

KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKU KÜLTÜRÜ TEKNİKLERİ İLE ÇOĞALTILAN
Ceratophyllum demersum L. TARAFINDAN ARSENİK VE CİVANIN
UZAKLAŞTIRILMASI ÜZERİNE IŞIK YAYAN DİYOTLARIN ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kübra UĞUR

Biyoloji Anabilim Dalı
Hidrobiyoloji Programı

AĞUSTOS 2021

**KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKU KÜLTÜRÜ TEKNİKLERİ İLE ÇOĞALTILAN
Ceratophyllum demersum L. TARAFINDAN ARSENİK VE CİVANIN
UZAKLAŞTIRILMASI ÜZERİNE IŞIK YAYAN DİYOTLARIN ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kübra UĞUR
(170811106)**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Hidrobiyoloji Programı**

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Muhammet DOĞAN

AĞUSTOS 2021

TEZ ONAYI

Kübra UĞUR tarafından hazırlanan “Doku Kültürü Teknikleri ile Çoğaltılan *Ceratophyllum demersum* L. Tarafından Arsenik ve Cıvanın Uzaklaştırılması Üzerine Işık Yayan Diyotların Etkileri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

Dr. Öğr. Üyesi Muhammet DOĞAN

Jüri Üyeleri:

İmza:

Dr. Öğr. Üyesi Muhammet DOĞAN

Dr. Öğr. Üyesi Buğrahan EMSEN

Dr. Öğr. Üyesi Esra ŞUMLU

Tez Savunma Tarihi: 12/08/2021

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Doç. Dr. Ahmet KAYABAŞI
Enstitü Müdürü



BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

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.

Kübra UĞUR





ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca, bana bu yolda destek veren laboratuvarıda yaptığım hatalara rağmen sabır ve sükunetle dinleyen, değerli bilgi birikimini, samimiyetle ve sabırla aktarmaya çalışan, çalışmalarımın tamamlanabilmesi için her türlü yardımı sağlayan, değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Muhammet DOĞAN'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın başladığından bu zamana kadar hiçbir yardımı esirgemeyen, her adımım da yanımda olan annem Aliye UĞUR ve babam M. Tarık UĞUR ve sevgili kız kardeşim Esra UĞUR'a, bu süreçte hep yanımda olan değerli eşim M. Ali ATİK'e teşekkür ederim.

Bu tez çalışması TÜBİTAK-1002 Hızlı Destek Programı tarafından desteklenen 218Z144 numaralı proje kapsamındaki veriler ile gerçekleştirilmiştir. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkürlerimizi sunarız.

Ağustos 2021

Kübra UĞUR



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
SEMBOLLER	xiii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xvii
ÖZET.....	xix
ABSTRACT	xxi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1 Kuramsal Temeller	3
2.1.1 Çevre kirliliğiyle mücadele.....	3
2.1.2 Ağır metaller	3
2.1.2.1 Civa	5
2.1.2.2 Arsenik	5
2.1.3 Fitoremediasyon.....	6
2.1.4 Bitki doku kültürü	6
2.1.5 LED ışıklar.....	6
2.2 Kaynak Araştırması	7
3. MATERYAL VE METOT	11
3.1 Deneme Yeri.....	11
3.2 Bitki Materyali	11
3.3 Doku Kültürü ile Çoğaltım Çalışmaları	12
3.3.1 Rejenere sürgünlerinin köklendirilmesi.....	12
3.3.2 Alıştırma	12
3.4 Fitoremediasyon Çalışmaları.....	12
3.4.1 Stok çözeltilerin hazırlanması.....	12
3.4.2 Bitkilerin muamele ortamı ve deney düzeneği	13
3.4.3 Bitki ve su örneklerinin ağır metal analizi.....	15
3.4.4 Biyokonsantrasyon faktörünün (BKF) hesaplanması	16
3.5 Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Analizi	16
3.5.1 Taze ve kuru ağırlık miktarının ölçülmesi.....	16
3.5.2 Fotosentetik pigment analizi	16
3.5.3 Protein analizi	16
3.5.4 Lipit peroksidasyonunun belirlenmesi	17
3.6 İstatistikî Analizler	17
4. BULGULAR.....	19
4.1 Doku Kültürü Çalışmaları	19
4.2 Fitoremediasyon Çalışmaları.....	20
4.2.1 Farklı ışık koşullarında As uygulanan bitkilerin ağır metal birikimleri	21
4.2.2 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanan bitkilerin ağır metal birikimleri	24
4.3 Biyokonsantrasyon Faktörü (BKF)	27
4.3.1 Farklı ışık koşullarında As uygulanan bitkilerin BKF değerleri.....	27
4.3.2 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanan bitkilerin BKF değerleri	30
4.4 Su Örneklerinin Analizi	33
4.4.1 As uygulamaları	33

4.4.2 Hg Uygulamaları.....	34
4.5 Taze ve Kuru Ağırlık Miktarları.....	35
4.5.1 Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış bitkilerin taze ve kuru ağırlıkları.....	35
4.5.2 Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış bitkilerin taze ve kuru ağırlıkları.....	40
4.6 Fotosentetik Pigment İçerikleri	45
4.6.1 Farklı ışık koşullarında As uygulanmış bitkilerin toplam klorofil içerikleri	45
4.6.2 Farklı ışık koşullarında As uygulanmış bitkilerin karotenoit içerikleri	48
4.6.3 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanmış bitkilerin toplam klorofil içerikleri	51
4.6.4 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanmış bitkilerin karotenoit içerikleri.....	54
4.7 Protein İçerikleri	57
4.7.1 Farklı ışık koşullarında As uygulanmış bitkilerin protein içerikleri	57
4.7.2 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanmış bitkilerin protein içerikleri	60
4.8 Lipit Peroksidasyonun Belirlenmesi.....	63
4.8.1 Farklı ışık koşullarında As uygulanmış bitkilerde lipit peroksidasyonun belirlenmesi.....	63
4.8.2 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanmış bitkilerde lipit peroksidasyonu belirlenmesi.....	66
5. TARTIŞMA	69
KAYNAKLAR.....	75

KISALTMALAR

AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre
BAP	: 6-Benzilaminopurin
BKF	: Biyokonsantrasyon Faktörü
IBA	: Indol-3-Butirik Asit
IAA	: Indol-3-Asetik Asit
k.a, t.a	: Kuru Ağırlık, Taze Ağırlık
LED	: Light Emitting Diode, Işık Yayan Diyot
MDA	: Malondialdehit
MS	: Murashige ve Skoog Temel Besin Ortamı
TBA	: Tiobarbütirik Asit
TCA	: Trikloro Asetik Asit
TDZ	: Thidazuron (Fenil-3-1,2,3-thidiazol-5-il) üre



SEMBOLER

g, mg, µg	: Gram, Miligram, Mikrogram
cm, mm, nm	: Santimetre, Milimetre, Nanometre
°C	: Derece
nmol	: Nanomol
As	: Arsenik
Na₂HAsO₄·7H₂O	: Disodium hydrogen arsenate
Hg	: Civa
HCl	: Hidroklorik Asit
HNO₃	: Nitrik Asit
HgCl₂	: Civa Klorit
L, ml, µM, M	: Litre, Mililitre, Mikro Molar, Molar
NaOH	: Sodyum Hidroksit





