve konsantrasyonlarına (0, 10, 40, 80 ve 160 μM) maruz bırakmışlar ve bitkinin biyolojik cevabını incelemişlerdir. Sonuçta, Cr akümüasyonunun süre ve konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir [4].

Duman ve arkadaşları (2010), yaptıkları çalışmada sucul bir bitki olan *Ceratophyllum demersum* L.'nin Cr(VI)'ya karşı oluşturduğu biyolojik cevabını incelemeyi amaçlamışlardır. *C. demersum* örneklerini 6 gün boyunca 1, 5 ve 10 mM krom ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)'a maruz bırakmışlar ve Cr akümüasyonu, bitki büyümesi, lipit peroksidasyonu, iyon kaçıışı, fotosentetik pigmentasyon, protein ve prolin içeriğinin konsantrasyona bağlı değişimler incelenmiştir. *C. demersum*'un önemli miktarda kromu akümüleyebildiği belirlenmiştir. En yüksek Cr akümüasyonunu, 10 mM Cr uygulamasında 19.6 mmol/g (kuru ağırlık) olarak saptamışlardır. Genel olarak, Cr akümüasyonuna karşı *C. demersum* büyüme oranı ve fotosentetik pigmentasyonda azalma; iyon kaçıışı, lipit peroksidasyonunda ise artış ile cevap verdiğini bu çalışmadan elde edilen bulguların, kirletilmiş suların sucul bitkilerle arıtım çalışmalarına faydalı olabileceğini bildirmişlerdir [19].

Ganesh ve arkadaşları (2008), yaptıkları çalışmada sucul bir bitki olan *Pistia stratiotes* L. ve karasal bitki olan *Glycine max* L. bitkilerini kullanmışlardır. Bu bitkileri 0, 5, 10, 25, 50, 100, 200 mg/L konsantrasyonlarda potasyum dikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) çözeltisiyle muamele etmişlerdir. Toplam klorofil, karoten, protein, aminoasit, gibi biyokimyasal parametreler ile katalaz ve peroksidaz gibi enzim parametrelerini gözlemlemişlerdir. Soya fasülyesi fidesi ve su marulunun enzim aktivitelerinin, bütün biyokimyasal içeriklerinin krom akümüasyonunun artışıyla büyük çeşitlilik gösterdiği kaydedilmiştir. Krom akümüasyonunun krom konsantrasyonunun artmasıyla kademeli olarak arttığı belirlenmiştir. Karasal bitki soya fasülyesinin krom stresine karşı sucul bitki olan su marulundan daha hassas olduğunu tespit edilmiştir [20].

Maine ve arkadaşları (2004), alan çalışması yaparak *Pistia stratiotes* ve *Salvina herzogii* bitkilerinin Cr(III) kontamine olmuş sulardan kromun kaldırılmasını ve bu bitkilerin biyolojik cevabını araştırmışlardır. Her iki bitkininde 1, 2, 4 ve 6 mg/L Cr(III) konsantrasyonlarında kromu akümüle ettiklerini ve *S. herzogii* bitkisinin daha başarılı olduğunu saptamışlardır. 1mg/L krom konsantrasyonda bitki köklerinin yüksek seviyede kromu akümüle ettiğini belirlemişlerdir. Ayrıca 4 ve 6 mg/L krom konsantrasyonlarında *P. stratiotes* bitkisinde kromun neden olduğu toksik etki belirlenmiştir. Krom alınımının ilk yirmi dört saatte en hızlı olduğunu saptamışlardır [21].

Sinha ve arkadaşları (2009), üç farklı bitki türünün krom toleransına antioksidanların rolünü araştırmışlardır. Yaptıkları deneyde 6 farklı tabakhane çamurunda *Vigna caricata*, *V. radiata* ve *Brassica juncea* olmak üzere üç adet bitki türünü yetiştirmişlerdir. Araştırmacılar krom translokasyonunu *B. juncea* tohumunda diğer iki bitki kültüründen yüksek bulmuşlardır. Tabakhane çamurunun altında büyüyen bütün bitkilerin antioksidan ve protein içeriğinde artış gözlemişlerdir. Bununla birlikte bütün antioksidan seviyeleri *B. juncea* da diğer iki bitkiden yüksek olduğunu bildirmişlerdir. *B. juncea*'nın MDA içeriğinde artışın diğer iki kültürün artışına göre düşük olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada krom stresine *B. juncea* türünün diğer iki türden daha toleranslı olduğunu belirlemişlerdir [22].

Keskinhan ve arkadaşları (2004), *Ceratophyllum demersum* bitkisinin, kurşun, çinko ve bakır adsorbsiyon yeteneklerini araştırmışlar ve sonuçları diğer sucul bitkilerle karşılaştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada ilk olarak *C. demersum* bitkisinin kurşun, çinko, bakır solüsyondan kaldırma yeteneğinde olduğunu saptamışlardır. Metal alınımının hızlı olduğunu ve 20 dakikada dengeye geldiğini gözlemlemişlerdir. *C. demersum* bitkisinde maksimum adsorbsiyon kapasitesi Cu(II) için 6.17 mg/g, Zn(II) için 13,98 ve kurşun için 44,8 mg/g olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, *C. demersum* bitkisinin seyreltik metal konsantrasyon koşullarında ağır metal giderimi için başarılı şekilde kullanılacağını bildirmişlerdir [23].

Devi ve arkadaşları (1998), oksidatif bakır stresinin uyarılması ve bakır direncinin mekanizmasını anlamak için *Ceratophyllum demersum* bitkisinde antioksidan maddelerin etkisini araştırmışlardır. *C. demersum* bitkisi 24 saat boyunca 2 ve 4 µM bakır konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Bakır alınımı ile bitkide klorofil miktarı azaldığı, iyon kaçışının arttığı saptanmıştır. Bitkilerin antioksidan maddelerle ve

antioksidan enzimlerle bakır stresine yanıt verdiği gözlenmiştir. 2 ve 4 μM bakır konsantrasyonunda, bitkide APX, CAT, SOD aktivitesinde artış gözlenmiştir. 4 μM bakır konsantrasyonunda CAT ve SOD artışının 2 μM konsantrasyonuna göre daha düşük olduğunu, APX aktivitesi hemen hemen aynı olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar bakır akümülyasyonunun *C. demersum* bitkisinde oksidatif strese neden olduğunu ve bitkilerin stres toleransının antioksidan kapasitesine bağlı olduğunu bildirmişlerdir [24].

Aravind ve Prasad (2004), *Ceratophyllum demersum* bitkisinde çinko ve kadmiyum elementlerinin interaktif ilişkilerinin fotosentetik elemanlara etkisini araştırmışlardır. Bitki 10, 50, 100 ve 200 μM Çinko ile sadece 10 μM Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Araştırmacılar Cd toksisitesinden dolayı klorofil a, b ve karetonoid içeriğinde azalma gözlemişler ve Cd'un kloroplast membran yapısının bozabileceği sonucuna ulaşmışlardır. Sonuç olarak fotosentez oranı, elektron taşıma süreci ve fotosentetik aktivitenin değiştiğini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada çinko ilavesinin kloroplast ve ilgili fotosentetik fonksiyonların yapısını koruduğu tespit edilmiştir. Bitkinin sadece çinko elementine maruz bırakıldığında seçilen parametrelerde önemli fark olmadığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, *C. demersum* bitkisinde normal fotokimyasal sürece Cd'un neden olduğu toksisiteyi çinkonun hafiflettiğini tespit etmişlerdir [25].

Mishra ve arkadaşları (2009), *Ceratophyllum demersum* bitkisinde kadmiyum stresi altında tiyol seviyesi ve ilgili enzimlerin aktivitesini araştırmışlardır. *C. demersum* bitkisi 1, 2, 4 ve 7 gün süreyle 0, 1, 5, 10 μM Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Bitkide en fazla akümülyasyon 7 gün 10 μM uygulamasında 1293 $\mu\text{g/g}$ olarak gözlemişlerdir. Fitojelatin dahil olmak üzere toplam nonprotein tiyol seviyesinde artış kaydetmişlerdir. Ek olarak sistein sentaz (CS), glutasyon redüktaz (GST) glutasyon-S-transferaz (GR) aktivitelerinde önemli artış gözlemişlerdir. Sonuç olarak Cd stresi altında bitkinin Cd toksisitesiyle mücadele ettiği, kordinali bir tiyol sentez ve tüketimiyle Cd stresine karşı direnç gösterdiği bildirilmiştir [26].

Mishra ve arkadaşları (2006), *Ceratophyllum demersum* bitkisini 1, 2, 4 ve 7 gün süreyle 1, 10, 25, 50 ve 100 μM kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakarak, bitkinin fitotoksik ve tolerans cevabı araştırmışlardır. Bitkinin 7 günde 1748 $\mu\text{g/g}$ kurşun akümüle ettiğini ve metallerin % 70'inin (1222 $\mu\text{g/g}$) sadece bir gün sonra akümüle edildiğini belirlemişlerdir. Konsantrasyon ve süre artışıyla birlikte bitkinin biyokütle ve

fotosentetik pigmentinde azalma, MDA içeriğinde ve elektiriksel iletkenliğinde artış tespit etmişlerdir. 7 günde yapraklarda klorosis ve parçalanma gibi morfolojik semptomlar gözlemişlerdir. Düşük konsantrasyonlarda protein, SOD, APX, CAT, glutatyon reduktaz (GR) gibi antioksidan enzimlerinde azalma gözlemlendiğini, 1 günden sonra GPX dışında bütün enzimlerin maksimum aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Azalan konsantrasyonla birlikte sistin, tiyol, içeriğinde bir artış kaydetmişlerdir. Bitkinin 10-50 μM kurşun konsantrasyonunda önemli seviyede fitojelatin sentezlendiğini belirlemişlerdir. Sonuç olarak bitkinin orta kirli kurşuna sahip sucul çevrede fitorematör olarak kullanılabilir olduğunu kaydetmişlerdir [27].

Mishra ve arkadaşları (2008), arsenik detoksifikasyonun altında yatan mekanizmayı araştırmak için 0, 10, 50, 250 μM arsenik (As) konsantrasyonlarına 1, 2, 4 ve 7 gün süreyle *Ceratophyllum demersum* bitkisini maruz bırakmışlardır. Bitkilerin 50 μM , 4 gün As uygulamasına kadar etkili tolerans gösterdiği, bitki büyümesine önemli etkinin gözlenmediği ve 76 $\mu\text{g/g}$ As akümüle ettiği sonucuna ulaşmışlardır. Fitojelatin gibi çeşitli tiyol seviyelerinde, antioksidan enzim aktivitelerinde ve arsenik reduktazda artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bitkinin 205 μM As 7 gün uygulamasında yüksek miktarda arsenik akümüle ettiği sonucuna ulaşmışlardır. As akümüasyonu ve çeşitli detoksifikasyon stratejisi arasında ters ilişki gözlemlendiğini, oksidatif stres ile birlikte büyümenin azaldığını bildirmişlerdir[28].

Sun ve arkadaşları (2008), *Ceratophyllum demersum* bitkisinde tetrabromisfenol (TBBPA)'nın biyoakümüülasyonunu ve fizyolojik etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada *C. demersum* 1, 2, 4, 7 ve 14 gün süreyle 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 ve 1 mg/L TBBPA konsantrasyonlarına maruz bırakılmış, 4 günlük maruziyette yüksek miktarda TBBPA'nın akümüle olduğunu belirlenmiştir. Araştırmacılar elektron paramanyetik rezonans (EPR) kullanarak bitkide toplam serbest radikal oluşumunun attığını saptamışlardır. Bitkide TBBPA konsantrasyonunun artmasıyla serbest radikal oluşumu arasında pozitif ilişki bulunduğunu belirtmişlerdir. TBBPA uygulamasından sonra lipit peroksidasyonunun arttığını, klorofil içeriğinin azaldığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, *C. demersum* bitkisinde TBBPA akümüülasyonunun oksidatif strese sebep olduğunu ve bitkinin TBBPA'ya tolerans seviyesinin antioksidan kapasitesine bağlı olduğunu sonucuna ulaşmışlardır [29].

Aravind ve arkadaşları (2005), *Ceratophyllum demersum* bitkisinin temel mikrobesin elementi çinko (Zn) ve eser element kadmiyum (Cd) maruziyetinde askorbat-glutatyon

döngüsü ve glutasyon mekanizmasına etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada 10 μM Cd ve 10, 50, 100, 200 μM Zn konsantrasyonlarına *C. demersum* bitkisini bir hafta süreyle maruz bırakmışlardır. 10 μM Cd tiyol içeriğinin azaldığını, oksidatif stresin işareti askorbat (AsA), glutasyon (GSH), droaskorbat (DHA) ve glutasyon disülfid (GSSG)'te ise artış belirlemişlerdir. 10 μM Cd a çinko ilave edildiğinde tiollerin etkili şekilde onarıldığını, ASA oksidasyonunun inhibe edildiğini belirlemişlerdir. 10 μM Cd maruziyetinde APX aktivitesinin hafifçe azaldığını, monodehidro askorbat redüktaz (MDHAR), droaskorbat redüktaz (DHAR), glutasyon redüktaz GR), askorbat-glutasyon döngü enzimlerinin (AGC) inhibe edildiğini belirlemişlerdir. Çinko ilavesiyle AGC enziminin bütün fonksiyonel etkisinin arttığı ve tamir edildiğini gözlemişlerdir [30].

Mechora ve arkadaşları (2011), *Ceratophyllum demersum*, *Myriophyllum spicatum* bitkileri tarafından selenyum alınımını ve selenyumun bitkilerdeki fizyolojik karakterlere etkilerini araştırmışlardır. Bitki dış ortamda yarı kontrollü şartlar altında otuz bir gün süre ile 20 $\mu\text{g/L}$ ve 10 mg/L konsantrasyonlarında sodyum-selenat solusyonuna maruz bırakılmıştır. 10 mg/L selenyum konsantrasyonunda yüksek dozunda iki türde de PSII nin fotokimyasal etkisinin azaldığı, 20 $\mu\text{g/L}$ PSII aktivitesine bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. 10 mg/L Se maruziyetinde 8-13 günde içerisinde *M. Spicatum* bitkisinin büyümesi ortalama 122+-12 $\mu\text{g/g}$, *C. demersum* bitkisinde ise 492+-85 $\mu\text{g/g}$ olarak belirlenmiştir. Her iki bitkininde önemli miktarda selenyum alınımını gerçekleştirdiği bildirilmiştir [31].

Singh ve arkadaşları (2010), *Najas indica* sucul makrofitine kurşun birikiminin antioksidant sisteme etkisini araştırmışlardır. *N. indica* bitkisi 1, 2, 4 ve 7 gün süreyle 1, 10, 50 ve 100 μM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Bitkinin 7 gün süre ile 100 μM kurşun maruziyetinde kurşunun büyük miktarını (3554 $\mu\text{g/g}$ dw) akümüle ettiği belirlenmiştir. Araştırmacılar kurşunun neden olduğu oksidatif stresten dolayı MDA, EC ve H_2O_2 içeriğinde artış gözlendiğini, strese cevap olarak SOD, APX, CAT ve GR gibi antioksidan enzim aktivitelerinde artış gözlendiğini belirtmişlerdir. Ayrıca kurşun maruziyetindeki bitkinin Glutasyon-S-transferaz ve sentaz aktivitesinde önemli artış gösterdiğini kaydetmişlerdir. Kurşunun sebep olduğu toksisitenin görülebilir semptomları 4 gün sonra 50 μM konsantrasyonda klorosis ve yapışkan akıntıyla yapraklarda parçalanma olarak kaydedilmiştir. Araştırmacılar bitkinin yüksek

kurşun içeren sucul sistemde fitoremediasyon olarak kullanılabilir olduğunu bildirmişlerdir [32].

Dazy ve arkadaşları (2008), *Fontinalis antipyretica* bitkisinde Cr(III) ve Cr(VI) türlerinin antioksidan etkisini araştırmışlardır. Kroma maruz bırakılan *F. antipyretica* (su yosunu) bitkisinin detoksifikasyon mekanizması araştırmacılar tarafından analiz edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada krom nitrat, klorit ve potasyum bikromat tuzlarının etkisini de araştırmışlardır. Bitki $6,25 \times 10^{-5}$ -6,25 mM aralığında $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Krom konsantrasyonunun artmasıyla bitkide SOD, CAT, APX, GR gibi antioksidan enzimlerin aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Araştırmacılar bitkide sadece $6,25 \times 10^{-2}$ mM dan yüksek CrCl_3 ve $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ konsantrasyonlarında antioksidan etki belirlemişlerdir. Yapılan çalışmada kromun Cr(III) ve Cr(VI) kadar zararlı olan nitrat tuzu olarak çevrede bulunduğu *F. antipyretica* bitkisinin hücrel aktivitesinin bozulmasına sebep olduğu bildirilmiştir [33].

Monferran ve arkadaşları (2009), bakır elementinin *Potamogeton pusillus* bitkisinde fizyolojik ve antioksidan enzimlerine etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar *Potamogeton pusillus* bitkisini 1, 2, 4 ve 7 gün süreyle 5, 20, 40 ve 100 µg/L bakır konsantrasyonuna maruz bırakmışlardır. Bitkide klorofil, MDA, EC, GPX aktiviteleri incelemişlerdir. Bitkinin 100 µg/l bakır konsantrasyonuna 7 gün maruz kaldıktan sonra 162 µg/g dw akümüle ettiği, metallerin çoğu bir gün maruziyetten sonra akümüle edildiği belirlenmiştir. Bakırın sebep olduğu toksik etki, fotosentetik pigment azalışı, MDA ve EC artışı ile belirlenmiştir. Bitkide antioksidan enzim aktivitesi 24 saat süreyle 40 µg/L bakır maruziyetinden sonra önemli derecede arttığını, ilerleyen zamanda düşüş gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmacılar *P. pisillus* sucul ekosistemde metal kirliliğinin değerlendirilmesi için iyi bir biyomonitör olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir [34].