ÇİZELGELER LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1 : <i>C. demersum</i> sistematik gösterimi (Anonim, 2021).	11
Çizelge 3.2 : Fitoremediasyon denemelerinde kullanılacak LED ışıklar.	13
Çizelge 3.3 : ICP-OES genel çalışma koşulları.	14





ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Ağır metallerin hücre içi etkilerinin gösterimi	4
Şekil 3.1 : Ağır metal analizleri için kullanılan Endüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (720, Agilent Tech).....	14
Şekil 3.2 : SINEO MDS-10 model mikrodalga fırın.	15
Şekil 4.1: 1 mg/L BAP içeren MS besin ortamında <i>C. demersum</i> 'un boğum eksplantlarından sürgün rejenerasyonu.	19
Şekil 4.2: Farklı ışık uygulamaları altında <i>C. demersum</i> bitkisinde fitoremediasyon çalışmaları..	20
Şekil 4.3 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış <i>C. demersum</i> 'da metal miktarları.	22
Şekil 4.4 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış <i>C. demersum</i> 'da metal miktarları.	25
Şekil 4.6 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış <i>C. demersum</i> 'da BKF değerleri.....	31
Şekil 4.7 : Farklı aydınlatma koşullarında <i>C. demersum</i> uygulanmış sudaki As yüzdesi.....	33
Şekil 4.8 : Farklı aydınlatma koşullarında <i>C. demersum</i> uygulanmış sudaki Hg yüzdesi.....	34
Şekil 4.9 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un taze ağırlıkları.	36
Şekil 4.10 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un kuru ağırlıkları.	38
Şekil 4.11 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un taze ağırlıkları.	41
Şekil 4.12 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un kuru ağırlıkları.	43
Şekil 4.13 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un toplam klorofil içerikleri.	46
Şekil 4.14 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un karotenoit içerikleri.	49
Şekil 4.15 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un toplam klorofil içerikleri.	52
Şekil 4.16 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un karotenoit içerikleri.	55
Şekil 4.17 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un protein içerikleri.	58
Şekil 4.18 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un protein içerikleri.	62
Şekil 4.19 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un MDA içerikleri.	64
Şekil 4.20 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış <i>C. demersum</i> 'un MDA içerikleri.	67



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DOKU KÜLTÜRÜ TEKNİKLERİ İLE ÇOĞALTILAN *Ceratophyllum demersum* L. TARAFINDAN ARSENİK VE CİVANIN UZAKLAŞTIRILMASI ÜZERİNE IŞIK YAYAN DİYOTLARIN ETKİLERİ

Kübra UĞUR

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Muhammet DOĞAN

Ağustos 2021, 83 sayfa

Bu çalışmada, doku kültürü teknikleri ile çoğaltılan *Ceratophyllum demersum* L. tarafından arsenik (As) ve cıvanın (Hg) uzaklaştırılması üzerine ışık yayan diyotların (LED) etkileri araştırılmış ve metal toksisitesi altındaki bitkilerin biyokimyasal ve fizyolojik parametreleri incelenmiştir. Doku kültürü çalışmaları için *C. demersum*'un boğum eksplantları, Murashige ve Skoog (MS) basal tuz ve vitaminleri ve %3 sükröz içeren kültür ortamına aktarılmıştır. Besin ortamına bitki büyüme düzenleyici olarak 1,0 mg/L Benzilaminopurin (BAP) ilave edilmiştir. *In vitro* çoğaltılan bitkiler, dış koşullara başarılı şekilde alıştırıldıktan sonra fitoremediasyon çalışmalarına geçilmiştir. Fitoremediasyon deneylerinde As (0, 0,01, 0,1 ve 1,0 mg/L) ve Hg (0, 0,002, 0,02 ve 0,2 mg/L) kullanılmıştır. As için $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve Hg için HgCl_2 kimyasalları tercih edilmiştir. Uygulama süresi 1, 7, 14 ve 21 gün olarak belirlenmiştir. Fitoremediasyon çalışmalarında beyaz, kırmızı ve mavi LED'ler ve beyaz flouresan ışık kullanılmıştır. Tüm denemeler sonunda bitkilerdeki As ve Hg içerikleri, biyokonsantrasyon faktörü, taze ve kuru ağırlıkları, fotosentetik pigment içerikleri, protein içerikleri ve lipit peroksidasyonları incelenmiştir. Ağır metal konsantrasyonu ve uygulama süresi arttıkça bitkilerde biriken metal seviyeleri artmıştır. En yüksek ağır metal birikim seviyesi kırmızı LED ışık altında, en düşük birikim seviyesi beyaz flouresan ışık altında belirlenmiştir. Sonuçlar, kırmızı ve mavi LED ışıkların fotosentetik pigment içeriği, protein içeriği ve lipit peroksidasyonu bakımından daha iyi sonuçlar verdiğini ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, ileride bitkiler ile yürütülecek fitoremediasyon çalışmalarına yeni bir katkı sunabilir.

Anahtar Kelimeler: Ağır metal, akümülyasyon, fitoremediasyon, *in vitro* çoğaltım, LED ışık



ABSTRACT

MsThesis

THE EFFECTS OF LIGHT EMITTING DIODES ON THE REMOVAL OF ARSENIC AND MERCURY BY *Ceratophyllum demersum* L. PROPAGATED WITH TISSUE CULTURE TECHNIQUES

Kübra UĞUR

Karamanoğlu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Muhammet DOĞAN

August 2021, 83 pages

In this study, the effects of light emitting diodes (LED) on the removal of arsenic (As) and mercury (Hg) by *Ceratophyllum demersum* L. propagated by tissue culture techniques were investigated and the biochemical and physiological parameters of the plants under metal toxicity were examined. For tissue culture studies, nodal explants of *C. demersum* were transferred to culture medium containing Murashige and Skoog (MS) basal salts and vitamins and 3% sucrose. 1.0 mg/L 6-Benzylaminopurine (BAP) was added to the nutrient medium as a plant growth regulator. After the *in vitro* propagated plants were successfully acclimatized to external conditions, phytoremediation studies were started. As (0, 0.01, 0.1 and 1.0 mg/L) and Hg (0, 0.002, 0.02 and 0.2 mg/L) were used in phytoremediation experiments. Na₂HAsO₄·7H₂O for As and HgCl₂ for Hg were preferred. The application period was determined as 1, 7, 14 and 21 days. In phytoremediation studies, white, red and blue LEDs and white fluorescent light were used. At the end of all trials, As and Hg contents in the plants, bioconcentration factor, fresh and dry weights, photosynthetic pigment contents, protein contents and lipid peroxidations were investigated. As the heavy metal concentration and application time increased, the metal levels accumulated in the plants increased. The highest heavy metal accumulation level was determined under red LED light and the lowest accumulation level was determined under white fluorescent light. The results revealed that red and blue LED lights gave better results in terms of photosynthetic pigment content, protein content and lipid peroxidation. These results may provide a new contribution to phytoremediation studies to be carried out with plants in the future.

Keywords: Heavy metal, accumulation, phytoremediation, *in vitro* propagation, LED light

1. GİRİŞ

Çevre canlıların hayatları boyunca karşılıklı olarak biyolojik, fiziksel, kimyasal, sosyal ve ekonomik olarak etkileşimde bulundukları ortamdır. Çevre kirliliği ise insan aracılığı ile ortaya çıkan kirlenici maddelerin bu ortama verilmesi ile ortamda bulunan canlılara olumsuz etki eden dolayısıyla havaya, karaya ve suya etki ederek tüm ekosistemi etkilemektedir. Sanayileşmenin artması ve nüfusun artması ile kirlilik oranı artmaktadır ve tüm canlılık tehlike altına düşmektedir. Doğada çeşitli kirlenme şekilleri gözlenebilir. Fiziksel kirlenme, ekosistemin fiziksel özelliklerinin bozulması sonucu canlılığın tehlike altına alması; kimyasal kirlenme; ekosistemin kimyasal özelliklerinin etkilenecek canlılığı tehdit eder hale gelmesi; biyolojik kirlenme, ekosistem içerisinde bulunan çeşitli biyolojik ajanlar ile olumsuz yönde etkilenmesi olayıdır. Kirlenmenin gerçekleştiği ortama göre ise çevre kirliliği hava, su ve toprak kirliliği olarak sınıflara ayrılabilir (İbadullayeva ve diğerleri, 2019).

Dünya nüfusu olarak kentsel nüfusun giderek artması temiz su kaynaklarına olan ihtiyacı sürekli olarak arttırmaktadır. Su kirliliği kendi içerisinde yüzey sularının kirliliği, yeraltı sularının kirliliği, mikrobiyal kirlilik ve kimyasal kirlilik olarak sınıflara ayrılmaktadır. Suyun kirlenmesine neden olan maddeler olarak evsel atıklar, imalat ürünleri sonucunda oluşan atık maddeler, petrol sızıntıları, çiftçiler tarafından kullanılan gübreler ve radyoaktif maddelerden kaynaklanır. Kirliliğe neden olan kimyasallar arasında ise kalsiyum, sodyum, demir ve manganez gibi elementlerin aşırı konsantrasyonları neden olmaktadır. Bu kirlilik sonucunda göllerin akarsuların, denizlerin ve okyanus içerisinde bulunan bitki ve hayvanların su atıklara maruz kalmasına ve bu atıklara maruz kalan canlıları tüketen diğer canlılara aktarılmasına neden olmaktadır. Böylece içilebilir su kaynaklarına bulaşan bu maddeler canlılığı etkilemektedir. Ayrıca yeraltı sularının kirlenmesi, ekolojik dengenin etkilenmesine de neden olmaktadır. Kirli sular insan ve diğer organizmalarda mutajenik, karsinojenik ve teratogeneze neden olabilir (Bayazit, 2006; Rashtian ve diğerleri, 2020; Yılmaz ve Yanarateş, 2020).

Su ve toprak kirliliği genellikle birlikte anılır. Çünkü suda meydana gelen bir kirlilik bir şekilde toprağa da bulaşmaktadır. Kirlenmiş olan suyu toprağı sulamak için kullanılması, suda meydana gelen kirliliğin toprağa geçmesi demektir. Toprak kirliliğinin neden olan etkenler ciddi hasarlara neden olabilir. Kirliliğin derecesi, kirleticinin konsantrasyonu ile ilişkilidir. Toprağın kimyasal özellikleri değişerek kirlenme meydana gelmektedir. Toprakta meydana gelen olumsuz durumlar tüm canlılığı etkiler. Toprakta kirlilik sebepleri kendi arasında 2 gruba ayrılmaktadır. Evsel atıkların ve endüstriyel atıkların oluşturduğu kirlilik ve yanlış tarım uygulamaları sebebiyle meydana gelen kirliliktir. Yanlış tarım uygulamalarında pestisitlerin kullanımı ve gübrelemenin yanlış uygulanması sonucu toprak kirlenir. Böylece toprakta pH değişiklikliğine, tuz oranında değişikliğe, ağır metal konsantrasyonunun artmasına neden olur. Evsel atıkların ve endüstrinin oluşturduğu kirlilik ise diğer kirlilik sebepleriyle aynı kaynaktan beslenir. Artan nüfus, gelişen teknoloji, kentleşme, tüketim alışkanlıklarının değişmesi gibi sebeplerden ötürü kirliliğin olduğu gözlenmektedir. İnsanları bilinçsiz bir şekilde çöplerini yere atması ve çöplerin rüzgar gibi kuvvetler ile taşınması çevrede olumsuz durumlara neden olmaktadır (Bayazit, 2006; Karaca ve Turgay, 2012; Aydın, 2012).

İnsanoğlunun metali işlemesi ve gelişen endüstriyel faaliyetler sonucunda doğaya ağır metaller salınmaktadır. Toprak, su ve havada belirli bir konsantrasyonda ağır metal bulunmaktadırlar. Ancak insan faaliyetleri sonucunda bu oran doğada artmaktadır ve ağır metallerin düşük konsantrasyonları bile toksit olabilir. Ağır metaller tüm canlı unsurları etkileyerek strese ve ardından canlının ölümüne dahi neden olabilmektedir (Şekeroğlu ve Akmaz, 2009).

Bu tez çalışmasının amacı, canlılar için yüksek toksik etki gösteren arsenik (As) ve civa (Hg)'nin, *Ceratophyllum demersum* L. tarafından fitoremediasyonu üzerine beyaz, mavi, kırmızı LED ve beyaz flouresan ışıklarının etkilerini araştırmak ve farklı LED ışık uygulamaları ve metal toksisitesi altındaki bitkilerin bazı fiziksel ve biyokimyasal parametlerini incelemektir.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Kuramsal Temeller