Srivastava ve arkadaşları (2006), *Hydrilla verticillata* bitkisinde bakırın sebep olduğu oksidatif strese antioksidaların ve fitojelatinlerin cevabını araştırmışlardır. Bitki örneklerini 1, 2, 4 ve 7 gün süreyle 0, 0.1, 1, 5 ve 25 µM bakır konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Yapılan çalışmada 7 gün 25 µM uygulamasında bitkinin 770 µg/g bakırı akümüle ettiğini belirlemişlerdir. Fotosentetik pigment içeriklerinin 1µM bakır konsantrasyona kadar çok az etkilendiğini, artan konsantrasyonla birlikte fotosentetik pigment içeriğinde önemli bir artış olduğunu kaydetmişlerdir. EC ve MDA içeriğinde

artan konsantrasyonla birlikte artış gözlenmiştir. Sonuç olarak bakır maruziyetine karşı bitkinin yüksek akümülyasyon yeteneği ve tölöransından dolayı bakır tarafından kirlenmiş kirlili sularda remediasyon için uygun olduğu ifade edilmiştir [35].

Hou ve arkadaşları (2007), bakır ve kadmiyum ağır metali ile kirlenmiş suların restorasyonunda *Lemna minör*'ün etkisini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada protein ve fotosentetik pigmentlerin içeriğindeki değişiklikleri, bakır sülfat ve kadmiyum kloritinin neden olduğu antioksidan enzim aktivitesini çalışmışlardır. *L. minör* bitkisi, Cu^{+2} ve Cd^{+2} metallerinin 0, 0.5, 5, 10 ve 20 mg/L konsantrasyonlarına maruz bırakılmış ve bitkinin 10 mg/L krom ve 0,5 mg/L kadmiyum konsantrasyonlarında yüksek konsantrasyonda antioksidan enzimlerinin parçalandığını tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada kadmiyumun bakırdan daha toksik olduğu gözlenmiştir. *L. minör* bitkisinin düşük seviyede bakır ve kurşun içeren sularda fitoremediasyon için uygun bir bitki olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak *L. minor* bitkisinin sularda düşük seviyede bakır ve kadmiyumun un fitoremediasyonu için uygun olduğunu bildirmişlerdir [36].

Yapılan literatür taramalarında farklı Cr türlerine maruz bırakılan bitkilerde uygulama konsantrasyonu ve uygulama sürelerinin canlının biyolojik cevabı üzerine tekli ve birlikte etkileri ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada farklı konsantrasyon ve sürelerde, farklı krom türlerine maruz bırakılmış *Ceratophyllum demersum* bitkisinin biyolojik cevabının incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca süre ve konsantrasyonun tekli ve birlikte etkileri araştırılmıştır.

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2. 1. *Ceratophyllum demersum*

Tablo 2. 1. *Ceratophyllum demersum* bitkisinin sistematığı

Alem:	Plantae
Bölüm:	Magnoliophyta (Angiospermler, çiçekli bitkiler)
Sınıf:	Magnoliopsida (Dikotiledonlar)
Alt Sınıf:	Magnoliidae
Ordo:	Nymphaeales
Familya:	Ceratophyllaceae
Cins:	<i>Ceratophyllum</i>
Tür:	<i>C. demersum</i> L.

Ceratophyllaceae (Boynuzotugiller)

Suya batık olarak yaşayan, köksüz, çok yıllık otsu bitkilerdir. Yaprakları dairesel diziliş göstermektedir. Çiçekler tek eşeyli olup erkek ve dişi çiçekler ayrı nodyumlarda bulunmaktadır. Üst durumlu olan ovaryum, 1 lokuluslu, 1 karpelli ve 1 tohumludur [37].

Ceratophyllum

Yeşilimsi dişi ve beyazımsı erkek çiçekleri taşırlar. Çiçekler 15 adet stamen taşımaktadır. Meyvanın uç kısmı dikenlidir [37].

1. Yapraklar 1 veya iki kez parçalanır, meyvada 2 yanal diken var.....*C. demersum*
2. Yapraklar 3 veya 4 kez parçalanır, meyvada yanal diken yok.....*C. submersum*

Ceratophyllum demersum

Gövdesi en az 15 cm uzunluğunda olan bitkinin yaprakları 6-16 mm uzunluktadır. Meyva boyutu 4-5 x 2-2.5 mm olup, meyva ucunda bulunan diken 4-6 mm, meyva tabanında bulunan geriye kıvrık yanal dikenler 2-3 mm. uzunluktadır [37]. *C. demersum* sığ, çamurlu, sakin sularda yetişen, kozmopolit yayılış gösteren, düşük ışık şiddetine toleranslı submerged (tamamı suya batık) bitkidir. Köksüz bir bitki olduğundan dolayı besinlerini tüm vücuduyla sudan karşılamaktadır [38, 39]. *C. demersum*, besin zincirinin birinci halkasını oluşturması, fitoplanktonların gelişmesini etkileyen alleokimyasalları üretmesi ve ağır metaller gibi kirleticileri bünyelerinde akümüle etmelerinden dolayı sucul ekosistemler için önemlidir [40].

2.2. Deney Materyalinin Toplanması ve Deney Düzeneginin Hazırlanması

Temmuz 2010 tarihinde Sultan Sazlığı'ndan *C. demersum* örnekleri toplanarak laboratuara getirildi. Laboratuara getirilen örnekler çeşme suyu ile yıkandı. Örnekler %10'luk hoagland solüsyonu içeren kaplar içerisine alınarak iklimlendirme dolabında üç gün süre ile laboratuvar ortamına alıştırdı. İklimlendirme dolabının sıcaklığı 15 °C, bağıl nem %70, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı.

2.3. Deney düzenegi

Deneylere başlamadan önce kaplar %1'lik NaClO ile 3-5 kez dezenfekte edildi. Daha sonra 3 kez distile su ile yıkandı. Deney düzenekleri hem Cr(III) hem de Cr(VI) için ayrı ayrı hazırlandı. Deneyler üçlü tekrar halinde kuruldu. Cr(III) ve Cr(VI) için stok solüsyonlar hazırlandı. Cr(III) için krom klorür ($CrCl_3$), Cr(VI) için potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) kullanıldı. 400 ml' lik beherglaslar içerisine %10'luk hoagland solüsyonu içerecek şekilde hem Cr(III) hem de Cr(VI)'nın 1, 2, 5, 10 mM'lık çözeltileri hazırlandı [35]. Kontrol örneği olarakta sadece %10'luk hoagland solüsyonu içeren çözelti kullanıldı. Hazırlanan beherglaslar içerisine yaklaşık olarak 5 gr bitki konuldu. Beherler daha önce belirtilen şartlarda iklim dolabında 1, 2, 4 ve 7 gün süre ile bekletildi. Bekleme süresi sonunda, bitkiler iklim dolabından alınarak plastik elek ile süzülde, distile suda yıkandı ve 2 dakika süre ile kağıt havlu üzerinde bekletilip kurulandı. Bitkilerin ağırlıkları tartılarak kaydedildi.

2.4. Göreceli Büyüme Oranı

Göreceli büyüme oranı (GBO) değerlerini saptamak için, deneye başlarken beherglaslara konulan bitki ağırlığı ve deney sonunda bitki ağırlığı kullanıldı. GBO değerleri, her bir örnek için Cedergreen (2008)' e göre ($GBO = \frac{\ln(W_2) - \ln(W_1)}{(t_2 - t_1)}$) hesaplandı [41]. Formülde, W_1 değeri deneyin başlangıcında beherglaslara konulan bitki ağırlığı, W_2 deney sonlandırıldıktan sonraki bitki ağırlığını, $(t_2 - t_1)$ ise deneyin periyodunu göstermektedir.

2.5. Krom akümülyasyonunun belirlenmesi

Kurulanmış örneklerden ortalama 2-3 gr tartılarak temiz zarflara konuldu. Etüv içerisinde 70°C ' de kurutuldu. Kurutulan örneklerden yaklaşık 0.3-0.5 gr tartıldı. Daha sonra 10ml HNO_3 (Merck) eklenerek, CEM Mars 5 model mikrodalga fırında çözüldü (CEM Corporation Matthews, NC, USA). Mikrodalga çözme sisteminin çözündürme koşulları maksimum güç 1200 Watt, güç %100, ramp 20 dakika, basınç 180 Psi, sıcaklık 180°C ve bekletme süresi 10 dakika olacak şekilde ayarlandı. Çözme işleminin ardından örnekler tüplere konularak 4000 g^{-1} de 30 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan kısım alınarak saklama tüplere aktarıldı ve double distile su ile 50 ml' ye tamamlandı. Cr tayini ICP-MS (Agilent, 7500a) ile yapıldı. Sertifikalı referans materyal olarak BCR-670 (Aquatic plant) kullanıldı. Cihazın stabilitesini değerlendirmek için her on örnekte bir standart okuması yapıldı. Analitik yöntemi ve olası kontaminasyonu belirlemek için blank solüsyonu hazırlandı. Örnekler 3 kez analiz edildi. Kullanılan tüm kimyasalların analitik saflıkta olmasına dikkat edildi.

2.6. İyon kaçıışı

İyon kaçışımı belirlemek için elektriksel iletkenlik değişimi ölçüldü [24]. İyon kaçışımı hesaplamak için deney bitiminde süzülen örneklerden 0.5 gr bitki tartıldı, 100 ml distile su bulunan beherlere konuldu ve 24 saat bekletildi. 24 saat sonunda suyun elektriksel iletkenlik değerleri WTW Multi 3400i marka iletkenlik ölçer ile ölçülerek belirlendi.

2.7. Lipit peroksidasyonu

0.5 gr bitki örneği, içerisinde %0.5'lik tiobarbitürik asit bulunan %20'lik TCA içerisinde (3 ml) homojenize edildi. Homojenat 95°C 'de 30 dakika inkübe edildi ve reaksiyon 5-

10 dakika süre ile buza alınarak durduruldu. Örnekler 10000 x g' de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alınarak 532 ve 600 nm'deki absorbans değerleri ölçüldü. Malondialdehit (MDA) miktarı, Heath and Packer (1968)'in formülü referans alınarak hesaplandı [42].

2.8. Protein tayini

500 mg bitki örneği, 0.1mM EDTA ve %1'lik Polivinilpirolidon (PVP) içeren 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0) içerisinde homojenize edildi. Homojenat 15 000 x g' de ve +4°C' de 15 dakika santrifüj edildi. Protein içeriği, Lowry ve ark. (1951), sığır serum albümini standart alınarak tayin edildi [43].

2.9. Klorofil ve karotenoid tayini

Deney sonunda beherglaslardan alınan yıkanmış örneklerden 0.1 gr tartıldı, %80 lik aseton stok çözeltisi hazırlandı. Her bir örnek 10 ml aseton çözeltisinde homojenize edilerek tüplere konuldu. Tüplerdeki örnekler buzdolabında 48 saat karanlık ortamda bekletildi. 48 saat sonunda 4000 x g' de 10 dakika santrifüj edildi ve 480, 510, 645, 663 nm' de absorbans değerleri belirlendi. Klorofil içeriğinin hesaplanmasında Arnon (1949), karotenoid içeriğinin hesaplanmasında ise Duxbury ve Yentsch (1956)'in öngördüğü formüller kullanıldı [44, 45].

2.10. Prolin tayini

Prolin miktarının belirlenmesinde, Bates (1973)'ün belirlediği metot kullanıldı [46]. 0.3 gr bitki örnekleri tartıldı, her bir örnek için %3 lük sülfosalisilik asitten 5 ml alınarak tartılan bitki havanda homojenize edilerek cam tüplere aktarıldı. Daha sonra 5000 x g' de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatanttan 2 ml alındı ve 2 ml asetik asit (glasiyal asetik asit) eklenerek çalkalayıcıda karıştırıldı. Son olarak 2 ml ninhidrin eklendi ve çalkalandı. Kör olarak toluenin 520 nm' de absorbans değerleri kullanıldı.

2.11. Antioksidan Enzim Tayini

SOD aktivitesini belirlemek için, 20mM sodium fosfat (pH 7.5), 10 mM metiyonin, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM nitro blue tetrazolium (NBT), 5 mM riboflavin ve 50 µg mL⁻¹ enzim ekstraktı içeren reaksiyon karışımı son hacim 3 ml olarak hazırlandı. SOD

aktivitesi, 560 nm'de ölçülen NBT'nin % 50'sinin inhibisyonu için gereken enzim miktarı olarak ifade edilmiştir.

Katalaz (CAT) aktivitesini ölçmek için 50 mM Tris-HCl (pH 7.0), 0.1 mM EDTA, 1 mM fenil metil sülfonil florür (PMSF) ve 1% PVP içeren ekstraksiyon buffer hazırlandı. 2.5 mL 50 mM Sodyum fosfat tamponu (pH 7.0), 300 µL 20 mM H₂O₂ ve eşdeğer enzim içeren reaksiyon karışımı hazırlandı. 240 nm'de ölçüm yapıldı. Enzim aktivitesi ünite/mg protein olarak verildi.

2.12. İstatistik

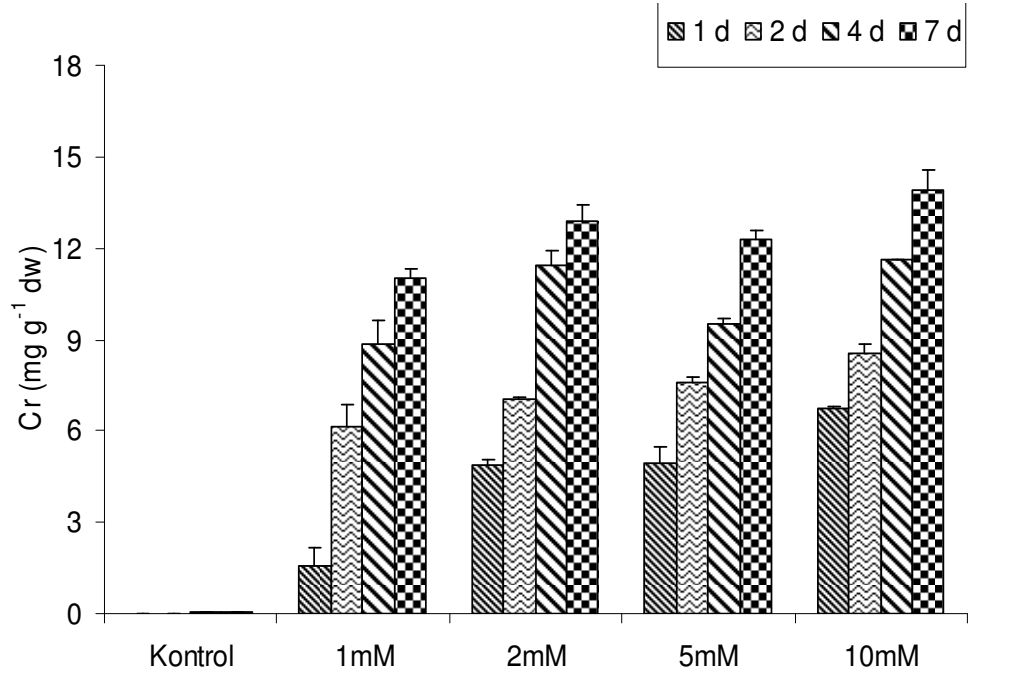
Deneyle üç tekrarlı olarak yapıldı (n=3). Dataların normal dağılıp dağılmadığını ve varyansların homojenliğini test etmek için Kolmogorov-Smirnov ve Levene testleri kullanıldı. Varyansların heterojenitesi durumunda ise datalara ln (x+1) dönüşümü uygulandı. Uygulamalar arasındaki farklılığın önemliliğini test etmek için ANOVA ve post-hoc Tukey tesleri yapıldı. Süre ve konsantrasyonun her parametre üzerine etki büyüklüklerini ve önemliliği test etmek için iki yönlü varyans analizi (Two-way ANOVA) yapıldı. Süre ve konsantrasyonun sinerjistik veya antogonistik etkilerini belirlemek için kısmi eta kare (partial η^2) değeri hesaplandı. Ayrıca çalışılan parametreler ile Cr akümülyasyonu arasındaki ilişkiyi belirlemek için korelasyon testi yapıldı. İstatistiksel önemlilik eşik değeri olarak 0.05 kabul edildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS 15.0 paket programı ile yapıldı.

3. BÖLÜM

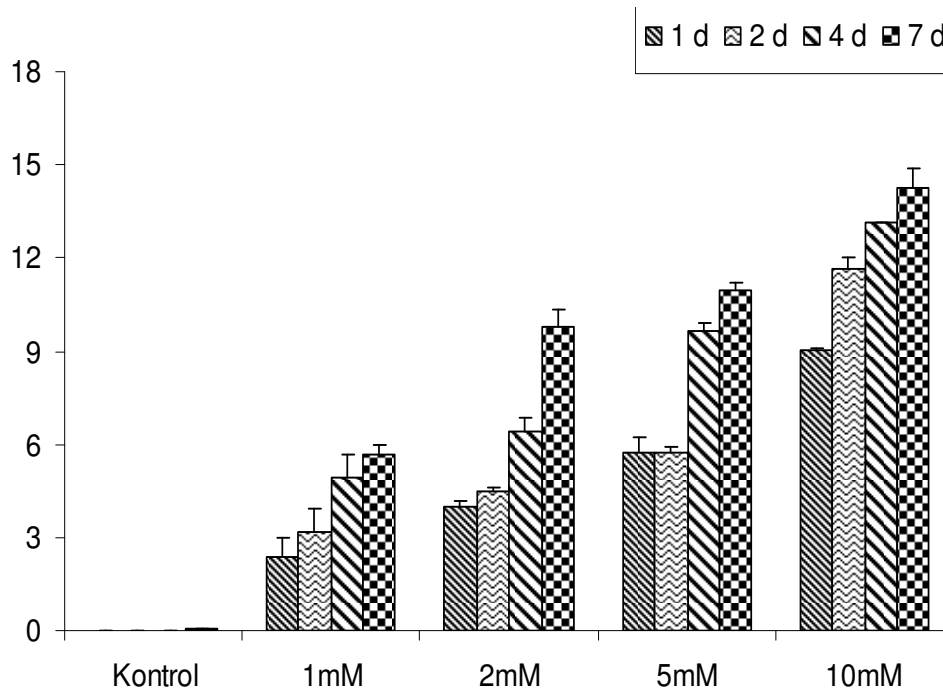
BULGULAR

3.1. Akümülayon

Bu alışmada, Cr(III) uygulaması için en yüksek Cr akümülayon 10 mM ve 7 gün (13.89 mg g⁻¹dw), Cr(VI) uygulaması için ise 10mM 7 gün uygulamasında (14.26 mg g⁻¹dw) tespit edilmiştir (şekil 3.1, 3.2).