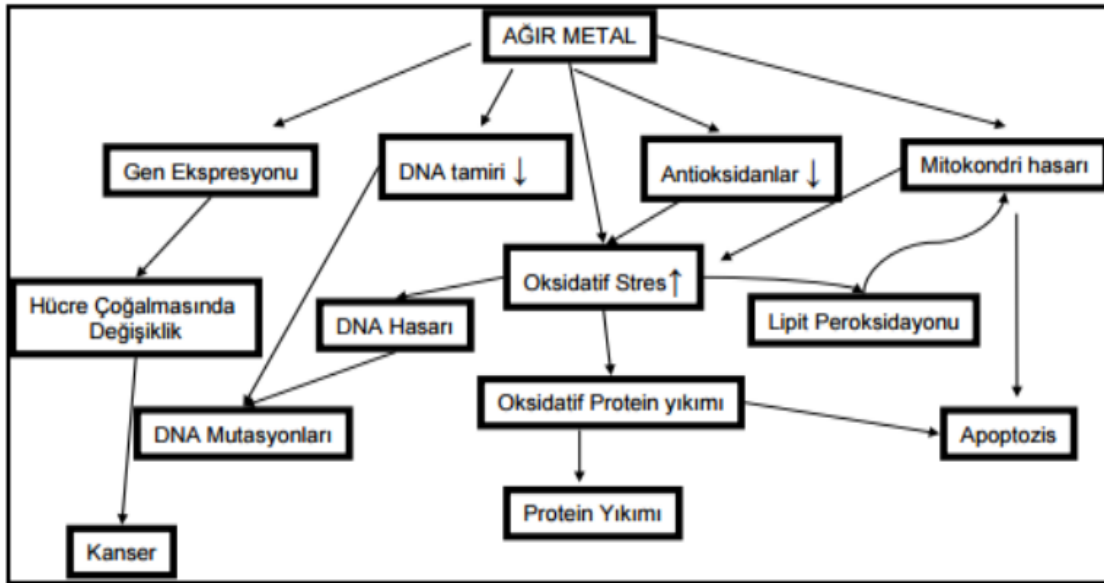
2.1.1 Çevre kirliliğiyle mücadele

Çevre kirliliği ile mücadele gün geçtikçe önemi artan bir konudur. Özellikle sanayileşmenin her geçen gün arttığı dünyamızda bu konu oldukça dikkat çekmektedir. Gelişmiş ülkelere göre gelişmekte olan ülkelere kayan çevre sorunları bu konunun vahamiyetini gözler önüne sermektedir. 20 yüzyılda gözlenen sanayileşme hareketleri, bireylerin sorumsuz tüketim davranışı, eğitim düzeyinin artmasıyla birlikte gözlenen teknolojik gelişmeler dünyanın geleceğini tehdit eder hale getirmiştir (Sandalcı ve Sandalcı, 2019). Çevre bilinci için özellikle devletler politikalarını halkların eğitilmesi üzerine kurmalı ve bu politikaları doğru yönetmelidir. Çünkü bu durum tüm insanlığı alakadar eden bir durumdur. Bu konuda çevre eğitimi verilmelidir. Bu eğitimin amacı insanlara tüketim bilincinin kazandırılmasını sağlamak ve sonraki nesillere olan sorumluluk hissiyatını artırmak olmalıdır (Yıldırım, 2013). Çevre kirliliği ile mücadele için birçok sivil toplum kuruluşu kurulmuş ve bu kuruluşlar aktif olarak çalışmaktadırlar. Petrol türevi ürünlerin özellikle plastik ürünlerin geri dönüşümü bu konu hakkında önemlidir ve bu konu hakkında üretimin ve tüketimin düzenlenmesi, eko-tarım, geri dönüşüm ürünlerinin kullanılması, plastik kullanımının azaltılması, geri dönüşüm için kullanılan enerjinin yenilenebilir enerji kaynakları olarak kullanılması, atıkların oranı ve miktarında üretici sorumluluklarının artırılması, atık toplama sistemlerinin geliştirilmesi, geri dönüşümün teşvik edilmesi, doğada çözünebilir plastiklerin kullanılması gibi önerilerde bulunulmuştur (Prata ve diğerleri, 2019).

2.1.2 Ağır metaller

Ağır metal terimi günümüzde sık sık şekilde kullanılan terimlerden biridir. Genelde toksisiteye neden olan metaller ya da yarı metaller olarak tanımlanabilir. Atom numarası 20'den büyük olan ve yoğunluğu 5 g/cm^3 'den büyük metallere ağır metal adı verilir. Tıpta ise bu tanım toksisiteye neden olan metaller olarak adlandırılır (Şekil 2.1). En

çok tanılan ağır metaller civa, mangan, demir, kobalt, nikel, bakır, çinko, kalmidyum, arsenik, krom, kurşun, gümüş, selenyumdur (Özbolet ve Tuli, 2016). Ağır metaller insan vücudunda birikme eğilimindedir. İnsan vücuduna besin, solunum ve deri yoluyla girmekte ve miktarlarının artmasıyla toksit seviyelere ulaşarak zaman içinde kişide olumsuz sağlık koşullarına neden olmaktadır. Bunun sonucunda ise hastalıklara hatta daha ileri seviyelerde ölümlere dahi neden olabilir (İstanbuluoğlu ve diğerleri, 2012). Ağır metallerin hidrojen peroksit ile beraber bulunduğu ortamlarda oksidatif strese neden olurlar. Bu nedenle ağır metaller aynı zamanda ko-karsinojen olarak sınıflandırılmıştır. Vücuda giren bu yabancı maddelere karşı savunma mekanizmaları kalsiyum dengesinin düzenlenmesi, ısı-şok proteinlerinin kullanılması, stresle aktive olan kinazların kullanımı, monooksijeneaz sistemi, glutasyon sistemi ve E vitamini yoluyla gerçekleşir (Boğa, 2007).



Şekil 2.1 : Ağır metallerin hücre içi etkilerinin gösterimi (Özbolet ve Tuli, 2016).

Bitkilerin ağır metallere maruziyeti tüm unsurlarca olabilir. Toprak ve suda biriken ağır metallerin su alımı aşamasında gerçekleşirken, hava biriken ağır metallerin ise hava partükülleri ile gerçekleşir. Ağır metallerin bitkiler üzerine etkisi farklı şekillerde gerçekleşmektedir. Bitkilerin ağır metallere maruziyeti sonucu ortaya çıkan olumsuz etkiler bitkiden türüne, maruziyet süresi ve miktarına göre değişiklik gösterebilir. Toprakta biriken ağır metaller, bitkinin ihtiyaç duyduğu maddelerin alınımını etkileyerek bitkinin kök, boy, kalınlık, yaprak sayısı bakımından olumsuz etkilemektedir. Toprakta biriken ağır metaller kök hücrelerinde oksidatif strese neden

olarak bitkinin bölünme ve büyüme hızını düşürür. Ağır metal birikimi sonucunda bitkinin fizyolojik olarak birtakım olayları da etkilemektedir. Bu olaylar çimlenme, gelişim, stoma hareketleri, su alım ve taşınım mekanizmaları gibi birçok mekanizmayı içermektedir. Ağır mateller iyon haline gelip bitki yapısına girdiğinde hücre içi sıvıyı ve proteinleri de etkiler. Bunlar gibi bitkilerde ağır metaller sonucu meydana gelen fizyolojik etkiler sonuçta bitki ölümüne neden olabilir. Ancak bitkilerin bu duruma karşı aldığı önlemlerde mevcuttur. Ağır metalle maruz kalan bitki bu ağır metalleri hücre duvarında ve kofullarında depolayabilir. Ağır metallerin topraktan alınıp bitkinin toprak üstü yapılarına ulaşmasını engellemek için metal geçişlerinin kontrollü yapılması, ağır metaller ile organik veya inorganik bileşiklerin birleştirilerek farklı bileşikler elde edilebilir. Bitkilerin ürettiği antioksidan maddeler ile ağır metallerin etkisi azaltılabilmektedir (Okcu ve diğerleri, 2012; Yerli ve diğerleri, 2020).

2.1.2.1 Civa

Civa, boya sanayisinde, takılarda, makyaj malzemelerinde, plastik ürünlerin üretilmesinde, elektronik cihazlarda, tarım sektöründe kullanılmaktadır. Kömür yandığında Hg açığa çıkmaktadır. Hg toprakta çeşitli bileşikler oluşturarak hareketsiz hale geçer. Ancak Hg'nin tekrar indirgenerek bitkiler tarafından kullanılabilir hale gelebilir. Bu ağır metal bitkiler, insanlar ve hayvanlar için toksiktir. İnsanlar ve hayvanlar genellikle bitkilerden daha duyarlıdır (Okcu ve diğerleri, 2012). Hg bitkilerin yapısına geçerek hücre içi elementlerle birleşebilir veya hücrenin oksijen alım mekanizmalarını etkileyerek canlının ölümüne neden olabilir (Yerli ve diğerleri, 2020).

2.1.2.2 Arsenik

As tüm topraklarda rastlanabilen bir metaldir. Sanayi faaliyetlerinde, tarım alanında kullanılan gübrelerde, eczacılık gibi birçok faaliyet alanlarında kullanılan kanserojen bir metaloidir (Yazıcı, 2015). As bitkilerin köklerini etkileyerek su ve besin alımını etkiler ve böylece büyümesini yavaşlatır ve ileri düzeyde bitkinin ölümüne dahi neden olur. As kloroplast membran yapısını etkileyerek fotosentez reaksiyonlarını etkilemektedir (Finnegan ve Chen 2012; Yerli ve diğerleri, 2020).

2.1.3 Fitoremediasyon

Ağır metal sorunu için en önemli çözümlerin başında fitoremediasyon yöntemi gelmektedir. Yeşil ıslah veya bitki ile iyileştirme olarak tanımlanan fitoremediasyon kelimesi aynı zamanda bitkiler kullanılarak ortamın arıtılması işlemlerinin bütünü kapsamaktadır. Bitkiler tarafından akümüle edilen bazı metaller, bitkinin sahip olduğu enzimler ile çeşitli detoksifiye işlemlerine maruz kalmaktadır. Bunun yanında detoksifiye olmayan birçok metal türü de bitkilerin kök, gövde ve yaprak gibi kısımlarında toplanmaktadır. Fitoremediasyon yöntemi ile metaller, metalloidler, inorganik bileşikler, radyoaktif kimyasal elementler, petrol hidrokarbonları, pestisit ve herbisitler, patlayıcılar, klorlu solventler ve endüstriyel organik atıklar uzaklaştırılabilmektedir (EPA, 2000; Bakacak, 2010; Ali ve diğerleri, 2013; Favas ve diğerleri, 2014).

2.1.4 Bitki doku kültürü

Bu teknik, in vitro koşullarda yapay besin ortamında bitkinin parçaları kullanılarak rejenere bitkilerin veya bitkisel ürünlerin üretilmesidir. Bu teknik sayesinde, yeni bitki çeşitleri geliştirilmekte, var olan türlerde genetik çeşitlilik sağlanmakta, nesli yok olma tehlikesi altında olan türler korunmakta ve zor çoğalan türler çoğaltılmaktadır (Babaoğlu ve diğerleri, 2001).

2.1.5 LED ışıklar

LED'ler oldukça az ısıdıkları için LED ışıklar altında büyüyen bitkilerde terleme daha az olmakta ve bitkileri sulama döngüsü uzamaktadır. Flouresan aydınlatmalar, Hg gibi tehlikeli maddeler içermesine rağmen LED'ler tehlikeli madde içermezler. LED ışıklar ultraviyole (UV) ışık üretmedikleri için renk solmasına neden olmazlar. Ayrıca LED aydınlatmalar sık açılıp kapamadan etkilenmeden 30.000 saat veya daha fazla çalışma ömrüne sahiptir. Dolayısıyla LED aydınlatmalar uzun ömürlü, verimli ve düşük enerjili bir aydınlatma teknolojisidir (Dănilă ve Lucache, 2013; Piovene ve diğerleri, 2015).

2.2 Kaynak Araştırması

Afaj ve diğerleri (2017) Pb'nin farklı konsantrasyonlarını içeren (0, 2, 4 ve 6 mg/L) su ortamına bıraktıkları *C. demersum*'un 15, 30, 45 ve 60 gün sonunda toplam klorofil ($a + b$) içeriği ve morfolojik durumunu üzerindeki etkilerini belirlemeyi hedeflemişlerdir. Kontrol bitkilerinde belirgin büyümeler ve gelişmeler gözlemlenmiştir. Buna karşın, artan maruziyet süresi ve Pb konsantrasyonu ile toplam klorofil içeriğinin belirgin şekilde azaldığı vurgulanmıştır. Bu klorofil içeriğindeki azalmaları aynı zamanda morfolojik değişimlerde takip etmiştir. Morfoloji ve büyümedeki bu değişiklikler, dalların sayısını ve uzunluğunu, yaprak sayısını ve yaprakçık sayısını etkilemiştir. Genel olarak, bu araştırmanın sonuçları, su bitkisi *C. demersum*'un çözeltideki Pb metallerine aşırı duyarlı olduğunu göstermektedir. Kurşunun fitotoksitesinden dolayı bitkilerin toplam klorofil içeriği azalmıştır. Bu değişiklikler, morfolojinin ve büyümenin değişmesine neden olmuştur.

Chen ve diğerleri (2015), *C. demersum*'u kurşunun farklı konsantrasyonlarında (5-80 μM) 7, 14 ve 21 gün boyunca maruz bırakarak, bitkinin biyoakümülyasyon potansiyelini araştırmışlardır. Pb akümülyasyonu, uygulanan Pb konsantrasyonuna bağlı olarak artış göstermiş ve maksimum akümülyasyon 4016,4 mg/kg k.a. olarak tespit edilmiştir. Pb stresi ile bitki biyokütlesinde ve protein içeriğinde anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. Malondialdehit (MDA) düzeyleri 20 μM 'nin altındaki kurşun konsantrasyonlarında önemli ölçüde artış göstermiştir.

Dogan ve diğerleri (2015) *C. demersum*, *Bacopa monnieri* ve *Rotala rotundifolia*'nın Cd biriktirme yetenekleri, hem bireysel hem de üçlü makrofitlerin uygulanması ile belirlemişlerdir. Makrofitler, kontrollü bir bölmede 12 gün boyunca 0, 0.1, 1 ve 10 mg/L konsantrasyonlarında Cd ile işleme tabi tutuldu. Tüm makrofitlerde artan Cd konsantrasyonları ile kadmiyum birikimleri artmıştır. Makrofitin Cd biriktirme etkinliğini gösteren biyokonsantrasyon faktörü, artan dış Cd konsantrasyonları ile azalmıştır. Tekli makrofit uygulamaları ile karşılaştırıldığında, kombine makrofit muamelelerinin Cd birikiminde azalma gözlenmiştir. Maksimum Cd birikimi *R. rotundifolia*'da kaydedilmiştir, ardından hem tekli hem de kombine makrofit uygulamalarında *C. demersum* ve *B. monnieri* gelmiştir. Sonuç olarak, her iki uygulamadaki makrofitlerin Cd birikmesinde oldukça etkili olduğu kanıtlanmıştır.

Ahmed ve diğerleri (2018) *C. demersum* ve *Hydrilla verticillata* bitkilerinin su ortamından Pb uzaklaştırma kabiliyetini belirlemek için araştırma yürütmüşlerdir. Denemelerde bitkiler 20 mg/L Pb konsantrasyonunda 3, 7, 14, 21 ve 28 gün bekletilmiştir. 28 gün sonunda elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak önemli farklılıklar göstermiştir ($p \leq 0.05$). *H. verticillata*'nın *C. demersum*'dan daha fazla Pb akümüle etme kapasitesine sahip olduğunu görülmüştür. *H. verticillata*'nın Pb uzaklaştırma kapasitesi %79,8 - 31,1 arasında belirlenmiştir. Böylece *H. verticillata*'nın kirlenmiş sulardan Pb'nin uzaklaştırılmasında kullanılabileceği önerilmiştir.

Mahmoud ve diğerleri (2018) 4, 8, 12 ve 16 gün boyunca Pb^{+2} , Al^{+3} ve Cd^{+2} metallerinin farklı konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları *C. demersum* bitkilerinde akümülyasyon ve tolerans özelliklerini araştırmışlardır. *C. demersum*'un en yüksek tolerans yüzdesi %96,26 olarak 10 mg/L'de Pb'ye 4 gün boyunca maruz kalan bitkilerde belirlenmiştir. Diğer metal uygulamalarında ise en yüksek tolerans değerleri 3 mg/L Al (%95,89) ve 0,1 mg/L Cd (%80,84) uygulamasında ve 8 gün sonunda tespit edilmiştir. Metal biriktirme durumları incelendiğinde en yüksek değerler 50 mg/L Pb uygulamasında 12. Günde (17029,19 $\mu g/g$), 9 mg/L Al uygulamasında 8. günde (2893,04 $\mu g/g$) ve 0,5 mg/L Cd uygulamasında 4. günde (521,28 $\mu g/g$) elde edilmiştir. *C. demersum*'daki metal birikimi sırasıyla $Pb > Al > Cd$ kaydedilmiş ve konsantrasyon ve uygulama süresi arttıkça önemli ölçüde artmıştır.