şekil 3. 1. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde Cr akümülayonu (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal ubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 2. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde Cr akümülayonu (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre Cr(III) uygulaması için, Cr akümülayonunun süre bağımlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Tablo 3.1). Ancak, 2 mM Cr(III) uygulaması için belirlenen Cr akümülayonunun 5 mM uygulamasına göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 3.2).

Tablo 3. 1 Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde krom akümülayonu için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup			
		1	2	3	4
1	15	3.58287			
2	15		5.85995		
4	15			8.29421	
7	15				10.71848

Tablo 3. 2. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde krom akümülayonu için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12	0.026			
1	12		6.88949		
2	12				9.93513
5	12			8.2196	
10	12				10.19682

Cr(VI) uygulamasında 1 ve 2 gün uygulamaları arasında önemli bir fark bulunamamış, ancak 4 ve 7 gün uygulamaları ise 1 ve 2 gün uygulamalarından yüksek bulunmuştur. 4 ve 7 gün uygulamaları arasında da önemli bir istatistiksel fark bulunamamıştır (Tablo 3.3). Yine Cr(VI) uygulamasının konsantrasyon bağımlı olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.4).

Tablo 3. 3. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde krom akümülayonu için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup	
		1	2
1	15	4.21799	
2	15	5.02085	
4	15		6.8269
7	15		8.13022

Tablo 3. 4. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde krom akümülayonu için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup				
		1	2	3	4	5
0	12	0.02485				
1	12		4.03422			
2	12			6.14829		
5	12				8.01593	
10	12					12.02167

Tablo 3.5'ten görüldüğü gibi, Cr(III) uygulamasında hem uygulama süresi ($\eta^2=0.958$, $p<0.001$) hem de konsantrasyonun ($\eta^2=0.978$, $p<0.001$) Cr akümülyasyonu üzerinde önemli etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, Cr akümülyasyonu üzerine önemli düzeyde konsantrasyon-süre interaksyonu belirlenmiştir ($\eta^2=0.882$, $p<0.001$). Cr(VI) uygulamasında benzer olarak Cr akümülyasyonu üzerine hem konsantrasyon ($\eta^2=0.897$, $p<0.001$) hem de süre ($\eta^2=0.56$, $p<0.001$) etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak, Cr(VI) uygulaması için önemli düzeyde süre-konsantrasyon interaksyonu belirlenememiştir ($\eta^2=0.328$, $p=0.122$).

Tablo 3. 5. Cr(III) ve Cr(VI) nin süre, konsantrasyon, süre-konsantrasyon etkisi

	Cr (III)				Cr (VI)			
	d.f.	F	P	Effect size*	d.f.	F	P	Effect size*
Akümülyasyon								
Uygulama süresi	3	304.481	<0.001	0.958	3	16.985	<0.001	0.560
Konsantrasyon	4	448.164	<0.001	0.978	4	87.124	<0.001	0.897
Uygulama süresi x Konsantrasyon	12	24.809	<0.001	0.882	12	1.630	0.122	0.328
GBO								
Uygulama süresi	3	54.369	<0.001	0.803	3	13.258	<0.001	0.499
Konsantrasyon	4	22.334	<0.001	0.691	4	104.009	<0.001	0.912
Uygulama süresi x Konsantrasyon	12	6.201	<0.001	0.650	12	2.999	0.004	0.474
EC								
Uygulama süresi	3	59.497	<0.001	0.817	3	5.876	0.002	0.306
Konsantrasyon	4	202.235	<0.001	0.953	4	94.457	<0.001	0.904
Uygulama süresi x Konsantrasyon	12	11.168	<0.001	0.770	12	2.187	0.032	0.396
MDA								
Uygulama süresi	3	0.722	0.545	0.051	3	19.239	<0.001	0.591
Konsantrasyon	4	30.358	<0.001	0.752	4	171.651	<0.001	0.945
Uygulama süresi x Konsantrasyon	12	1.326	0.243	0.285	12	6.917	<0.001	0.675
Klorofil a								
Uygulama süresi	3	44.358	<0.001	0.769	3	11.057	<0.001	0.453
Konsantrasyon	4	92.256	<0.001	0.902	4	66.629	<0.001	0.870
Uygulama süresi x Konsantrasyon	12	3.710	0.001	0.527	12	1.302	0.255	0.281
Klorofil b								
Uygulama süresi	3	48.118	<0.001	0.783	3	6.913	0.001	0.341
Konsantrasyon	4	88.629	<0.001	0.899	4	26.320	<0.001	0.725
Süre x kons.	12	8.296	<0.001	0.713	12	0.955	0.506	0.223
Karotenoid								

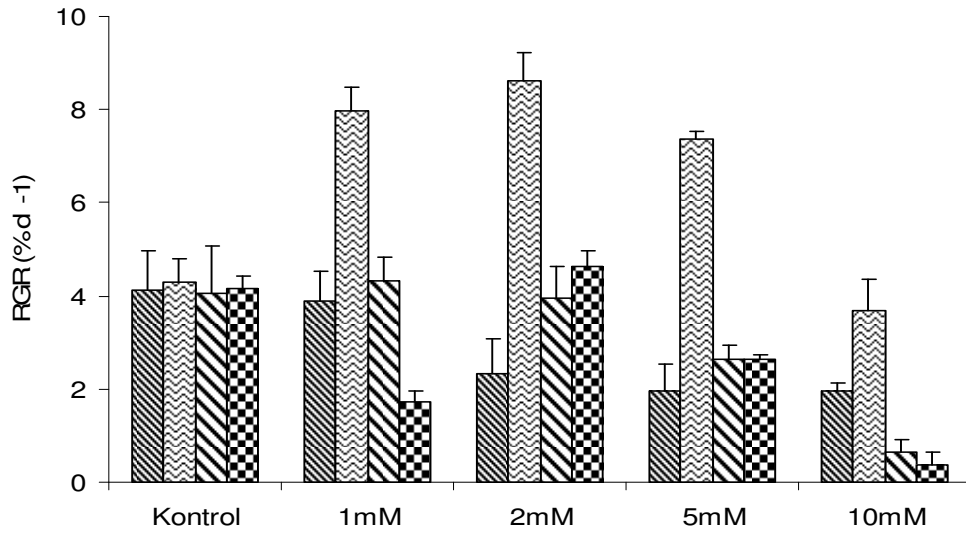
Tablo 3.5'in devamı

Uygulama süresi	3	16.705	<0.001	0.556	3	18.487	<0.001	0.581
Konsantrasyon	4	32.907	<0.001	0.767	4	66.539	<0.001	0.869
Uygulama süresi x Konsantrasyon	12	1.498	0.165	0.310	12	2.019	0.048	0.377
Prolin								
Uygulama süresi	3	2.878	0.048	0.178	3	1.005	0.400	0.70
Konsantrasyon	4	34.913	<0.001	0.777	4	188.302	<0.001	0.950
Uygulama süresi x Konsantrasyon	12	1.141	0.357	0.255	12	1.473	0.175	0.307
Protein								
Uygulama süresi	3	2.218	0.101	0.143	3	7.512	<0.001	0.360
Konsantrasyon	4	16.862	<0.001	0.628	4	86.340	<0.001	0.896
Uygulama süresi x Konsantrasyon	12	6.133	<0.001	0.648	12	7.435	<0.001	0.690
SOD								
Uygulama süresi	3	26.366	<0.001	0.664	3	3.178	0.034	0.192
Konsantrasyon	4	12.763	<0.001	0.561	4	28.089	<0.001	0.737
Uygulama süresi x Konsantrasyon	12	22.405	<0.001	0.870	12	2.750	0.008	0.452
CAT								
Uygulama süresi	3	157.627	<0.001	0.922	3	545.607	<0.001	0.976
Konsantrasyon	4	23.416	<0.001	0.701	4	415.726	<0.001	0.977
Uygulama süresi x Konsantrasyon	12	130.356	<0.001	0.975	12	296.906	<0.001	0.989

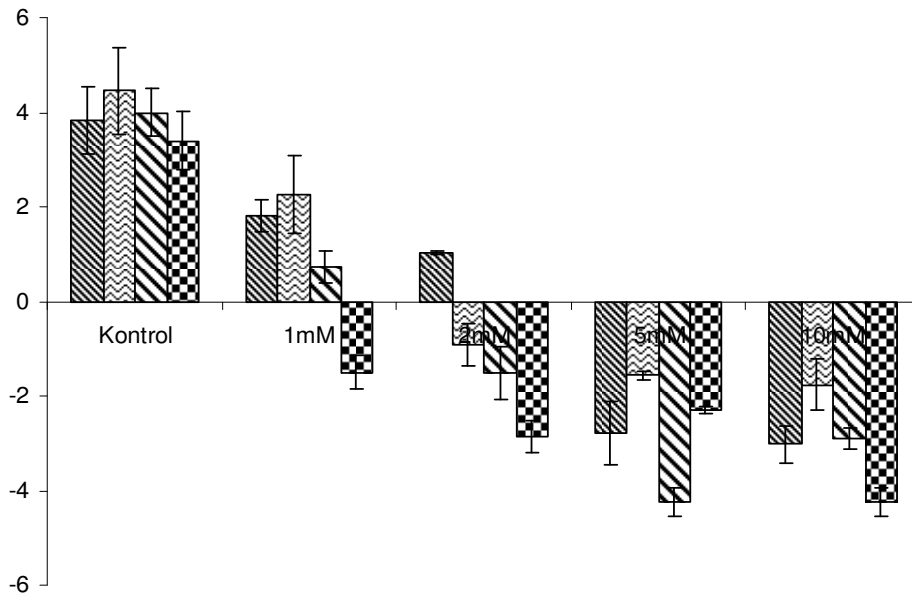
3.2. Göreceli Büyüme Oranı (GBO)

Cr(III) uygulaması için hiçbir uygulamada negatif değer bulunmazken (Şekil 3.3), Cr(VI) uygulanmasında negatif değerler gözlenmiştir (Şekil 3.4). Cr(III) uygulamasında en yüksek GBO değeri 2 mM 2 gün uygulamasında (8.61), Cr(VI) uygulaması için ise kontrol 2 gün uygulamasında (4.45) bulunmuştur. En düşük GBO değerleri ise hem Cr(III) hem de Cr(VI) için 7 gün 10 mM uygulamasında gözlenmiştir (Cr(III): 0.37; Cr(VI): -4.26). Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre 2 gün Cr(III) uygulamasındaki GBO değerlerinin diğer uygulamalara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.6). Ayrıca, 10mM Cr(III) uygulamasında elde edilen GBO değerlerinin diğer uygulamalardan düşük olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Tablo 3.7). Cr(VI) uygulaması için 1 ve 2 gün uygulamalarının, 4 ve 7 gün uygulamalarına göre yüksek olduğu (Tablo 3.8), ayrıca konsantrasyon artışına bağlı olarak GBO değerlerinin önemli düzeyde azaldığı gözlenmiştir (Tablo 3.9). Hem Cr(III) hem de Cr(VI) uygulamasında hem süre hemde konsantrasyonun etkili olduğu, ayrıca her iki uygulama için süre-konsantrasyon

etkileşiminin önemli olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.5). Cr akümüasyonu ile GBO değerleri arasında Cr(III) için istatistiksel bir korelasyon bulunamazken ($r=-0,222$, $p>0.05$) Cr (VI) için GBO değerleri ile Cr akümüasyonu arasında önemli bir ilişki belirlenmiştir ($r=-0,795$, $p<0.01$) (Tablo 3.10).



Şekil 3. 3. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde göreceli büyüme oranı (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 4. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde göreceli büyüme oranı (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).

Tablo 3. 6. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde GBO için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup	
		1	2
1	15	2.84	
2	15		6.38
4	15	3.12	
7	15	2.7	

Tablo 3. 7. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde GBO için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup				
		1	2	3	4	5
0	12		4.15	4.15		
1	12		4.47	4.47		
2	12			4.88		
5	12		3.63			
10	12	1.6630				

Tablo 3. 8. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde GBO için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup	
		1	2
1	15		0.1802
2	15		0.4900
4	15	-0.7840	
7	15	-1.5060	

Tablo 3. 9. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde GBO için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup				
		1	2	3	4	5
0	12					3.9200
1	12				0.8275	
2	12			-1.0673		
5	12		-2.07			
10	12	-2.9850				

Tablo 3. 10. Krom akümülayonu ile diğer ölçüm parametreleri arasında bulunan ilişkiler.

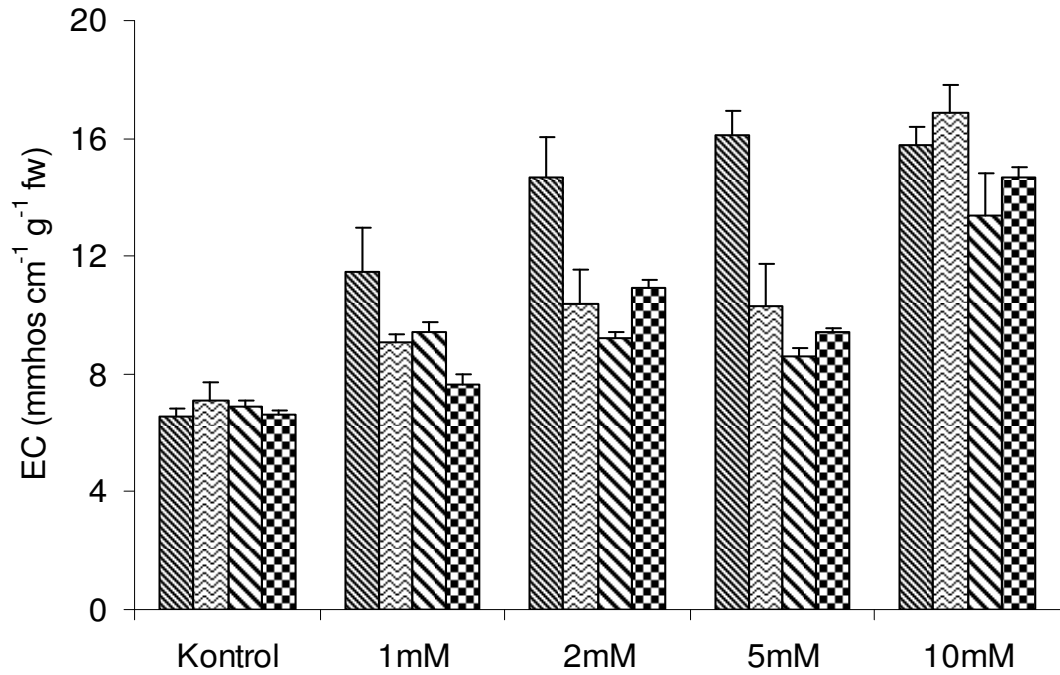
	Cr(III) akümülayonu	Cr(VI) akümülayonu
GBO	-0.22	-0.795 ^(**)
EC	0.364 ^(**)	0.874 ^(**)
MDA	0.649 ^(**)	0.864 ^(**)
KI a	-0.883 ^(**)	-0.796 ^(**)
KI b	-0.780 ^(**)	-0.726 ^(**)
Karotenoid	-0.816 ^(**)	-0.823 ^(**)
Prolin	-0.555 ^(**)	-0.726 ^(**)
Protein	-0.454 ^(**)	-0.306 ^(*)
SOD	0.403 ^(**)	0.149
CAT	-0.150	0.485 ^(**)

**p<0.01

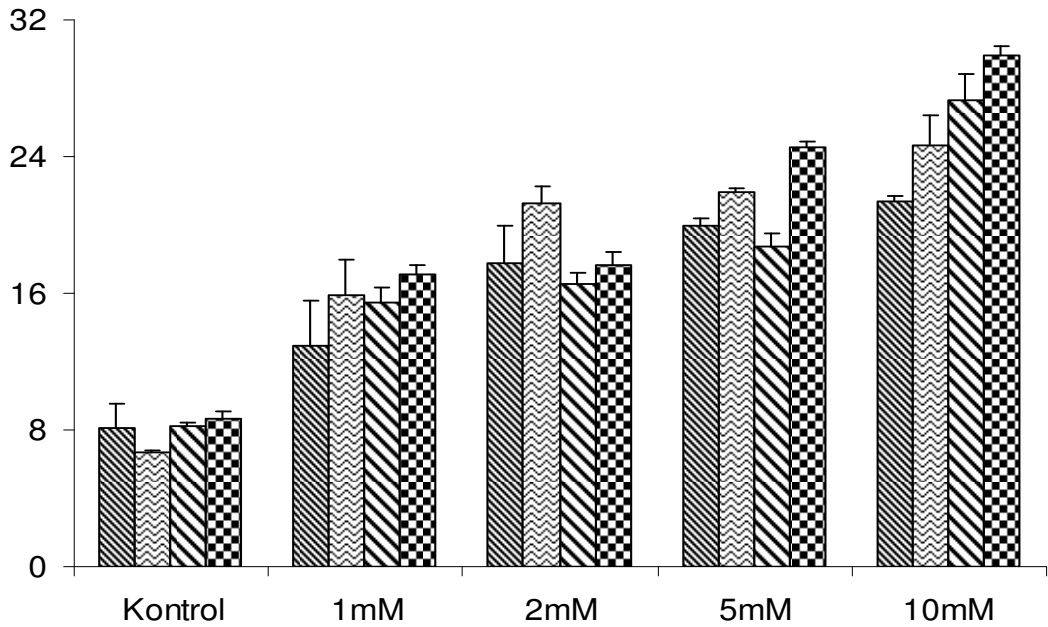
* p< 0.05

3.3. Elektriksel İletkenlik (EC)

Cr(III) uygulaması için en yüksek EC değeri, 2 gün 10 mM uygulamasında (116,85 mmhos cm⁻¹ g⁻¹ fw), Cr(VI) uygulaması için ise 7 gün 10 mM uygulamasında (29,87 mmhos cm⁻¹ g⁻¹ fw) gözlenmiştir (Şekil 3.5, 3.6). 1 gün Cr(III) uygulamasından elde edilen EC değerlerinin diğer uygulama periyotlarından büyük olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.11). Ayrıca 10 mM uygulamasındaki EC değerlerinin diğer uygulamalara göre yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 3.12). Cr(VI) uygulaması için, EC değerlerinin 7 gün uygulamasında 1 gün uygulamasına göre yüksek olduğu (Tablo 3.13) ve EC değerlerinin konsantrasyon artışına paralel olarak arttığı belirlenmiştir (p<0,05) (Tablo 3.14). Tablo 3.5' ten görüldüğü üzere, EC üzerine konsantrasyon ve sürenin tekli ve birlikte etkisi belirlenmiştir. Fakat Cr(III) uygulaması için sinerjistik etkinin, Cr(VI) uygulamasına göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Cr akümülayonu ile EC değerleri arasında hem Cr(III) (r=0,364, p<0.01) hemde Cr(VI) (r=0,874, p<0.01) için önemli korelasyonlar belirlenmiştir (Tablo 3.10).