Maleva ve diğerleri (2018) iki tatlı su bitkisi *Egeria densa* (Planch.) Casp. ve *C. demersum* için fitoremediasyon potansiyellerini belirlemek için deneme kurmuştur. Bu bitkiler 48 saat süresince üre (2 mM) ve metallerin (Ni ve Cu, 10 μM) ayrı ve birleşik etkisine tabi tutulmuştur. Her iki bitki de Ni ve Cu için yüksek birikim potansiyeli göstermiştir (ortalama biyokonsantrasyon faktörleri Ni için 2505 ve Cu için 3778 olarak belirlenmiştir.). Ürenin (2 mM), incelenen bitki türleri için önemli ölçüde toksik olmadığı görülmüştür. Ayrıca ürenin, ek bir nitrojen kaynağı olarak işlev gördüğü ve fotosentetik pigmentlerin, çözünür proteinlerin, enzimatik olmayan antioksidanların sentezi gibi bazı metabolik süreçleri olumlu etkilediği ve bazı enzimleri aktive etti belirlenmiştir. Metaller üre eklenmesi, her iki bitkide de metal birikimlerini artırmıştır (Ni için ortalama %35 ve Cu için %15). Cu, incelenen her iki bitki üzerinde de nikel kıyasla daha güçlü bir toksik etki göstermiştir.

Polechońska ve diğerleri (2018) *C. demersum* bitkisini eser metal kirliliğinin pasif bir biyoindikatörü olarak test etmişlerdir. Çok çeşitli iz metallerin (Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Ti, V ve Zn) içeriği ve biyobirikim kabiliyeti farklı antropojenik aktivite türü ve yoğunluğu analiz edilmiştir. Eser metal kontaminasyonunun seviyesini ve mekansal dağılımını değerlendirmek için sentetik bir kirlilik indeksi hesaplanmıştır. Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Rb ve Zn için Biyobirikim Faktörü sonuçları, *C. demersum*'un oldukça yüksek eser metal alım kabiliyetine sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, *C. demersum*'daki eser metal içeriğinin çok değişkenli istatistikleri, rezervuarların çevresindeki arazi kullanımının türünü belirtmeye de yardımcı olmuştur. Tarım, konut ve araç trafiğinin yoğun olduğu bölgelerde yetişen bitkilerde daha fazla Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Ni, Pb, Rb, Ti, V ve Zn tespit edilmiştir. Endüstriyel alanlar, özellikle yüksek Li ve Ti içeriği ile diğer kentsel alanlardan ayrılmıştır. Çalışma alanları arasındaki kirlilik seviyesindeki farklılıklar, su ve bitkiler için benzer kirlilik derecesini gösterdiğini kanıtlayan Nemerow Kirlilik İndeksi ile vurgulanmıştır. Bu nedenle, Nemerow Kirlilik İndeksi'nin çevrenin ekolojik durumunu analiz etmeye yardımcı olan önerilen bir araç olabileceği ve *C. demersum*'un çeşitli ve çok faktörlü insan yapımı etkiye sahip alanlarda eser metal kirliliğinin ilgili bir biyomonitörü olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Sürmen (2019) *Lepidium draba* L. türünün fitoremediasyon yönteminde kullanılabilişliğini araştırmıştır. Bitki tarafından ağır birikimi miktarları sırasıyla Fe>Mn>Co>Ni olarak tespit edilmiştir. Aynı zaman en yüksek ağır metal konstanstrasyonlarını trafik yoğunluğu olan şehir içinde bulmuştur.

Cinar ve diğerleri (2020) Cr ve Ni'in tekli ve ikili uygulamalarında *C. demersum*'daki biyokonsantrasyonlarını araştırmışlardır. Bitki 0,1, 1 ve 10 mg/L Cr ve Ni konsantrasyonlarına tek olarak ve Cr ve Ni'in değişen kombinasyonlarına (0+0; 0,1 +0,1; 1+1; 10+10 mg/L Cr ve Ni) maruz bırakılmıştır. Bitkinin krom ve nikel biriktirme kapasiteleri farklı bulunmuştur. Ni ile karşılaştırıldığında bitki dokularında daha fazla Cr birikmiştir. Cr ve Ni'in ikili uygulamaları, tekli uygulamalara kıyasla genellikle metal alımını azaltmıştır. Artan dış metal konsantrasyonları ile biyokonsantrasyon faktörlerinde bir azalma olmuştur. Bitkinin düşük konsantrasyonlarında ortamdan daha fazla metal alarak dokularında biyolojik olarak birikebileceği sonucuna varılmıştır.

Hak ve diğerkleri (2020) Cu ve Zn metalleri ile muamele ettikleri *C. demersum*'un biyoakümülayon kapasitesini ve *C. demersum*'un Cu ve Zn'ye fizyolojik tepkilerini (büyüme, klorofil içeriğı ve fotosentez oranı) karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Ayrıca *C. demersum*'un nispi büyüme oranı ve klorofil içeriğı verilerine göre Cu veya Zn'nin toksik etkilerinin zamanla arttığını göstermiştir. Bununla beraber Cu ve Zn etkileri beklenenden daha yavaş kendini göstermiştir. Hem makroskopik olarak (fiziksel görünüm), hem de biyokimyasal (klorofil içeriğı) hem de fotosentez ölçümlerinden gözle görülür etkiler için en az 5 ila 10 gün gerektiğı tespit edilmiştir. Cu ve Zn kombinasyonu, ayrı ayrı Cu veya Zn'den daha fazla toksik etkiye neden olduğı belirlenmiştir. En yüksek metal konsantrasyonları 15. günde Cu = 0,2 mg/L (270.18 mg/kg k.a) ve Zn = 10 mg/L (10363 mg/kg k.a)'da elde edilmiştir. Bununla birlikte, çok yüksek Zn konsantrasyonunda (15.,0 mg/L), bitkiler 5. günden sonra ölmüştür. Her iki metal için en yüksek biyokonsantrasyon faktörü, Cu+Zn kombinasyonunda bulunmuştur. Cu ve Zn için 15. günde 23039 mg/kg (Cu 0,1 mg/L + Zn 5,0 mg/L) ve 10. günde 11761 mg/kg (Cu 0,1 mg/L + Zn 1,0 mg/L) olarak hesaplanmıştır.

Pal (2021) yürüttüğü çalışmada *Ricinus communis* köklerinin maksimum miktarda Pb (275,12 mg/kg k.a) biriktirdiğı bulmuştur. Ortamdaki Pb içeriğine bağılı olarak *Ricinus communis* 'in sürgünlerindeki Pb konsantrasyonu da değıştiğini gözlemlemiştir.

3. MATERİYAL VE METOT

3.1 Deneme Yeri

Proje çalışmaları, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Ağır metal analizleri ise Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi - BİLTEM'de yapılmıştır.