Şekil 3. 5. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde elektriksel iletkenlik (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 6. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde elektriksel iletkenlik (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).

Tablo 3. 11. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde EC için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup		
		1	2	3
1	15			12.9
2	15		10.33	
4	15	9.29		
7	15	9.85	9.85	

Tablo 3. 12. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde EC için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup				
		1	2	3	4	5
0	12	6.05				
1	12		9.4			
2	12			11.27		
5	12			11.1		
10	12				15.15	

Tablo 3. 13. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde EC için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

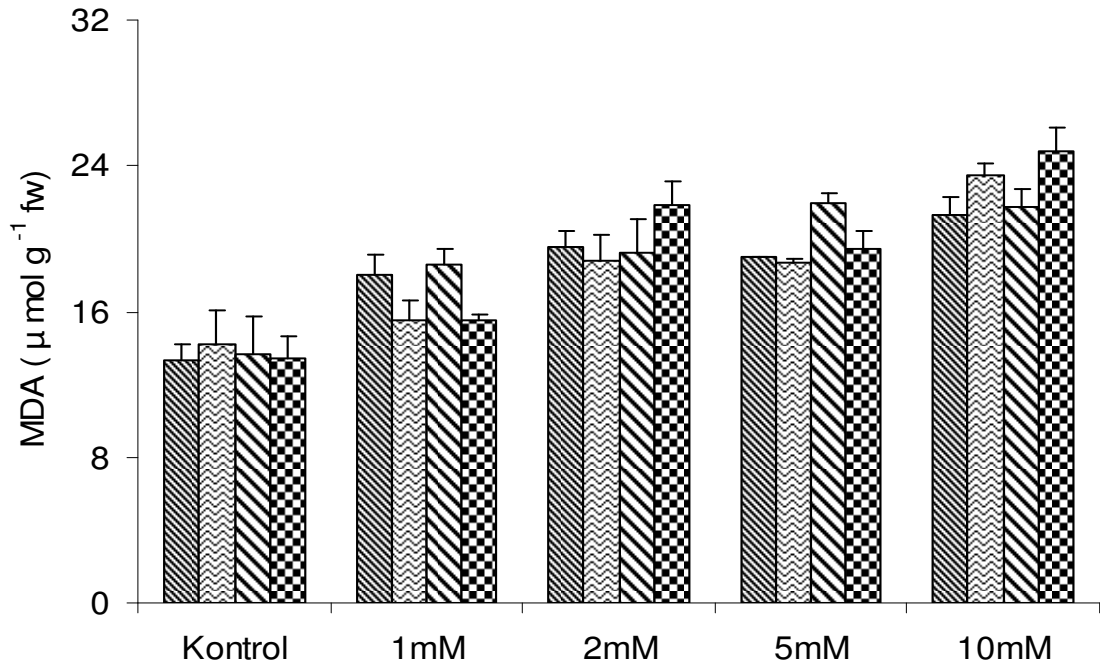
Gün	n	Alt grup	
		1	2
1	15	15.99	
2	15	18.09	18.09
4	15	17.27	17.27
7	15		19.57

Tablo 3. 14. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde EC için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

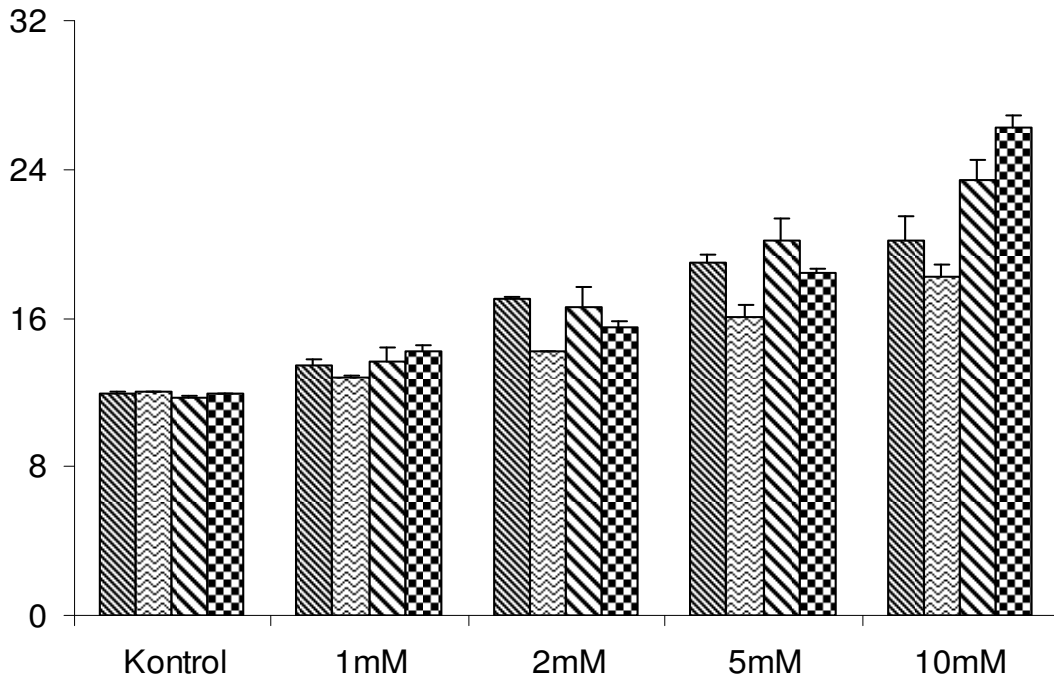
Konsantrasyon	n	Alt grup				
		1	2	3	4	5
0	12	7.92				
1	12		15.35			
2	12			18.3		
5	12				21.27	
10	12					25.82

3.4. Lipit Peroksidasyonu (MDA)

Hem Cr(III) hem de Cr(VI) uygulamaları için en yüksek MDA değeri 7 gün 10 mM uygulamasında gözlenmiştir (Cr(III) için: $24,84 \mu\text{mol g}^{-1} \text{fw}$; Cr(VI) için $26,27 \mu\text{mol g}^{-1} \text{fw}$) (Şekil 3.7, 3.8). Cr(III) uygulamasında MDA miktarları bakımından sürenin etkili olmadığı (Tablo 3.15), ancak konsantrasyon artışına bağlı olarak MDA düzeylerinin arttığı belirlenmiştir (Tablo 3.16). Cr(VI) uygulaması için, 2 gün uygulamasındaki MDA değerlerinin diğer uygulama sürelerine göre düşük olduğu (Tablo 3.17), konsantrasyon artışına bağlı olarak MDA değerlerinin arttığı tespit edildi (Tablo 3.18). Cr(III) uygulamasında MDA içeriği üzerine sürenin önemli etkisi belirlenmişken, konsantrasyonun önemli bir etkisinin olduğu belirlendi. Ayrıca MDA içeriği üzerine süre ve konsantrasyonun sinerjistik etkisi de belirlenmedi. Ancak, Cr(VI) uygulamasında süre ve konsantrasyonun hem tekli hem de kombine etkisinin olduğu belirlendi (Tablo 3.5). Ayrıca, MDA düzeyleri üzerine konsantrasyonun süreden daha fazla etkilediği belirlenmiştir. Cr akümülyasyonu ile MDA değerleri arasında hem Cr(III) ($r=0,649$, $p<0.01$) hemde Cr(VI) ($r=0,864$, $p<0.01$) için korelasyonun önemli olduğu belirlendi (Tablo 3.10).



Şekil 3. 7. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde MDA birikimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 8. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde MDA birikimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).

Tablo 3. 15. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde MDA için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup
		1
1	15	18.22
2	15	18.14
4	15	19
7	15	19

Tablo 3. 16. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde MDA için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12	13.64			
1	12		16.88		
2	12			19.87	
5	12			19.74	
10	12				22.81

Tablo 3. 17. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde MDA için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup	
		1	2
1	15		16.29
2	15	14.65	
4	15		17.11
7	15		17.3

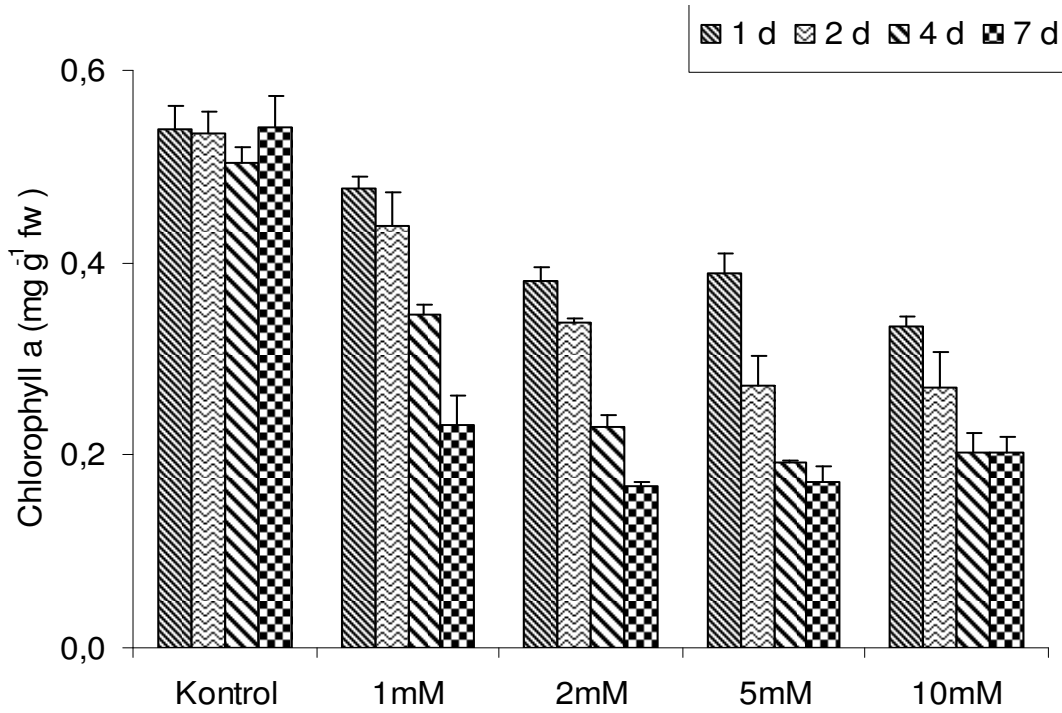
Tablo 3. 18. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde MDA için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup				
		1	2	3	4	5
0	12	11.88				
1	12		13.54			
2	12			15.82		
5	12				18.41	
10	12					22.03

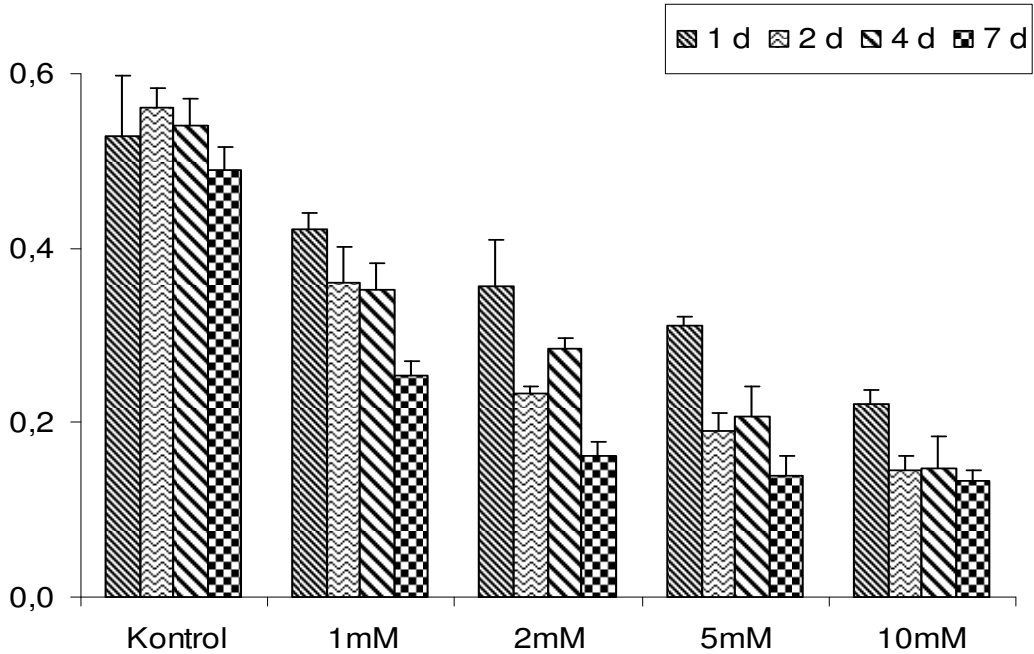
3.5. Fotosentetik Pigmentler

3.5.1. Klorofil a

En düşük klorofil a düzeyine Cr(III) için 0,17 mg g⁻¹ dw ile 2 mM ve 7 gün, Cr(VI) için ise 0,13 mg g⁻¹ ile 7 gün 10 mM uygulamasında rastlanmıştır (Şekil 3.9, 3.10). Cr(III) uygulaması için klorofil a düzeylerinin, uygulama süresine bağlı olarak düştüğü belirlenmiştir (Tablo 3.19). Benzer şekilde Cr(III) uygulamasında 2, 5, 10 mM uygulamaları için elde edilen klorofil a değerleri kontrole göre düşük bulunmuştur (Tablo 3.20). Cr(VI) uygulaması için ise 7 gün uygulamasında elde edilen değerlerin diğer uygulamalara göre düşük olduğu (Tablo 3.21) ve tüm uygulama konsantrasyonları için elde edilen klorofil a değerlerinin, kontrole göre düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.22). Süre ve konsantrasyonun klorofil a üzerine hem Cr(III) hemde Cr(VI) için önemli düzeyde etkili olduğu, ayrıca, klorofil a miktarı üzerinde konsantrasyonun süreden daha fazla etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.5). Cr akümüasyonu ile klorofil a değerleri arasında hem Cr(III) ($r=-0,883$, $p<0.01$) hemde Cr(VI) ($r=-0,796$, $p<0.01$) için önemli korelasyonlar belirlenmiştir (Tablo 3.10).



Şekil 3. 9. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde klorofil a değışimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 10. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde klorofil a değışimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).

Tablo 3. 19. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde klorofil a için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup			
		1	2	3	
1	15				0.42
2	15			0.37	
4	15		0.29		
7	15	0.23			

Tablo 3. 20. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde klorofil a için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup		
		1	2	3
0	12			0.53
1	12		0.37	
2	12	0.28		
5	12	0.25		
10	12	0.25		

Tablo 3. 21. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde klorofil a için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

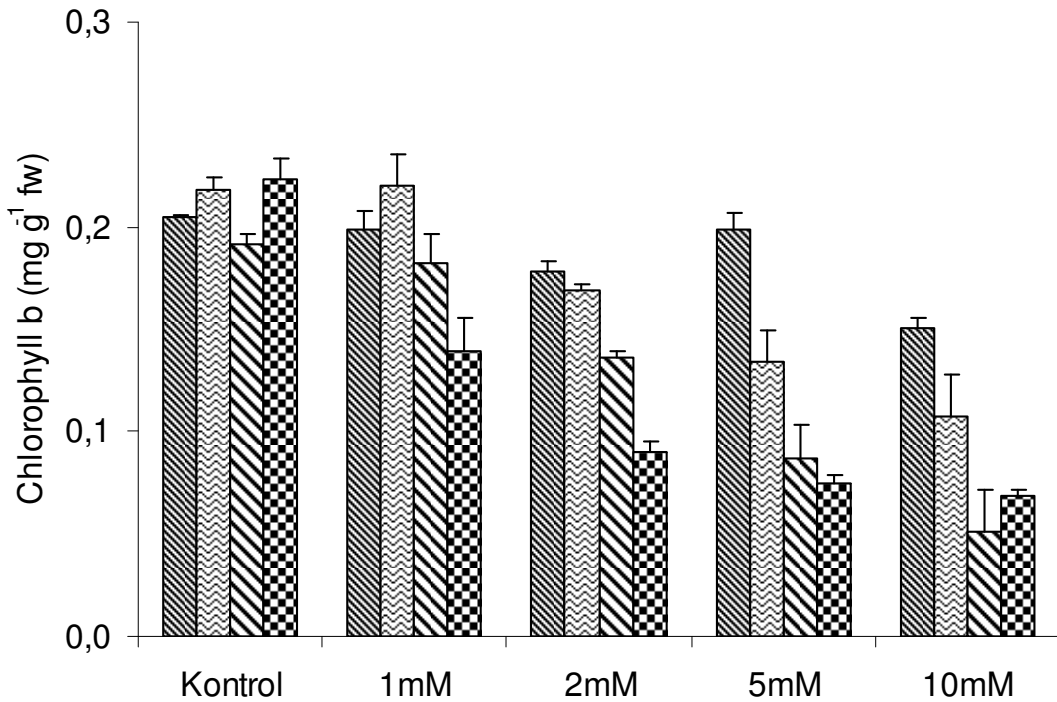
Gün	n	Alt grup		
		1	2	3
1	15			0.36
2	15		0.3	
4	15		0.30	0.30
7	15	0.23		

Tablo 3. 22. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde klorofil a için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

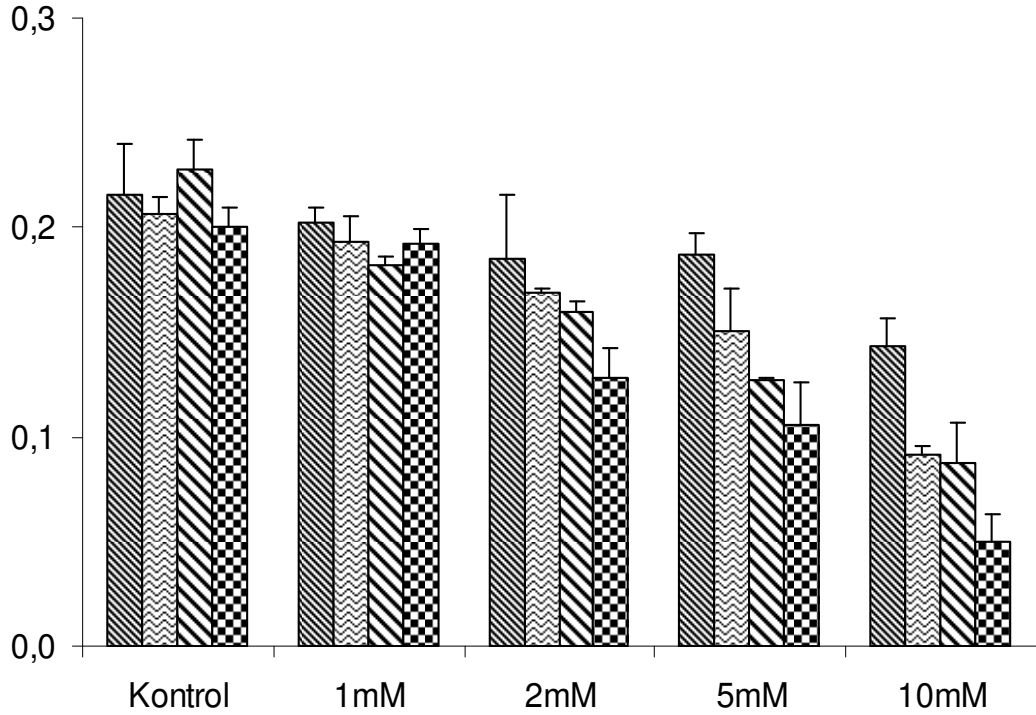
Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12				0.52
1	12			0.35	
2	12		0.26		
5	12	0.21	0.21		
10	12	0.16			

3.5.2. Klorofil b

En düşük klorofil b düzeyine Cr(III) için 0,06 mg g⁻¹ dw ile 10 mM ve 4 gün, Cr(VI) için ise 0,05 mg g⁻¹ ile 7 gün 10 mM uygulamasında rastlanmıştır (Şekil 3.11, 3.12). Cr(III) uygulamasında 1 ve 2 gün uygulama periyotları için klorofil b düzeyleri açısından önemli bir fark bulunamamış, ancak 4 ve 7 gün uygulamalarındaki klorofil b düzeyleri 1 ve 2 gün uygulamalarından düşük bulunmuştur (Tablo 3.23). Ayrıca Klorofil b değerlerinin konsantrasyon artışına paralel olarak arttığı belirlenmiştir (Tablo 3.24). Cr(VI) uygulamasında ise 7 gün uygulaması periyodunda elde edilen değerlerin kontrole göre düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.25). Ayrıca, 2, 5 ve 10 mM Cr(VI) uygulamaları için elde edilen Klorofil b değerlerinin kontrole göre düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.26). Süre ve konsantrasyonun klorofil b üzerine hem Cr(III) hemde Cr(VI) için önemli düzeyde etkili olduğu bulunmuştur.