3.2 Bitki Materyali

Çalışmada kullanılan su bitkisi olan *Ceratophyllum demersum* L. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Biyoloji Bölümünden temin edilmiştir. Taksonomik sınıflandırması Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 : *C. demersum* sistematik gösterimi (Anonim, 2021).

Alem	Plantae
Alt bölüm	Tracheobionta
Üst bölüm	Spermatophyta
Bölüm	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Alt sınıf	Magnoliidae
Takım	Nymphaeales
Aile	Ceratophyllaceae
Cins	<i>Ceratophyllum</i> L.
Tür	<i>Ceratophyllum demersum</i> L.

3.3 Doku Kültürü ile Çoğaltım Çalışmaları

Doku kültürü ile çoğaltım çalışması için kullanılan *C. demersum* daha önce Doğan (2013)'nın uyguladığı prosedür ile steril edilmiştir. Çoğaltım çalışmalarında bu steril bitkilerden yararlanılmıştır. Denemelerde MS mineral tuz ve vitaminleri (Murashige ve Skoog, 1962) ile %3 süktroz içeren sıvı kültür (agar ilave edilmemiş) ortamı kullanılmıştır. Besin ortamına bitki büyüme düzenleyici olarak 1,0 mg/L 6-Benzilaminopurin (BAP) ilave edilmiştir. Besin ortamının pH'sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak $5,7 \pm 1$ 'e ayarlandıktan sonra 1.2 atmosfer basınç altında ve 121°C'de 20 dakika tutularak steril edilmiştir. Sürgün rejenerasyonu için steril bitkilerden izole edilen boğum eksplantları (1 ve 2. boğumlar), bitki büyüme düzenleyici içeren MS besin ortamlarına yerleştirilmiştir. Altı hafta boyunca kültüre alınmıştır. Kültürler, iklim dolabında beyaz flouresan ışık altında $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 16 saat aydınlık 8 saat karanlıkta tutulmuştur.

3.3.1 Rejenere sürgünlerinin köklendirilmesi

C. demersum doğal ortamında köksüz bir bitki olduğu için ayrıca köklendirme çalışmaları yapılmamıştır.

3.3.2 Alıştırma

In vitro koşullarda üretilen bitkiler üzerindeki MS kalıntıları çeşmeden akan su ile dikkatlice uzaklaştırıldıktan sonra *ex vitro* koşullara alıştırılması için iki hafta süre ile akvaryuma yerleştirilmiştir. Akvaryum zeminine 3-4 cm yüksekliğinde kum yerleştirilmiştir. Termostat ile sıcaklık 24°C'e ayarlanmış ve 16 saat aydınlatma uygulanmıştır. Ayrıca, su ortamına %10 Hoagland besin çözeltisinden (Hoagland ve Arnon, 1950) eklenmiştir.

3.4 Fitoremediasyon Çalışmaları

3.4.1 Stok çözeltilerin hazırlanması

Fitoremediasyon deneylerinde ağır metal olarak As ve Hg kullanılmıştır. As için $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sigma), Hg için HgCl_2 (Sigma) kimyasalları kullanılmıştır. Ağır metal stokları 1000 mg/L'lik olarak oluşturulmuş ve diğer konsantrasyonlar bu stok oranından seyreltilerek elde edilmiştir. Fitoremediasyon çalışmalarında %10 Hoagland besin çözeltisinden 1000 ml'lik stoklar hazırlanacaktır. EPA, As için,

maksimum kontaminant seviyesini 0.010 mg/L veya 10 ppb olarak, Hg için 0.002 mg/L yada 2 ppb belirtmiştir (Oram ve diğerleri, 2010). Bu değerlerden hareketle As için kullanılan ağır metal konsantrasyonları: 0 (kontrol), 0,010, 0,1 ve 1,0 mg/L olarak belirlenmiştir. Hg için ağır metal konsantrasyonları 0 (kontrol), 0,002, 0,02 ve 0,2 mg/L olarak belirlenmiştir.

3.4.2 Bitkilerin muamele ortamı ve deney düzeneği

Doku kültürü ile üretilen bitkiler, iklimlendirme dolabında ve akvaryumlarda iki hafta sonunda dış ortama alıştırıldıktan sonra bitkilerden 5 g taze bitki alınarak ağır metal içeren su ortamına yerleştirilmiş ve farklı LED ışıklar (Çizelge 3.2) altında 1, 7, 14 ve 21 gün süre ile bekletilmiştir. LED ışık odasına yerleştirilen bitkilerin aydınlatma koşulları 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Ayrıca çalışmada beyaz flouresan ışık da kontrol olarak kullanılmıştır. Uygulanacak ışık yoğunlukları (1500 lüks) tüm ışık denemeler için eşit olarak düzenlenmiştir. Tüm LED ışık uygulamaları beyaz, kırmızı ve mavi LED ışıklar için eş zamanlı olarak başlatılmıştır. Aynı şekilde kontrol denemesi de eş zamanlı başlatılmıştır. Deney düzenekleri her iki ağır metal için (As ve Hg) de oluşturulmuştur ve 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Ardından bitki ve su ortamının ağır metal içerikleri Endüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (Şekil 3.1; ICP-OES- 720, Agilent Tech.) ile analiz edilmiştir. Cihazın genel çalışma özellikleri Çizelge 3.3’da verilmiştir.

Çizelge 3.2 : Fitoremediasyon denemelerinde kullanılacak LED ışıklar.

Işık Ortamları
Beyaz LED ışık
Kırmızı LED ışık
Mavi LED ışık
Beyaz Flouresan Işık (Kontrol)



Şekil 3.1 : Ağır metal analizleri için kullanılan Endüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (720, Agilent Tech).

Çizelge 3.3 : ICP-OES genel çalışma koşulları.

Özellikler	Değerler
Power	1.0 kW
Plasma gas flow	15 L min ⁻¹
Auxiliary gas flow	1.5 L min ⁻¹
Nebulizer flow	0.75 L min ⁻¹
Pump speed	15 rpm
Stabilization time	15 sec
Rinse time	15 sec
Spray chamber type	Glass cyclonic
Torch	Standard one piece quartz axial
Nebulizer type	SeaSpray
Fast pump	On
Background correction	Left and right off peak

3.4.3 Bitki ve su örneklerinin ağır metal analizi

Laboratuvarında farklı LED ışıkları altında As ve Hg etkisine bırakılan 5 g taze bitki örnekleri 1, 7, 14 ve 21 gün sonunda hasat edilmiştir. Bitkilerin kaba filtre kağıdı ile suları alındıktan sonra taze ağırlıkları tartılmış ve etüve (70°C) yerleştirilerek ağırlığın sabitlendiği gün olan 4 gün süresince kurutulmuştur. Ardından kuru bitkiler öğütülmüş ve 10 ml %65'lik HNO₃ (Merck) eklenerek, SINEO MDS-10 model mikrodalga (Microwave Chemistry Technology, Çin) fırında çözülmüştür (Şekil 3.2). Çözündürme koşulları 1200 W (ramp 15 dk) 180°C ve bekleme süresi 15 dk olarak ayarlanmıştır. Çözme işleminin ardından örnekler tüplere konularak Whatman no:42 filtre kağıdından süzölmüş ve ultra saf su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Bitkilerdeki As ve Hg tayini için örnekler ICP-OES cihazında okutulmuştur. Ağır metallerin analizinde ICP-OES için kalibrasyonu (ICP-Multi-Element Standart Solüsyon V - Merck) için sertifikalı materyal kullanılmıştır (NIST SRM). ICP-OES cihazın ölçüm daga boyları As için As 188.980 ve Hg için 194.164'dür.