Şekil 3. 11. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde klorofil b değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 12. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde klorofil b değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).

Tablo 3. 23. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde klorofil b için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup	
		1	2
1	15		0.18
2	15		0.17
4	15	0.13	
7	15	0.12	

Tablo 3. 24. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde klorofil b için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12				0.21
1	12				0.18
2	12			0.14	
5	12		0.12		
10	12	0.09			

Tablo 3. 25. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde klorofil b için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup		
		1	2	3
1	15		0.18	
2	15	0.16	0.16	
4	15	0.15	0.15	
7	15	0.13		

Tablo 3. 26. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde klorofil b için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

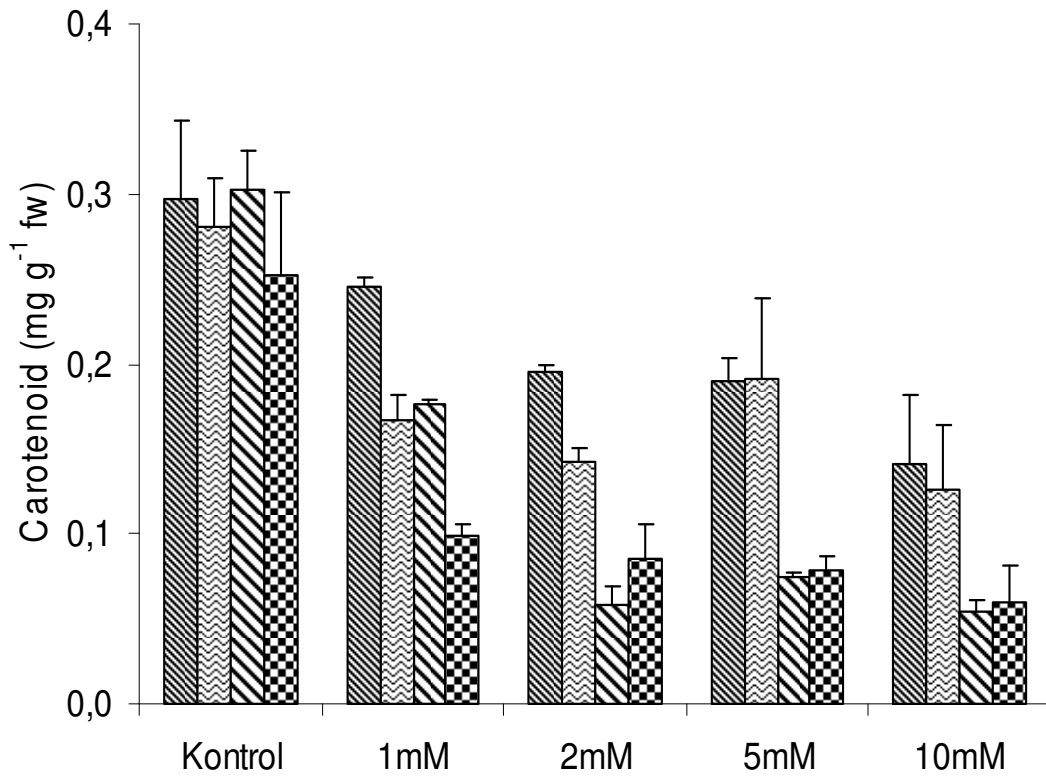
Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12				0.21
1	12			0.19	0.19
2	12		0.16	0.16	
5	12		0.14		
10	12	0.09			

Ayrıca, Cr(III) uygulaması için süre ve konsantrasyonun sinerjistik etkisi gözlenmişken ($\eta^2=0.713$, $p<0.001$), Cr(VI) için gözlenmemiştir ($\eta^2=0.223$, $p>0.05$) (Tablo 3.5). Cr akümüülasyonu ile klorofil b değerleri arasında hem Cr(III) ($r=-0.78$, $p<0.01$) hemde Cr(VI) ($r=-0.726$, $p<0.01$) için önemli korelasyonlar belirlenmiştir (Tablo 3.10).

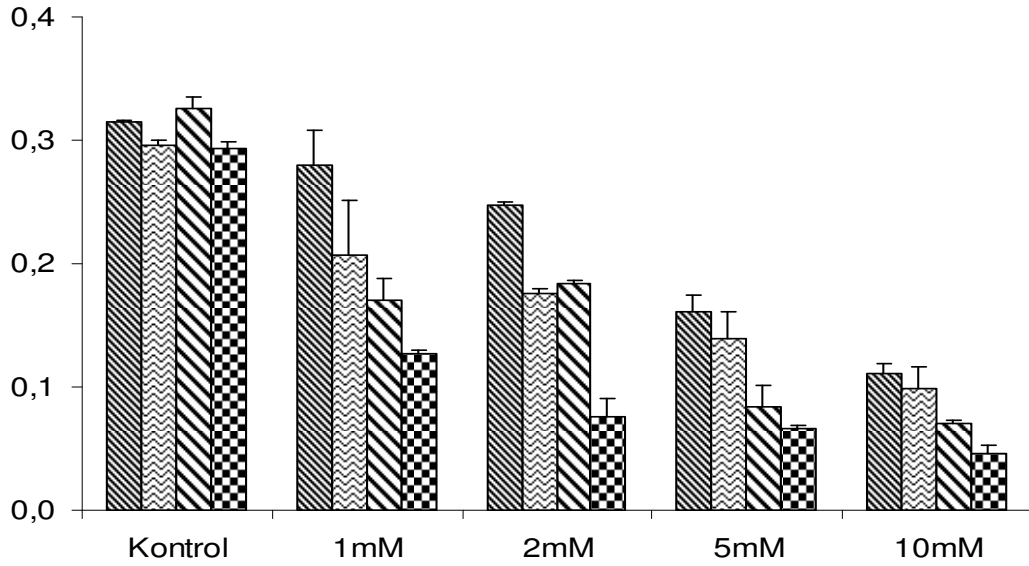
3.5.3. Karotenoid

En düşük karotenoid düzeyine Cr(III) için 0,05 mg g⁻¹ dw ile 10mM ve 4 gün, Cr(VI) için ise 7. gün 10 mM uygulamasında (0,04 mg g⁻¹) rastlanmıştır (Şekil 3.13, 3.14). Klorofil b sonuçlarına benzer olarak, Cr(III) uygulamasında 1 ve 2 gün Cr(III) uygulamaları arasında klorofil b düzeyleri açısından önemli bir fark bulunamamış, ancak 4 ve 7 gün uygulamalarının 1 ve 2 gün uygulamalarından düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.27). Cr(III) uygulaması için, tüm uygulama konsantrasyonlarında elde edilen karotenoid miktarlarının kontrolden istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur (Tablo 3.28). Cr(VI) uygulamasında belirlenen karotenoid miktarları 2, 4 ve 7 gün için kontrolden düşük bulunmuş, 7 gün uygulamasında elde

edilen değerin 2 ve 4 gün değerlerinden düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.29). Cr(VI) uygulamasında ise, tüm konsantrasyonlarda elde edilen karotenoid düzeylerinin kontrole göre düşük olduğu, ancak 1 ve 2 mM ile 5 ve 10 mM uygulamaları arasında istatistiki bir farkın olmadığı belirlenmiştir (Tablo 3.30). Süre ve konsantrasyonun karotenoid üzerine hem Cr(III) hemde Cr(VI) için önemli düzeyde etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca, Cr(III) uygulaması için süre ve konsantrasyonun sinerjistik etkisi gözlenmemişken ($\eta^2=0.31$, $p>0.05$), Cr(VI) için sinerjistik etki gözlenmiştir ($\eta^2=0.377$, $p<0.05$) (Tablo 3.5). Cr akümüasyonu ile karotenoid değerleri arasında hem Cr(III) ($r=-0,816$, $p<0.01$) hemde Cr(VI) ($r=-0,823$, $p<0.01$) için önemli korelasyonlar belirlenmiştir (Tablo 3.10).



Şekil 3. 13. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde karotenoid değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 14. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde karotenoid değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).

Tablo 3. 27. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde karotenoid için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup		
		1	2	3
1	15		0.21	
2	15		0.18	
4	15	0.13		
7	15	0.11		

Tablo 3. 28. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde karotenoid için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12			0.28	
1	12		0.17		
2	12	0.12	0.12		
5	12	0.13	0.13		
10	12	0.09			

Tablo 3. 29. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde karotenoid için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

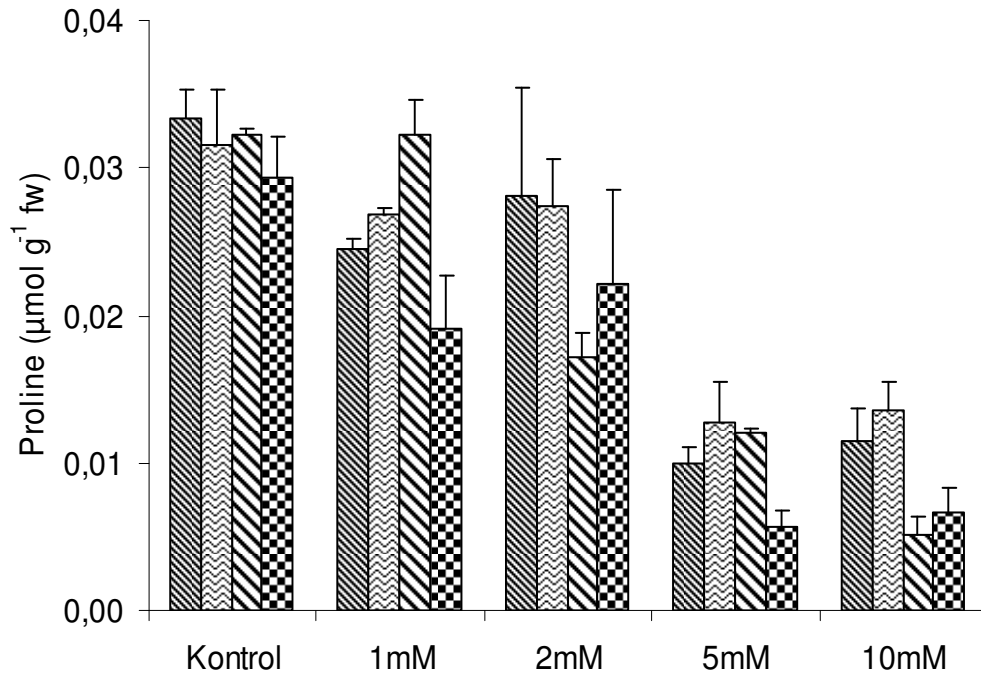
Gün	n	Alt grup		
		1	2	3
1	15			0.22
2	15		0.18	
4	15		0.16	
7	15	0.12		

Tablo 3. 30. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde karotenoid için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

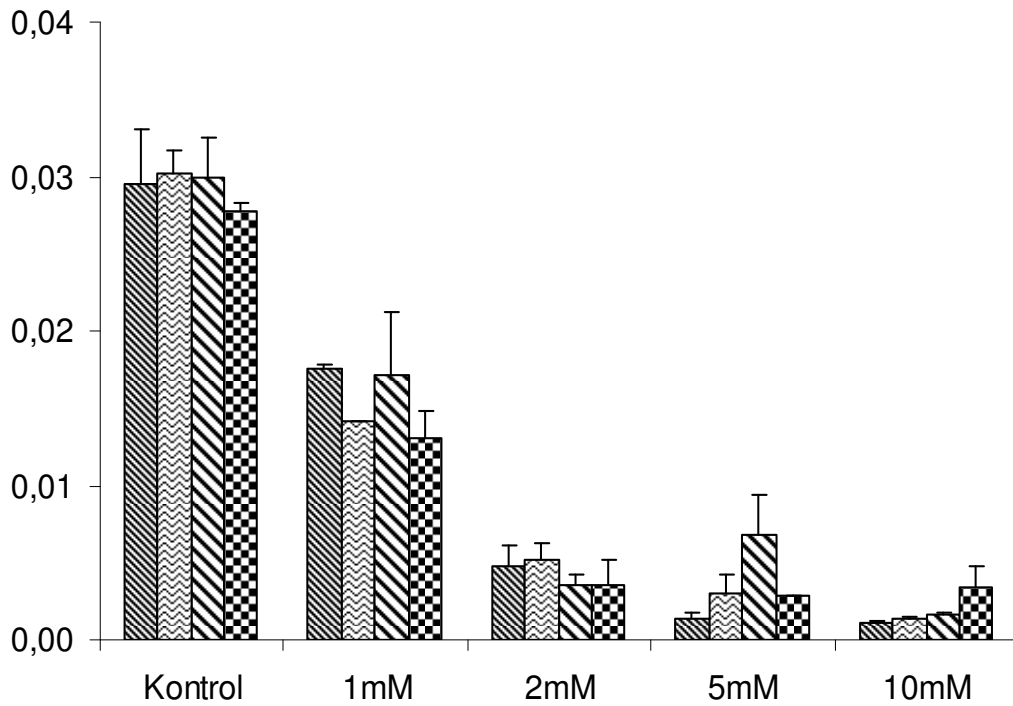
Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12			0.31	
1	12		0.19		
2	12		0.17		
5	12	0.11			
10	12	0.08			

3.6. Prolin

En düşük prolin düzeyine Cr(III) için 0,005 mg g⁻¹ dw ile 10mM ve 4 gün, Cr(VI) için ise 1. gün 10 mM uygulamasında (0,001 mg g⁻¹) rastlandı (Şekil 3.15, 3.16). Bu çalışmanın bulgularına göre, Cr(III) uygulamasında hem süre ($\eta^2 = 0,178$, $p < 0,05$) hem de konsantrasyonun ($\eta^2 = 0,777$, $p < 0,001$) etkili olduğu belirlenirken, Cr(VI) uygulamasında prolin içeriğindeki değişimde sadece konsantrasyonun etkili olduğu ($\eta^2 = 0,950$, $p < 0,001$) belirlendi (Tablo 3.5). Hem Cr(III) hem de Cr(VI) uygulamaları için süre ve konsantrasyonun sinerjistik etkisi belirlenmedi. Cr(III) uygulaması için 2, 5 ve 10 mM uygulamalarındaki prolin düzeylerinin kontrol örneklerine göre düşük olduğu belirlendi (Tablo 3.31 ve 3.32). Cr(VI) uygulaması için uygulama süresi değişiminin prolin düzeylerini değiştirmediği belirlendi (Tablo 3.33) fakat, 2, 5 ve 10 mM uygulamaları kontrole göre yüksek bulundu (Tablo 3.34). Cr akümüasyonu ile prolin değerleri arasında hem Cr(III) ($r = -0,555$, $p < 0,01$) hemde Cr(VI) ($r = -0,726$, $p < 0,01$) için önemli korelasyonlar belirlenmiştir (Tablo 3.10).



Şekil 3. 15. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde prolin içeriği (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 16. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde prolin içeriği (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).

Tablo 3. 31. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde prolin için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup		
		1	2	3
1	15	0.02	0.02	
2	15		0.02	
4	15	0.01	0.01	
7	15	0.01		

Tablo 3. 32. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde prolin için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12			0.03	
1	12		0.02	0.02	
2	12		0.02		
5	12	0.01			
10	12	0.009			

Tablo 3. 33. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde prolin için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

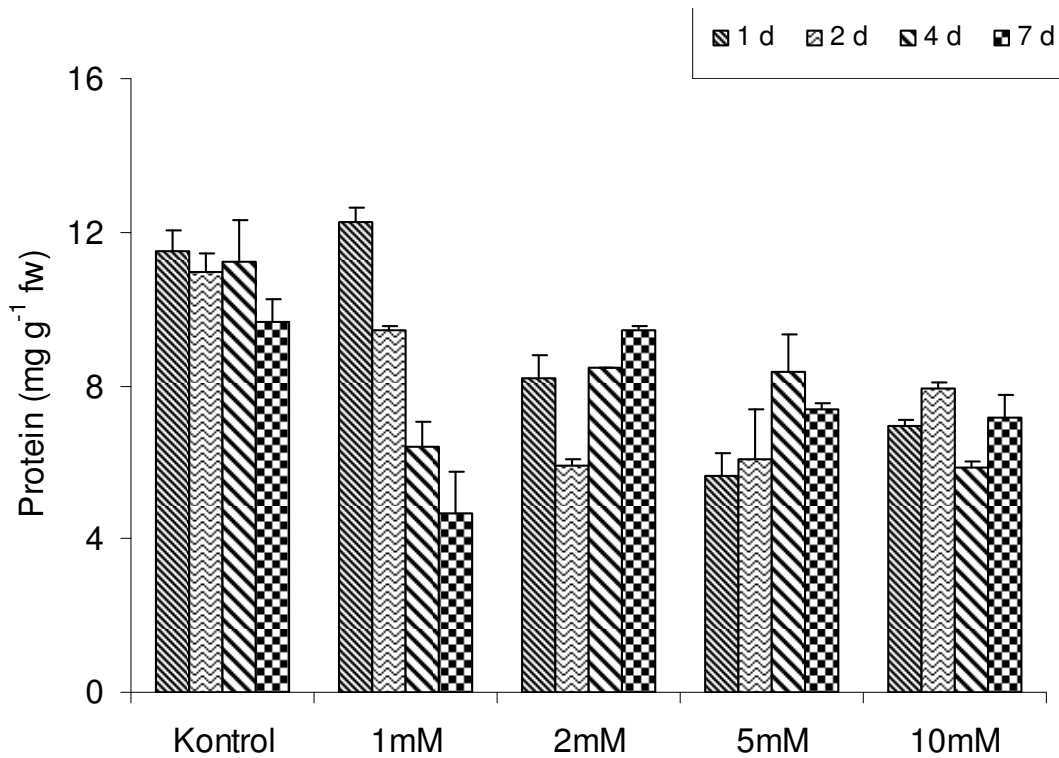
Gün	n	Alt grup
		1
1	15	0.01
2	15	0.01
4	15	0.01
7	15	0.01

Tablo 3. 34. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde prolin için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

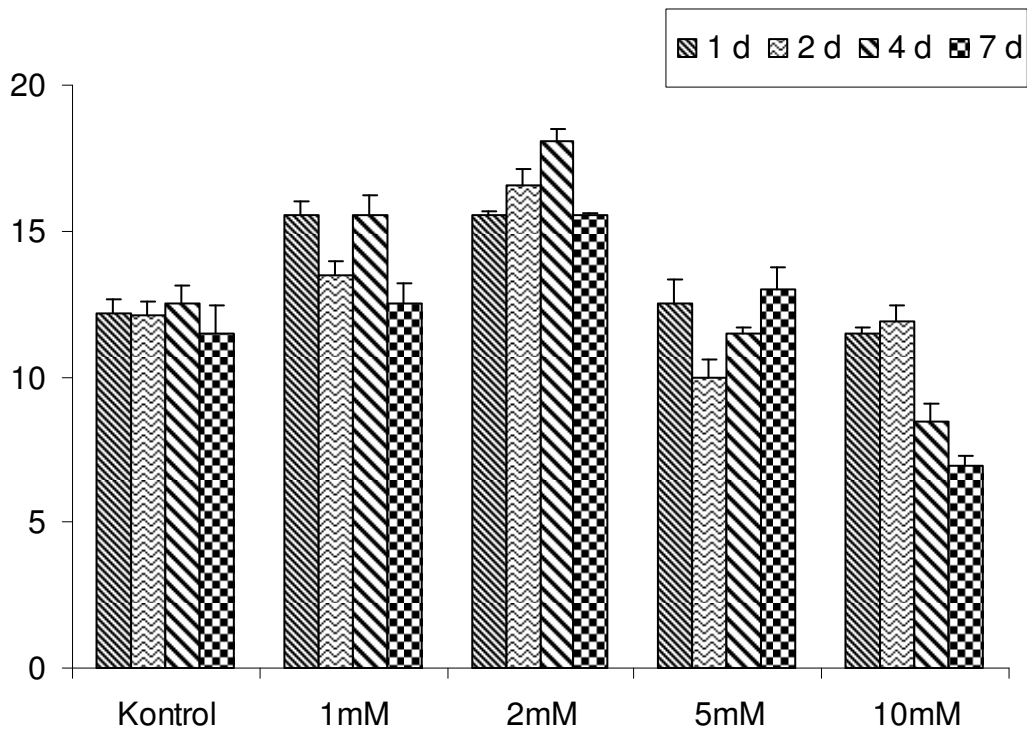
Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12		0.03		
1	12	0.01			
2	12	0.004			
5	12	0.003			
10	12	0.001			

3.7. Protein

Tüm uygulamalar arasında en yüksek protein içeriği Cr(VI) uygulamasında 2 mM 4 gün (18,05) en düşük ise Cr(III) uygulamasında 1 mM 7 günde (4,64) olarak bulunmuştur (Şekil 3.17, 3.18). Cr(III) uygulamasında uygulama süresinin protein içeriği üzerine önemli bir etkisi belirlenmezken, konsantrasyonun etkili olduğu ($\eta^2=0,628$, $p<0,001$) görülmüştür (Tablo 3.5). Cr(VI) uygulaması için ise tekli ve kombine olarak hem sürenin hem de konsantrasyonun protein üzerine önemli etkisinin olduğu belirlenmiştir. Cr(III) uygulaması için yapılan post-hoc testi sonucuna göre, uygulama süreleri açısından bir farklılık görülmezken (Tablo 3.35), tüm Cr(III) konsantrasyonları için elde edilen protein değerleri kontrole göre düşük bulunmuştur (Tablo 3.36). Cr(VI) uygulaması için ise 7 gün Cr(VI) uygulamasının 1 ve 2 gün uygulamalarına göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.37).



Şekil 3. 17. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde protein değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 18. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde protein değişimi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).

Tablo 3. 35. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde protein için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup		
		1	2	3
1	15	8.90		
2	15	8.06		
4	15	8.04		
7	15	7.6		

Tablo 3. 36. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde protein için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12		10.84		
1	12	8.18			
2	12	7.99			
5	12	6.85			
10	12	6.97			

Tablo 3. 37. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde protein için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup		
		1	2	3
1	15		13.43	
2	15		13.21	
4	15	12.8	12.8	
7	15	11.9		

Tablo 3 38. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde protein için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

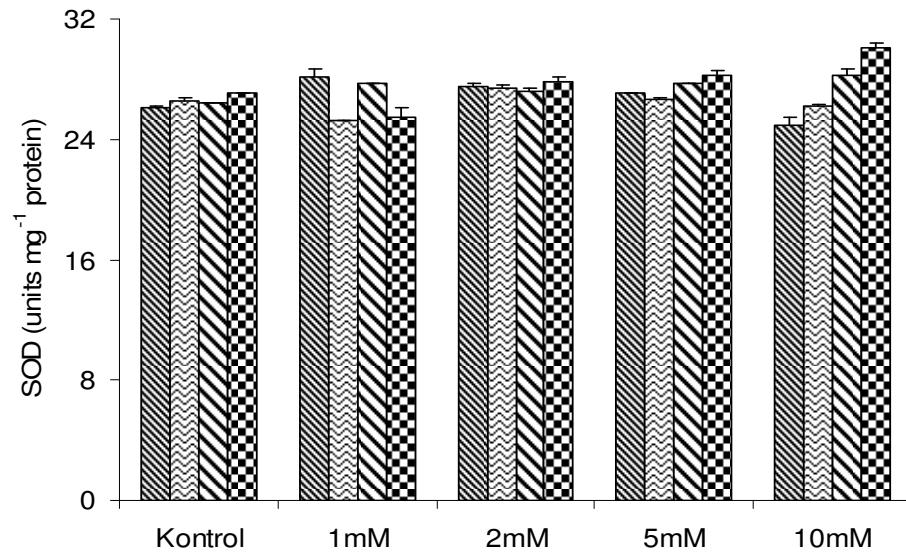
Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12		12.06		
1	12			14.26	
2	12				16.41
5	12		11.74		
10	12	9.71			

Ayrıca Cr(VI) uygulaması için 1 ve 2 mM uygulamaları kontrole göre yüksek bulunmuş, ancak 5 ve 10 mM uygulamaları kontrole göre düşük çıkmıştır (Tablo 3.38). Cr akümüasyonu ile protein içerikleri arasında hem Cr(III) ($r=-0,454$, $p<0.01$) hemde Cr(VI) ($r=-0,306$, $p<0.05$) için önemli korelasyonlar belirlenmiştir (Tablo 3.10).

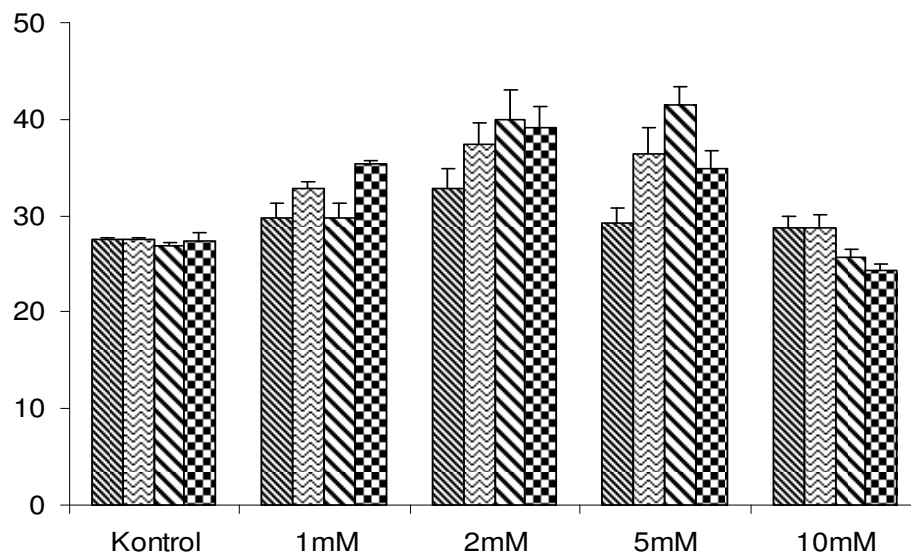
3.8. Antioksidan Enzimler

En yüksek SOD aktivitesi Cr(VI) uygulamasında 5 mM 4 gün (41,5) en yüksek CAT aktivitesi ise Cr(VI) uygulamasında 5 mM 7 gün (9,29) bulunmuştur (Şekil 3.20, 3.22). Cr(III) uygulaması için 4 ve 7gün uygulamalarında elde edilen SOD aktivitelerinin 1 ve 2 gün uygulamalarına göre daha büyük olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.39). Ayrıca 2, 5 ve 10 mM Cr(III) uygulamasında elde edilen SOD aktivitelerinin kontrole göre yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 3.40). Cr(VI) uygulaması için, 4 gün uygulamasında gözlenen SOD aktivitesi 1 gün uygulamasına göre yüksek bulunmuştur (Tablo 3.41). Yine Cr(VI) uygulaması için 1, 2 ve 5 mM uygulamalarının kontrole göre yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.42). Cr(III) için, CAT aktivitesi 7 gün uygulaması diğer uygulamalara göre düşük bulunmuştur (Tablo 3.43). Ayrıca, 1 mM Cr(III) uygulamasında elde edilen CAT aktivitesinin, diğer uygulama konsantrasyonlarına göre

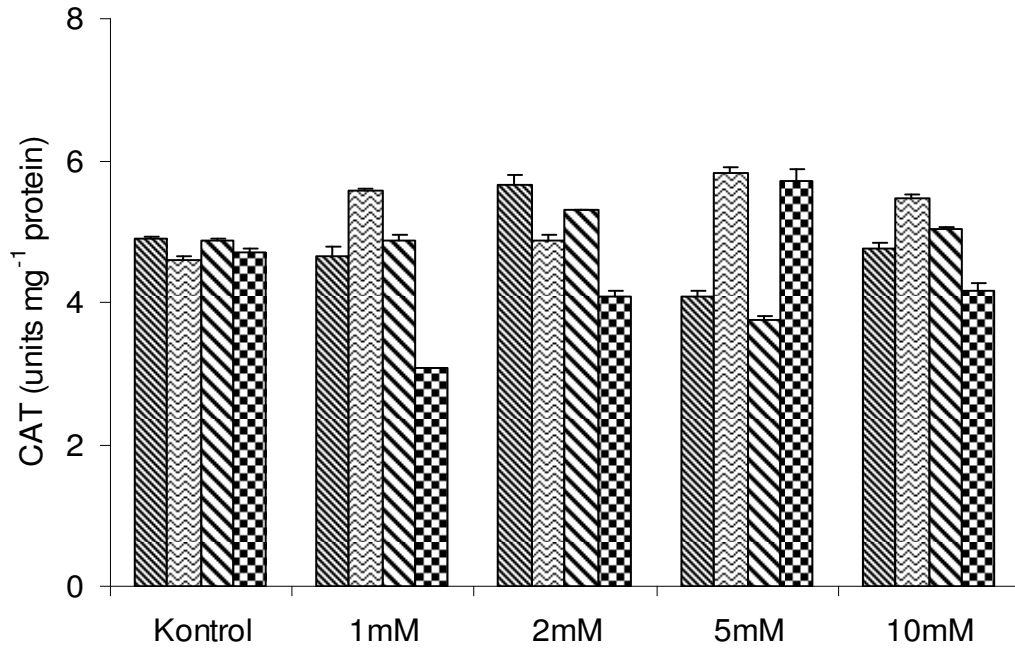
düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.44). Cr(VI) uygulamasında, 7 gün uygulaması diğer uygulamalara göre CAT aktivitesini daha fazla arttırmıştır (Tablo 3.45). Ayrıca, CAT değerleri tüm uygulama konsantrasyonlarında kontrole göre yüksek bulunmuştur (Tablo 3.46).



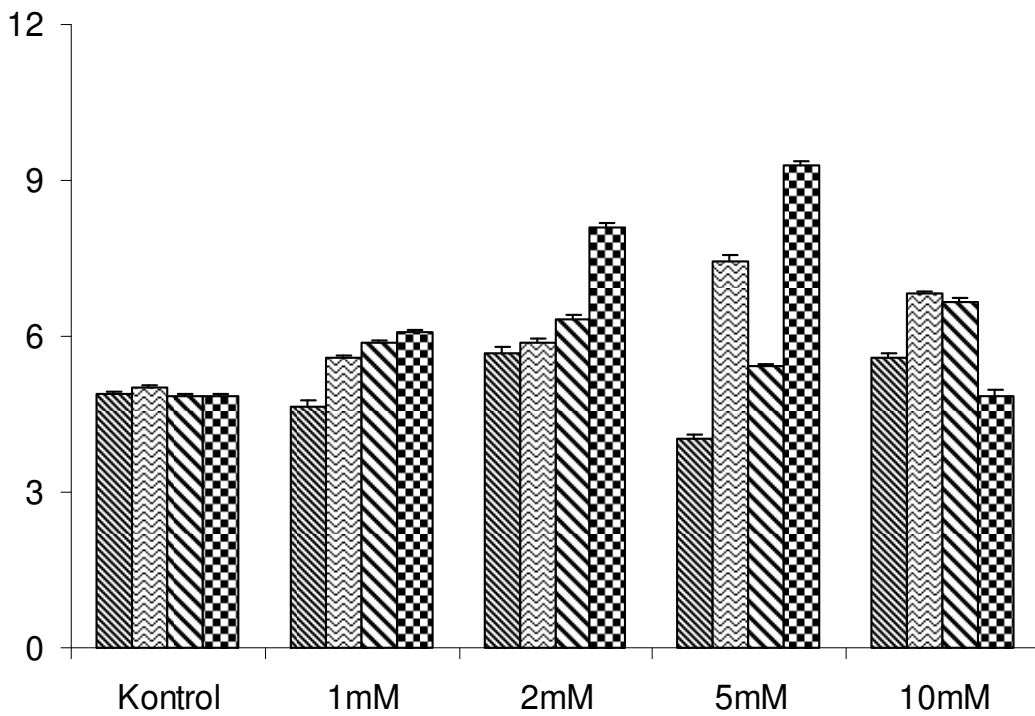
Şekil 3. 19. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde SOD aktivitesi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 20. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde SOD aktivitesi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 21. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(III)'e maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde CAT aktivitesi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).



Şekil 3. 22. Farklı süre ve konsantrasyonlarda Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *C. demersum* bitkisinde CAT aktivitesi (Değerler, 3 tekrarın ortalamasıdır. Vertikal çubuklar standart hata değerlerini göstermektedir).

Tablo 3. 39. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde SOD için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup	
		1	2
1	15	26.75	
2	15	26.42	
4	15		27.43
7	15		27.73

Tablo 3. 40. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde SOD için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12	26.53			
1	12	26.62			
2	12		27.48		
5	12		27.41		
10	12		27.39		

Tablo 3. 41. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde SOD için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup	
		1	2
1	15	29.48	
2	15	32.44	32.44
4	15		32.64
7	15	32.06	32.06

Tablo 3. 42. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde SOD için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12	27.35			
1	12		31.92		
2	12			37.33	
5	12		35.5	35.5	
10	12	26.19			

SOD ve CAT enzimleri için hem Cr(III) hem de Cr(VI) uygulamalarında uygulama süresi ve konsantrasyonun hem tekli hem de kombine etkisinin olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.5). Cr(III) uygulamasında Cr akümülyasyonu ile SOD aktivitesi arasında pozitif önemli ($\eta^2=0,403$, $p<0,01$) ilişki bulunurken, CAT aktivitesi ile önemli bir ilişki belirlenememiştir. Cr(VI) uygulamasında Cr akümülyasyonu ile CAT aktivitesi arasında pozitif ve önemli ($\eta^2=0,485$, $p<0,01$) ilişki bulunurken, SOD ile arasında bir ilişki bulunamamıştır (Tablo 3.10).

Tablo 3. 43. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde CAT için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup		
		1	2	3
1	15		4.80	
2	15			5.27
4	15		4.77	
7	15	4.35		

Tablo 3. 44. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(III) maruziyetinde CAT için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir)

Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12		4.77		
1	12	4.54			
2	12			4.98	
5	12		4.85	4.85	
10	12		4.85	4.85	

Tablo 3. 45. Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde CAT için gün değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Gün	n	Alt grup			
		1	2	3	4
1	15	4.96			
2	15			6.15	
4	15		5.82		
7	15				6.63

Tablo 3. 46 Tukey analiz sonuçlarına göre Cr(VI) maruziyetinde CAT için konsantrasyon değişkenine bağlı olarak oluşan alt gruplar. (Değerler, homojen alt gruplarının ortalama değerlerini göstermektedir).

Konsantrasyon	n	Alt grup			
		1	2	3	4
0	12	4.9			
1	12		5.54		
2	12				6.48
5	12				6.54
10	12			5.98	

4. BÖLÜM

SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

4.1. Cr Akümülyasyon

C. demersum kirletilmiş suların bitkilerce arıtımında sıklıkla kullanılan bir sucul bitkidir ve yapılan çalışmalar Cd, Cu, Pb, As gibi ağır metalleri önemli miktarda biriktirebildiği belirlenmiştir [24, 26, 27, 28]. *C. demersum*'un yaygın olarak kullanılmasının temel nedeni köksüz olması, tüm vücut yüzeyinin suya temas etmesi, etkin bir fotosentetik aktiviteye sahip olması, geniş yayılışlı olmasıdır [25, 26, 47].

Cr akümülyasyonunda, Cr'un eksternal konsantrasyonu, oluşturduğu kimyasal kompleksin yapısı ve değeri gibi birçok faktör etkilidir [48]. Bu çalışmada Cr(VI)'ya maruz bırakılan *C. demersum*'un Cr(III)'e maruz bırakılana göre daha fazla Cr biriktirdiği belirlenmiştir. Farklılığın nedeni, Cr(VI)'nın sülfat ve demir gibi esansiyel iyonlarla birlikte alınması, buna karşılık Cr(III) alınımının metabolik enerjiye bağlı olmaması ile açıklanabilir [49]. Benzer şekilde, Zayed ve ark. (1998), Cr(VI) ya maruz bırakılan sebzelerin Cr(III)'e maruz bırakılanlara göre daha fazla miktarda Cr'u biriktirdiğini belirlemişlerdir [50].

Cr akümülyasyonunun süre ve konsantrasyon bağımlı olduğu bilinmektedir [51]. Yapılan önceki çalışmalarda, bitkinin maruz kaldığı metal konsantrasyonu ile biriken metal konsantrasyonu arasında genellikle önemli bir korelasyon olduğu belirlenmiştir [24, 26]. Bizim çalışmamızda da uygulama konsantrasyonu ile biriktirilen Cr arasında önemli bir korelasyon belirlenmiştir. Bu durum bize bitkinin Cr akümülyasyon yeteneğinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada buna ek olarak, uygulama periyodunun da metal akümülyasyonu üzerine oldukça önemli düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak hem Cr(III) hemde Cr(VI) uygulamaları için, Cr akümülyasyonu üzerine

konsantrasyonun süreden daha etkili olduğu ilk kez bu çalışmada ortaya çıkarılmıştır. Benzer bir çalışmada, Duman ve ark. (2010), As(V) maruziyetinde As akümülyasyonu üzerine konsantrasyonun süreden daha etkili olduğunu belirlemişlerdir [52]. Cr(VI) uygulaması için süre ve konsantrasyonun sinerjistik etkiye sahip oldukları görülmektedir. Sinerjistik etkinin ortaya çıkmasında birçok faktör etkili olabilir. Ancak, Cr(III) uygulaması dikkate alındığında, süre ve konsantrasyonun her zaman sinerjistik etkisinin olmadığı açıktır.

4.2. Göreceli Büyüme Oranı (GBO)

GBO, toksik kimyasalların bitkiler üzerine fizyolojik etkilerini görmek ve bitki gelişimini değerlendirmek için kullanılan önemli bir parametredir. GBO değerlerinin hesaplanması, genel anlamda kimyasalın negatif veya pozitif etkilerini görmemize yardımcı olur. Ağır metallerin yüksek konsantrasyonda bitkilerin GBO değerlerini düşürdüğü yani bitki gelişimini engellediği bilinmektedir. Redondo-Gómez ve ark. (2011), *Spartina argentinensis*'in Cr akümülyasyonu ve tolerans karakteristikleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, (dış kaynaklı) external krom konsantrasyonu ile GBO değerleri arasında negatif korelasyon olduğunu belirlemişlerdir [53]. Bu çalışmada ise Cr(VI) uygulaması için, akümüle edilen Cr ile GBO değerleri arasında negatif korelasyon belirlenirken, Cr(III) için bir korelasyon belirlenmemiştir. Ayrıca Cr(III) uygulaması için, bazı uygulama koşullarında kontrole göre GBO değerlerinin arttığıda belirlenmiştir. Bu durumun Cr(III)'ün toksisitesinin daha düşük olması hatta bazı biyokimyasal reaksiyonlar için esansiyel olmasından kaynaklanabilir. Bazı kaynaklarda Cr(III) esansiyel olduğu bildirilmektedir [54, 55]. Cedergreen (2008), toksik kimyasalların düşük dozlarda bitki büyümesini uyardığı, ancak yüksek dozlarda uygulandığında ise toksik etki gösterdiğini bilirmiştir [41]. Bu durum Southam ve Erlich (1943), tarafından "hormesis effect" olarak adlandırılmıştır [56]. Ancak genel olarak tüm kaynaklarda Cr(VI) karsinojenik ve toksik olarak değerlendirilmektedir [49]. Prado ve ark. (2010), *Salvinia minima* bitkisinde krom akümülyasyonuna karşı oluşturulan fizyolojik ve biyokimyasal değişimi mevsimsel olarak incelemiş, GBO değerlerinin krom akümülyasyonundan, kış örneklerinin yaz örneklerine göre daha fazla etkilendiğini belirlemişlerdir [57]. Rai ve ark. (2004), *Ocimum tenuiflorum* da krom uygulamasının konsantrasyon ve süreye bağlı olarak bitki biyokütlesini azalttığı belirlemişlerdir [58]. Bizim çalışmamız bu bulguyu desteklemektedir. Buna ek olarak,

Cr(III) uygulamasında GBO değerleri üzerine sürenin, Cr(VI) uygulamasında ise konsantrasyonun daha etkili olduğu belirlenmiştir.

4.3. Elektriksel İletkenlik (EC) ve Lipit Peroksidasyonu (MDA)

Hem Cr(III) hemde Cr(VI)'nin yüksek konsantrasyonlarda reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek, hücre duvarı ve zarında hasarlar meydana getirdiği bilinmektedir [49]. EC değerlerinin konsantrasyon ve süre bağımlı olarak artışı, iyon kaçıışı ile membran yapısında meydana gelen bozulmayı işaret etmektedir. MDA, lipid peroksidasyonunun ve serbest radikal üretiminin önemli bir indikatörüdür [59]. Ayrıca lipid peroksidasyonundaki artış, membran integrasyonunun bozulduğunda bir göstergesidir. Sinha ve ark. (2005), *Pistia stratiotes*'te Cr(VI) ya karşı lipid peroksidasyonu ve antioxidant enzim aktivitesini belirlemek için, bitkiyi artan konsantrasyon (0, 10, 40, 80 and 160 µM) ve sürelerde (2, 4 and 6 gün) Cr(VI) ya maruz bırakmış ve lipid peroksidasyonunun konsantrasyon ve süreye bağlı olarak arttığını belirlemiştir [4]. Bizim bulgularımız Cr(VI) uygulaması için Sinha ve ark. (2005), ile uyum içerisindedir. Ancak, bizim çalışmamızda Cr(III) uygulamasında konsantrasyonun önemli etkiye sahip olduğu ancak sürenin MDA üzerine önemli bir etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, Cr(III) uygulaması için MDA konsantrasyon-süre interaksiyonunda belirlenememiştir. *C. demersum*'da her iki krom türünde lipid peroksidasyonunu arttırdığı ancak, Cr(VI) uygulamasında artışın daha etkili olduğu belirlenmiştir. Paiva ve ark.(2009), Cr(VI) nın Cr(III)'e göre daha toksik olmasını, Cr(VI)'nin suda daha kolay çözünerek iyon kompleksinde negatif yükü sebebiyle kolayca hücre zarından geçebildiğini ve sitoplazmaya ulaşarak birçok biyokimyasal reaksiyonu bozabileceğini, Cr(III)'ün ise daha çok hücre zarında akümüle edilerek, iyon transportunu engellemek ile toksik etki gösterdiğini belirtmiştir [3]. Speranza ve ark. (2007), Cr(VI)'nin genel zarar mekanizması çoklu doymamış yağ asitlerini parçalayarak hücresel hasar ve ölüm şeklinde çalışırken, Cr(III)'ün meydana getirdiği lipid peroksidasyonun daha çok ultrastrüktural değişimler veya düzenlemeler şeklinde olduğunu belirtmiştir [60]. Yani, farklılığın temel nedeni etki mekanizmalarının farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

4.4. Fotosentetik Pigmentasyon

Dhir ve ark. (2009), *Salvinia natans* sucul bitkisini artan konsantrasyonlarda kromca zengin atık suda yetiştirmişler ve krom stresinin fotosentetik pigment konsantrasyonunu (klorofil a, b ve total klorofil) önemli miktarda değiştirmediğini belirlemişlerdir [51]. Ancak bizim çalışmamızda, her 3 fotosentetik pigment (klorofil a, b ve karotenoid) içinde hem süre hemde konsantrasyonun önemli (hem Cr(III) hemde Cr(VI)) oranda fotosentetik pigmentasyonu azalttığı belirlenmiştir. Bu azalmanın nedeni, (1) demir (Fe) içeriğindeki azalma [61], (2) klorofil biyosentezinde görevli enzimlerin inaktivasyonu [62] (3) klorofil molekülünde bulunan Mg'un Cr ile yer değiştirmesi [51] nedeniyle olabilir. Paiva ve ark. (2009), *Eichhornia crassipes* sucul bitkisinin Cr(VI)'ya maruz bırakıldığında toplam klorofil miktarının azaldığını ve bu durumda CO₂ değişim oranının azalmasından kaynaklanabileceğini belirlemiştir [3]. Ayrıca Shanker (2005), yaptığı review çalışmada Cr'un anten kompleksinin periferal kısmına zarar verdiğini belirtmiştir [49]. Vajpayee ve ark. (2000), ise 10 M Cr(VI) uygulamasında dahi önemli miktarda fotosentetik pigmentlerin azaldığını belirlemişlerdir [61]. Bu bulgular bizim bulgularımızla uyum içerisinde. Ayrıca bu çalışmada hem Cr(III) hem de Cr(VI) uygulaması için, her 3 fotosentetik pigment üzerine konsantrasyonun süreden daha fazla etkili olduğu belirlenmiştir. Bu durumun nedeni süreye bağlı olarak adaptasyondaki artış şeklinde açıklanabilir.

4.5. Prolin

Prolin daha çok stres şartlarında osmoprotektant olarak görev yapar ve hücre zarı ve biyokimyasal enzimleri serbest radikallere karşı korur [63]. Ağır metal, kuraklık, sıcaklık kuraklık gibi çevresel stres şartlarında bitkilerin stresten kendilerini korumak için prolin miktarını arttırdıkları bilinmektedir. Rai ve ark. (2004), Cr(VI)'ya maruz bırakılmış *Ocimum tenuiflorum* bitkisinde konsantrasyon artışına bağlı olarak prolin içeriğinin arttığını belirlemiştir [58]. Ancak bizim bu alışmamızda, Hem Cr(III) hemde Cr(VI) uygulamaları için konsantrasyonun prolin içeriği üzerinde etkili olduğu ancak, konsantrasyon artışının prolin içeriğini önemli miktarda arttırmadığı belirlenmiştir. Cr(VI)'ya maruz bırakılmış bitkiler için prolin içeriğine sürenin önemli bir etkisinin olmadığı da görülmüştür. nceki çalışmalarda yüksek miktarda toksine maruz bırakılan bitkilerde prolin içeriğinin azalabileceği bildirilmiştir [32, 52]. Prolin düzeyindeki azalma Cr(VI) uygulamasında Cr(III) uygulamasına göre oldukça fazladır. Bu durum

Cr(VI) nın çok toksik olması ve prolin metabolizmasının zamanla bozulmasından kaynaklanmış olabilir.

4.6. Protein

Bitkiler, ksenobiotiklere (xenobiotic) maruz bırakıldıklarında çevresel değişikliklere bir cevap olarak stres proteinleri üreterek hayatlarını sürdürmeye çalışırlar. Krom'un bitkilerde protein içeriğini düşürdüğüne dair bilgilerimiz mevcuttur [20]. Sinha ve ark. (2005), *Pistia stratiotes* sucul bitkisinde artan konsantrasyon (10, 40, 80, 160 μ M) ve sürelerde (48, 96 ve 144 saat) Cr a maruz bırakmış ve bitkinin kök ve yaprağında belli bir krom konsantrasyonuna kadar protein içeriğinin arttığı fakat, yüksek krom konsantrasyonlarında ise protein içeriğinin düştüğü belirlenmiştir [22]. Benzer sonuçlar bizim çalışmamızda Cr(VI) uygulaması için de belirlenmiştir. Düşük konsantrasyonlarda protein içeriğindeki artış stres proteinlerinin artışına bağlanabilir. Azalma ise ROS miktarının artışı ile bir çok proteinin zarar görmesi [64] ve krom stresi altında aktive olan proteaz veya diğer katabolik enzimlerin aktivitesindeki artış sonucu meydana gelen protein degradasyonu ile ilgili olabilir. Ayrıca Sinha ve ark. (2005), akümüle edilen Cr ile protein içeriği arasında negatif bir ilişki olduğunu belirlemiştir [4]. Bizim çalışmamız bu bulguyu doğrulamaktadır. Önceki bilgilere ek olarak bu çalışmada, Cr maruziyetinde protein içeriği üzerine konsantrasyonun süreden daha etkili olduğu ve sinerjistik etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Ayrıca Cr(III) maruziyetinde sürenin istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olmadığı da tespit edilmiştir.

4.7. Antioxidant enzimler

Bitkiler oksidatif hasara karşı iyi bir antioksidant savunma sistemi ile donatılmışlardır. Bu sistem askorbat, karotenoidler ve tiyoller gibi serbest radikal süpürücülerinin yanı sıra, SOD ve CAT gibi ROS miktarının azaltılmasında rol oynayan antioxidant enzimlere de sahiptir [51]. Dazy ve ark. (2008), *Fontinalis antipyretica* ile yaptıkları çalışmada sucul bitkilerde hem Cr(III) hemde Cr(VI) maruziyetinde antioxidant enzim sisteminin etkin bir şekilde çalıştığını belirlemişlerdir [33]. Dazy ve ark. (2008), antioxidant cevabın konsantrasyon ve süreye bağlı olarak genelde çan eğrisi (bell-shaped) şeklinde oluştuğunu belirlemişlerdir [33]. Benzer sonuçlara bu çalışmada da rastlanmıştır. Yani belli bir süre ve konsantrasyon için SOD ve CAT enzim aktiviteleri artmış sonra tekrar azalmıştır. Ancak Cr(III) için antioxidant enzim aktivitelerinde böyle bir durum gözlenmemiştir. Artışın nedeni oksidatif stresle başa çıkmayla uğraşma

olarak değerlendirilebilir. Enzim aktivitesindeki azalma ise antioksidant savunma sistemindeki bozulmadan veya kromun enzimlerin aktif merkezlerine bağlanmalarından kaynaklanıyor olabilir. Çalışılan her iki enzim içinde enzim aktivitelerinin süre ve konsantrasyon bağımlı olduğu, hatta süre ve konsantrasyonun enzim aktiviteleri üzerine sinerjistik etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

4.8. Sonuç ve Öneriler

- 1) Cr(VI) maruziyetinde akümüle edilen Cr konsantrasyonu Cr(III) maruziyetindekinden fazladır.
- 2) Cr(III) uygulaması için, Cr akümülasyonu üzerine süre ve konsantrasyonun sinerjistik etkisi varken, Cr(VI) uygulaması için sinerjistik etki belirlenememiştir.
- 3) Genel olarak, her iki Cr türü için de çalışılan parametreler üzerine konsantrasyon uygulama süresinden daha etkilidir.
- 4) Süre ve konsantrasyonun GBO, EC, protein içeriği ve bunun yanısıra SOD ve CAT enzimleri üzerine sinerjistik etkiye sahiptirler. Bu çalışmanın bulguları, ileride yapılacak olan fitoremediasyon ve toksikoloji çalışmalarında faydalı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Egemen, Ö., 2006. Çevre ve Su Kirliliği. Ege Üniversitesi Yayınları No:42. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 120 s.
2. Keser, A., 2005. *Nastirtium officinale* R. Br.'de Kurşunun Strese Bağlı Enzimlerin Aktivitelerine, Gelişmeye, Mineral ve Klorofil İçeriğine Etkileri. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, 107 s.
3. Paiva, L.B., Oliveira, J.G., Azevedo, R.C., Azevedo, R.A., Ribeiro, D.R., Silva, M.G., Vitoria, A.P., 2009. Ecophysiological responses of water haycinth exposed to Cr(III) and Cr (VI), **Environmental and Experimental Botany**, **65**: 403-409.
4. Sinha, S., Saxena, R., Singh, S., 2005. Chromium induced lipit peroxidation in the plants of *Pistia stratiotes* L: tole of antioxidants and antioxidant enzymes, **Chemosphere**, **58**: 598-604.
5. Prasad, M.N.V., 2011. A State Of the Art on Bioremediation, its Applications to Contaminated Sites in India.India 88 s.
6. Koç, E., Üstün, A.S., 2008. Patojenlere karşı bitkilerde savunma ve antioksidanlar, **Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, **24** (1-2): 82-100.
7. Altan, N., Dinçel, A.S., Koca, C., 2006. Diabetes mellitus ve oksidatif stres, **Turkish Journal of Biochemistry**, **31**(2): 51-56
8. Çaylak, E., 2011. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar, **Tıp Araştırmaları Dergisi**, **9**(1): 73-83
9. Jaleel, C.A., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H.J, Chang-Xing, Z., Hong-Bo, S., Panneerselvam, R., 2009. Antioksidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under ağabeyotic constraints, **Acta Physiol Plant**, **31**: 427-436
10. Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in ağabeyotic stres tolerance in crop plants, **Plant Physiology and Biochemistry**, **48**: 909-930.
11. Yıldız, M., Terzi, H., Uruşak, B., 2011. Bitkilerde krom toksisitesi ve hücre sel cevaplar, **Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, **27**(2): 163-176.

12. Yang, X., Feng, Y., He, Z., Stoffella, P.J., 2005. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation, **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, **18**: 339-353.
13. Chandra, P., Kulshreshtha, K., 2004. Chromium accumulation and toxicity in aquatic vascular plants, **The Botanical Review**, **70**(3): 313-327.
14. Zayed, A.M., Terry, N., 2003. Chromium in the environment: factors affecting biological remediation, **Plant and Soil**, **249**: 139-156.
15. Peralta-Videa, J.R., Lopez, M.L., Narayan, M., Saupe, G., Gardea-Torresdey, J., 2009. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain, **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, **41**: 1665-1677
16. Prasad, M.N.V., 2003. Phytoremediation of metal-polluted ecosystems: hype for commercialization, **Russian Journal Of Plant Physiology**, **50**: 764-780.
17. Alyüz, B., Çetin, Ş., Ayberk, S., 2008. Organik kirleticilerin artımında fitoremediasyon yönteminin uygulanabilirliği, 1569-1574, 14-17 Mayıs 2008 Koceli Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü.
18. Eke, M., 2010. Nikel Hiperakümülatörü *Thlaspi elegans* Boiss'den nikelin asitle ekstraksiyonu ve elektrokimyasal yolla metal olarak geri kazanımının araştırılması. Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisan Tezi, Mersin, 79 s.
19. Duman, F., Şahan, S., Ceylan, A., Koca, F.D., 2010. Krom (Cr⁺⁶)'a maruz bırakılmış *Ceratophyllum demersum* L.'un biyolojik cevabı, **SDU Journal of Science (E-Journal)**, **5**(2): 163-171.
20. Ganesh K.S., Baskaran L., Rajasekaran, S., Sumathi, K., Chidambaram, A.L.A., Sundaramoorthy, P., 2008. Chromium stress induced alterations in biochemical and enzyme metabolism in aquatic and terrestrial plants, **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, **63**: 159-163.
21. Maine, M.A., Sune, N.L., Lager, S.C., 2004. Chromium bioaccumulation: comparasion of the capacity of two floating aquatic macrophytes, **Water Research**, **38**: 1494-1501.
22. Sinha, S., Singh, S., Mallick, S., Sinam, G., 2009. Role of antioxidants in Cr tolerance of three crop plants: metal accumulation in seeds, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, **72**: 1111-1211.

23. Keskinhan, O., Goksu, M.Z.L, Basibüyük, M., Forster, C.F., 2004. Heavy metal adsorption properties of a submerged aquatic plant (*Ceratophyllum demersum*), **Bioresource Technology**, **92**: 197-200.
24. Devi S.R., Prasad M.N.V., 1998. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: response of antioxidant enzymes and antioxidants, **Plant Science**, **138**: 157-165
25. Aravind P., Prasad M.N.V., 2004. Zinc protects chloroplasts and associated photochemical functions in cadmium exposed *Ceratophyllum demersum* L., a freshwater macrophyte, **Plant Science**, **166**: 1321-1327.
26. Mishra S., Tripathi, R.D., Srivastava S., Dwivedi, S., Trivedi, P.K., Dhanker, O.P., Khare, A., 2009. Thiol metabolism play significant role during cadmium detoxification by *Ceratophyllum demersum* L., **Bioresource Technology**, **100**: 2155-2161.
27. Mishra S., Srivastava S, Tripathi, R.D., Kumar, R., Seth, C.S., Gupta, D.K. 2006. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation, **Chemosphere**, **65**: 157-165.
28. Mishra S., Srivastava S, Tripathi, R.D., Trivedi, P.K., 2008. Thiol metabolism and antioxidant systems complement each other during arsenate detoxification in *Ceratophyllum demersum* L, **Aquatic Toxicology**, **86**: 205-215.
29. Sun, Y., Guo, H., Yu, H., Wang, X., Wu, J., Xue, Y., 2008. Bioaccumulation and physiological effects of tetrabromobisphenol A in coontail *Ceratophyllum demersum* L., **Chemosphere**, **70**: 1787-1795.
30. Aravind, P., Prasad, M.N.V., 2005. Modulation of cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* by zinc involves ascorbate-glutathione cycle and glutathione metabolism, **Plant Physiology and Biochemistry**, **43**: 107-116.
31. Mechora, S., Cuderman, P., Stibilj, V., Germ, M., 2011. Distribution of Se and its species *Myriophyllum spicatum* and *Ceratophyllum demersum* growing in water containing Se (VI), **Chemosphere**, **84**: 1636-1641.
32. Singh R., Tripathi R.D., Dwivedi S., Kumar, A., Trivedi, P.K., Chakrabarty D., 2010. Lead bioaccumulation potential of an aquatic macrophyte *Najas indica* are related to antioxidant system, **Bioresource Technology**, **101**: 3025-3032.

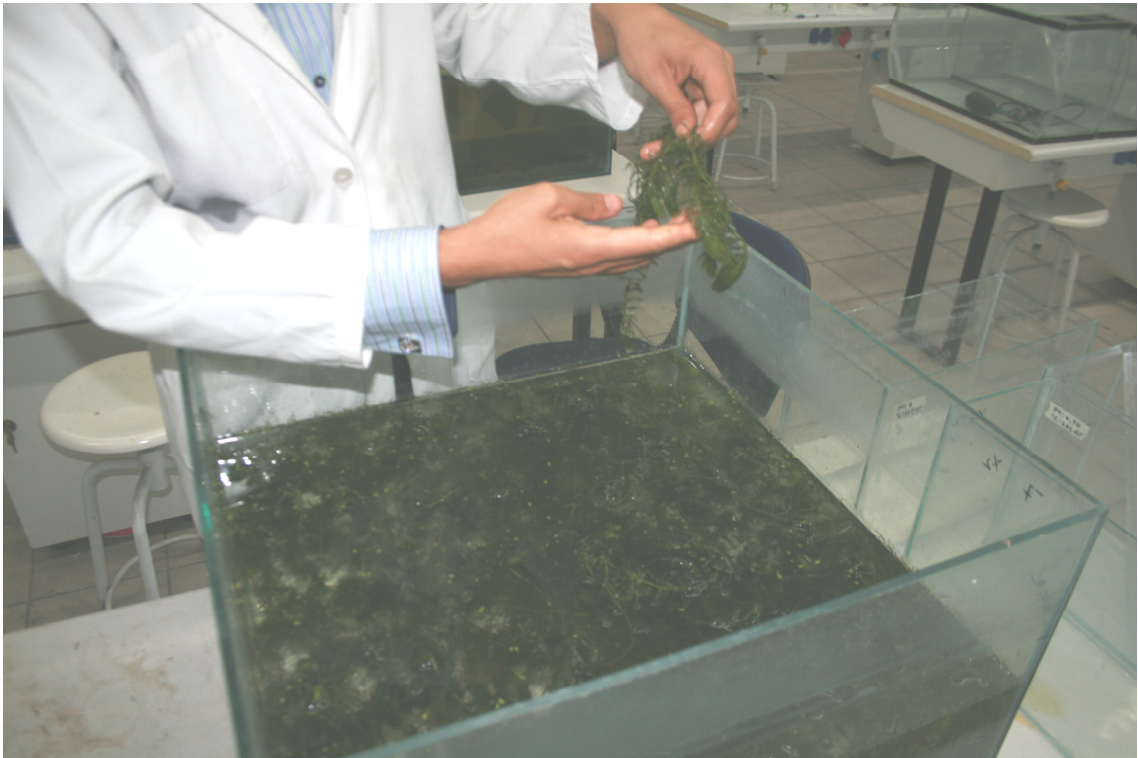
33. Dazy M., Beraud E., Cotelle, S., Meux, E., Masfaraud, J-F., Ferard, J-F., 2008. Antioxidant enzyme activities as affected by trivalent and hexavalent chromium species in *Fontinalis antipyretica* Hedw, **Chemosphere**, **73**: 281-290
34. Monferran, M.V., Agudo, J.A.S., Pignata, M.L., Wunderlin, D.A., 2009. Copper-induced response of physiological parameters and antioxidant enzymes in the aquatic macrophyte *Potamogeton pusillus*, **Environmental Pollution**, **157**: 2570-2576.
35. Srivastava S., Mishra S., Tripathi R.D., Dwivedi S., Gupta D.K., 2006. Copper-induced oxidative stress and responses of antioxidants and phytochelatins in *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle, **Aquatic Toxicology**, **80**: 405-415.
36. Hou W., Chen X., Song G., Wang Q., Chang C.C., 2007. Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*), **Plant Physiology and Biochemistry**, **45**: 62-69.
37. Seçmen, Ö., Leblebici, E., 1996. Türkiye Sulak Alan Bitkileri ve Bitki Örtüsü. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, No: 158, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
38. Foroughi, M., Najafi, P., Honarjoo, N., 2010. Analysis of pollution removal from wastewater by *Ceratophyllum demersum*, **African Journal of Biotechnology**, **9** (14): 2125-2128.
39. Foroughi, M., Najafi, P., Toghiani, S., 2011. Trace elements removal from waste water by *Ceratophyllum demersum*, **JASEM**, **15**(1): 197-201.
40. Szigethi, Z.M., Jambrik, K., Rozsik, J., M-Hamvas, M., Tandor, I., Beyer, D., Vasas, G., Vereb, G., Suranyi, G., Mathe, C., 2010. Cytoskeletal and developmental alterations in *Ceratophyllum demersum* induced by microcystin-LR, a cyanobacterial toxin, **Aquatic Botany**, **92**: 179-184.
41. Cedergreen N., 2008. Is the growth stimulation by low doses of glyphosate sustained over time?, **Environmental Pollution**, **156**: 1099-1104.
42. Heath R.L., Packer L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation, **Archives of Biochemistry and Biophysics**, **125**: 189-198.
43. Lowry, O.H., Roenbrough, N.H., Farr, A.L., Randal, E.J., (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent, **Journal of Biological Chemistry**, **193**: 265.

44. Arnon D.I., 1949. Copper enzyme in isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*, **Plant Physiology**, **24**: 1–15.
45. Duxbury A.C., Yentsch C.S., 1956. Plankton pigment monograph, **Journal of Marine Research**, **15**: 93–101.
46. Bates L.S., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies, **Plant Soil**, **39**: 205–207.
47. Urnebese C.E., Motajo A.F., 2008. Accumulation, tolerance and impact of aluminium, copper and zinc on growth and nitrate reductase activity of *Ceratophyllum demersum* (Hornwort), **Journal of Environmental Biology**, **29**: 197-200.
48. Ksheminska H., Fedorowch D., Babyak D. et al., 2005. Chromium (III) and (VI) tolerance and bioaccumulation in yeast : a survey of cellular chromium content in selected strains of representative genera, **Process Biochemistry**, **40**: 1565-1572.
49. Shanker A.K., Cervantes C., Loza-Tavera, H., Avudainayagam, S., 2005. Chromium toxicity in plants, **Environment International**, **31**: 739-753.
50. Zayed A., Lytle C.M., Qian J.H., et al., 1998. Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops, **Planta**, **206**: 293-299.
51. Dhir B., Sharmilla P., Sarahdi P., et al., 2009. Physiological and antioxidant responses of *Salvina Natans* exposed to chromium-rich wastewater, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, **72**: 1790-1797.
52. Öztürk F., Duman F., Leblebici Z., et al., 2010. Arsenic accumulation and biological responses of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) exposed to arsenite, **Environmental and Experimental Botany**, **69**: 167-174.
53. Redondo-Gómez S., Mateos-Naranjo E., Vecino-Bueno I., et al., 2010. Accumulation and tolerance characteristics of chromium in a cordgrass Cr-hyperaccumulator, *Spartina argentinensis*, **Journal of Hazardous Materials**, **185**: 862-869.
54. Nieboer E, Jusys AA. 1988. Biologic chemistry of chromium. In: Nriagu JO, Nieboer E, editors. Chromium in the natural and human environments. New York: John Wiley & Sons. p 31–33.
55. Anderson R.A., 1997. Chromium as essential nutrient for humans, **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, **26**: 35-41.

56. Southam, C.M., Erlich, J., 1943. Effects of extract of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture, **Phytopathology**, **33**: 517–524.
57. Prado C., Rosa M., Pagano E., et al., 2010. Seasonal variability of physiological and biochemical aspects of chromium accumulation in outdoor-grown *Salvina minima*, **Chemosphere**, **81**: 584-593.
58. Rai V., Vajpayee P., Singh S.N., et al., 2004. Effect of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, proline level and eugenol content of *Ocimum tenuiflorum* L., **Plant Science**, **167**: 1159-1169.
59. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, **Analytical Biochemistry**, **95**(2): 351-358
60. Speranza A., Feri P., Battistelli E., et al., 2007. Both trivalent and hexavalent chromium strongly affect in vitro germination and ultrastructure of kiwifruit pollen, **Chemosphere**, **66**: 1165-1174.
61. Vajpayee P., Tripathi R.D., Rai U.N., et al. 2000. Chromium (VI) accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content in *Nymphaea alba* L., **Chemosphere**, **41**: 1075-1082
62. Boonyapookana B., Upatham E.S., Kruatrachue M., Pokethitiyook P., Singhakaew S., Phytoaccumulation and phytotoxicity of cadmium and chromium in duckweed *Wolffia globosa*, **International Journal of Phytoremediation**, **4**: 87-100.
63. Torres M.A., Barros, M.P, Campos, S.C.G., et al., 2008. Biochemical biomarkers in algae and marine pollution: a review, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, **71**: 1-15.
64. Davies K.J.A., 1987. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. General aspects, **Journal of Biological Chemistry**, **262**: 9895-9901.

EKLER

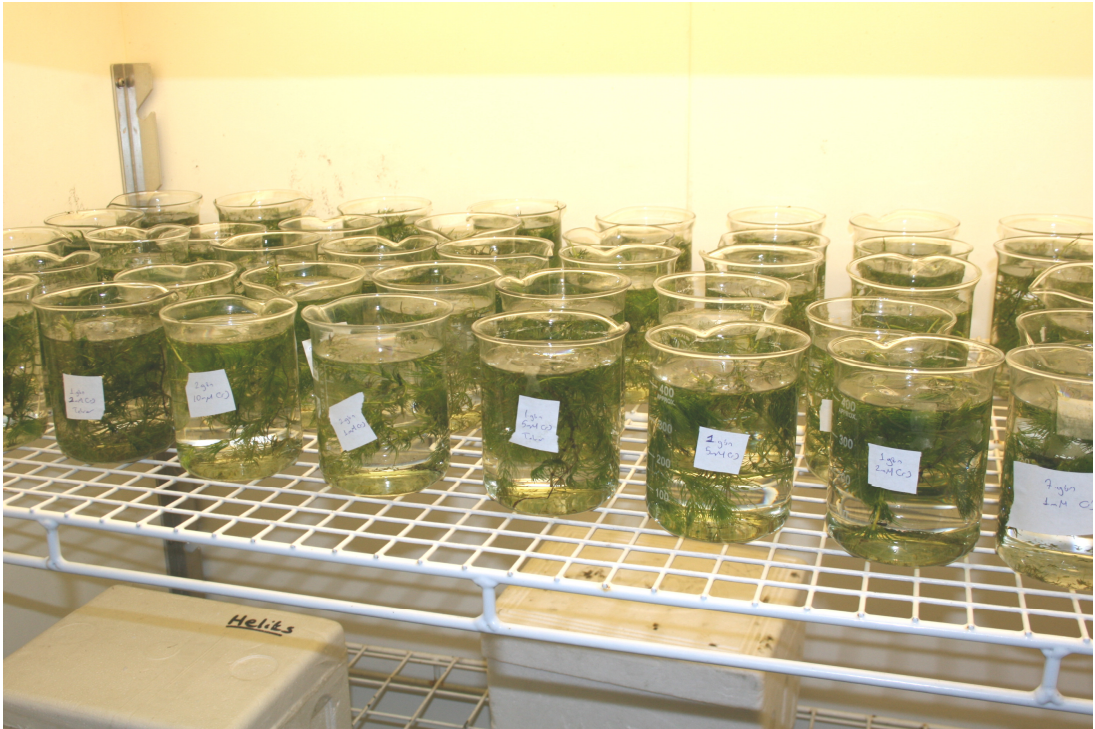
EK1: Sultan Sazlığı'ndan *Ceratophyllum demersum* örneklerinin toplanması



EK2: Laboratuara getirilen *Ceratophyllum demersum* örneklerinin akvaryuma alınarak laboratuvar koşullarına uyum sağlanması



EK3: *Ceratophyllum demersum* örneklerinin tartılması



EK4: Farklı Cr konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Ceratophyllum demersum* örneklerinin büyütme çemberine alınması



EK4: Farklı Cr konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Ceratophyllum demersum* örnekleri ve iklimlendirme dolabı



EK5: Farklı konsantrasyonlarda Cr'a maruz kalmış *Ceratophyllum demersum* örneklerinin Elektriksel İletkenlik (E.C.)ölçümü.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Fatih Doğan KOCA

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 04 Haziran 1986, Kayseri

Medeni Durumu: Bekâr

Tel: 0554-4654186

email: fatihdkoca@erciyes.edu.tr

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü K1/O4
Melikgazi/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	ERÜ-Fen Bilimler Enstitüsü	
Lisans	ERÜ Fen Fakültesi-Biyoloji	2009
Lise	Kayseri Talas Lisesi	2003

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2011- Halen	Erciyes Üniversitesi. Fen Fakültesi. Biyoloji Bölümü	Araştırma Görevlisi

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

Duman, F., **Koca, D.F.** and Aksoy, A. Single and combined effects of exposure concentration and duration on chromium phytoaccumulation. Current Opinion in Biotechnology. 22, Suppl.1, P 145. European Biotechnology Congress, 28 Eylül 1 Ekim 2011, İstanbul. 2011

Ulusal dergilerde yayınlanan makaleler:

2010, Duman, F., Sahan, S., Ceylan, A. **Koca, F.D.** Krom (Cr+6)a Maruz Bırakılmış *Ceratophyllum demersum* L.un Biyolojik Cevabı, SDU Journal of Science 5(2), 163-171.

Katıldığı Kongre/Sempozyum ve Bilimsel Toplantılar

Trace Elements in Environment: Contamination Cleanup to Phytoproducts (TEE 2010) Refresher course. Invited Participation, 11-17 June 2010, İstanbul., 2010.