Su örneklerinin analize hazırlanması ise Üçüncü (2011)'nün uyguladığı yöntem yapılmıştır. 21 gün sonunda alınan su örnekleri, sterilize edilmiş cam pipet yardımıyla 50 ml çekilmiş ve sterilize edilmiş cam beherlere alınmıştır. Ardından Whatman kağıdından süzölerek falconlara akrarılmıştır. Falconların pH seviyesi HNO₃ kullanılarak 2'ye indirgenmiştir. Ardından ICP-OES ile okutma gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2 : SINEO MDS-10 model mikrodalga fırın.

3.4.4 Biyokonsantrasyon faktörünün (BKF) hesaplanması

Fitoremediasyon için kullanılan *C. demersum*'un, As ve Hg uygulamalarından sonra BKF oranları Zayed ve diğerleri (1998)'nin uyguladığı yöntemle göre hesaplanmıştır (1).

$$BKF = \frac{\text{Fitoremediasyondan sonra alınan bitkilerdeki ağır metal konsantrasyonu} \left(\frac{mg}{kg} \right)}{\text{Başlangıçta su ortamına eklenen metal konsantrasyonu} \left(\frac{mg}{L} \right)} \quad (1)$$

3.5 Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Analizi

3.5.1 Taze ve kuru ağırlık miktarının ölçülmesi

Farklı ışık ortamları altında ağır metale maruz bırakılan bitkilerin darası önceden belirlenmiş alüminyum folyo ile tartılarak taze ağırlıkları alındıktan sonra 70°C etüvde ağırlık sabit kalıncaya kadar (4 gün) bekletilerek tartılmış ve kuru ağırlıkları tespit edilmiştir (Okatan ve diğerleri, 1981).

3.5.2 Fotosentetik pigment analizi

Taze bitki örnekleri (100 mg) 5 ml %80'lik asetonla homojenizasyon yapılmış ve %80'lik (v/v) asetonla son hacim 10 ml olarak ayarlanmıştır. Ardından 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Örnekler F tabalı, 96'lık, steril mikropalakaya yerleştirilmiş ve klorofil *a* için 663 nm, klorofil *b* için 646 nm ve karotenoit için 470 nm'de mikropalaka okuyucu spektrofotometrede (Thermo Fisher Scientific, Multiskan Go) asetona karşı absorbans değerleri okunmuştur. Klorofil *a*, klorofil *b* ve karotenoit değerleri Lichtenthaler ve Wellburn (1983)'e göre oluşturulmuştur. Toplam klorofil içeriği klorofil *a* + klorofil *b* olarak verilmiştir.

3.5.3 Protein analizi

Protein analizi Lowry ve diğerleri (1951)'a göre uygulanmıştır. 0,5 g taze bitki materyali 5 ml 0,1 M fosfor tamponunda (pH 7,4) homojenize edildikten sonra 12.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 0,3 ml alınarak, üzerine 3 ml C çözeltisi ilave edilmiş (C çözeltisi 100:1 oranında A ve B çözeltilerinden oluşturulmuştur. A çözeltisi: %2 Na₂CO₃, %0,4 NaOH ve %0,16 g Na-K tartarat; B çözeltisi: %4 Cu₂SO₄.5H₂O) ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sonra 0,3 ml Folin-Ciocalteu ayırıcı eklenerek 30 dk oda sıcaklığında bekletilmiş ve absorbans 750 nm dalga boyunda okutulmuştur. Aynı işlem 0,3 ml saf su kullanılarak tanık için

de uygulanmıştır. Standart eğriler değişen konsantrasyonlarda oluşturulan sığır serum albumin çözeltileri ile çizilmiştir.

3.5.4 Lipit peroksidasyonunun belirlenmesi

Lipit peroksidasyonu Heath ve Packer (1968)'a göre ve malondialdehit (MDA) konsantrasyonu ölçülerek belirlenmiştir. Bitki örnekleri 0,5 g alınarak 5 ml %0,1'lik trikloro asetik asit (TCA) içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenat 10.000 rpm'de 5 dk santrifuj edildikten sonra elde edilen süpernatantın 1 ml'sine 4 ml %20 TCA içerisinde hazırlanmış %0,5'lik tiobarbitirik asit (TBA) ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım 95°C 30 dk ısıtıldıktan sonra hızlı bir şekilde buz içerisinde soğutulmuştur. 10.000 rpm'de 15 dakika santrifuj edildikten sonra süpernatantların absorbansı 532 ve 600 nm'de spektrofotometrede okutulmuştur. Spesifik olmayan absorpsiyon için 600 nm'de okunan değer 532 nm'de okunan değerden çıkarılmış ve aktivite hesaplanmıştır.

3.6 İstatistik Analizler

Tüm denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş ve çalışmalar üç tekerrürlü (n=3) olarak yürütülmüştür. Elde edilen veriler SPSS 21 for Windows (Statistical Package for the Social Sciences version 21.0, IBM Corporation, Armonk, NY, USA) programı ile analiz edilmiştir. Deneme sonucu elde edilen verilerin önemini değerlendirmek için iki yönlü varyans analizi (iki yönlü ANOVA) kullanılmıştır. Verilerin, ortalama $\pm$ standart sapmaları verilmiştir. Veriler arasındaki istatistiksel farklılıkların belirlenmesinde (%95 güven aralığında; $p < 0,05$) post-hoc testlerinden Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi'nden yararlanılmıştır.

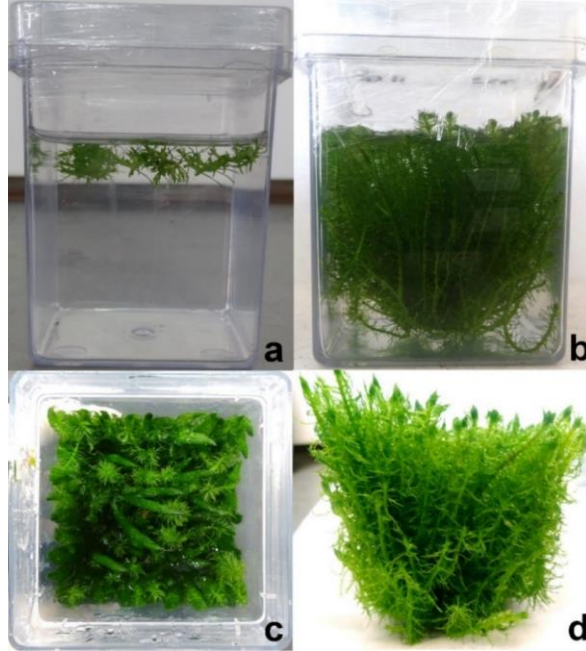


4. BULGULAR

4.1 Doku Kültürü Çalışmaları

Bitkilerin doku kültürü koşullarında çoklu üretimi sağlanmıştır. Bunun için *C. demersum*'un boğum eksplantları 1 mg/L BAP içeren MS besin ortamına aktarılmıştır. Kültür çalışmaları sıvı besin ortamında yürütülmüş ve eksplantlar üzerinde ilk sürgün oluşumları 10. günde gözlenmeye başlamıştır. Altı hafta sonunda deneme sonlandırılmıştır. Bitkilerin genel olarak MS'li kültür ortamında başarılı şekilde çoğaltımı sağlanmıştır (Şekil 4.1).

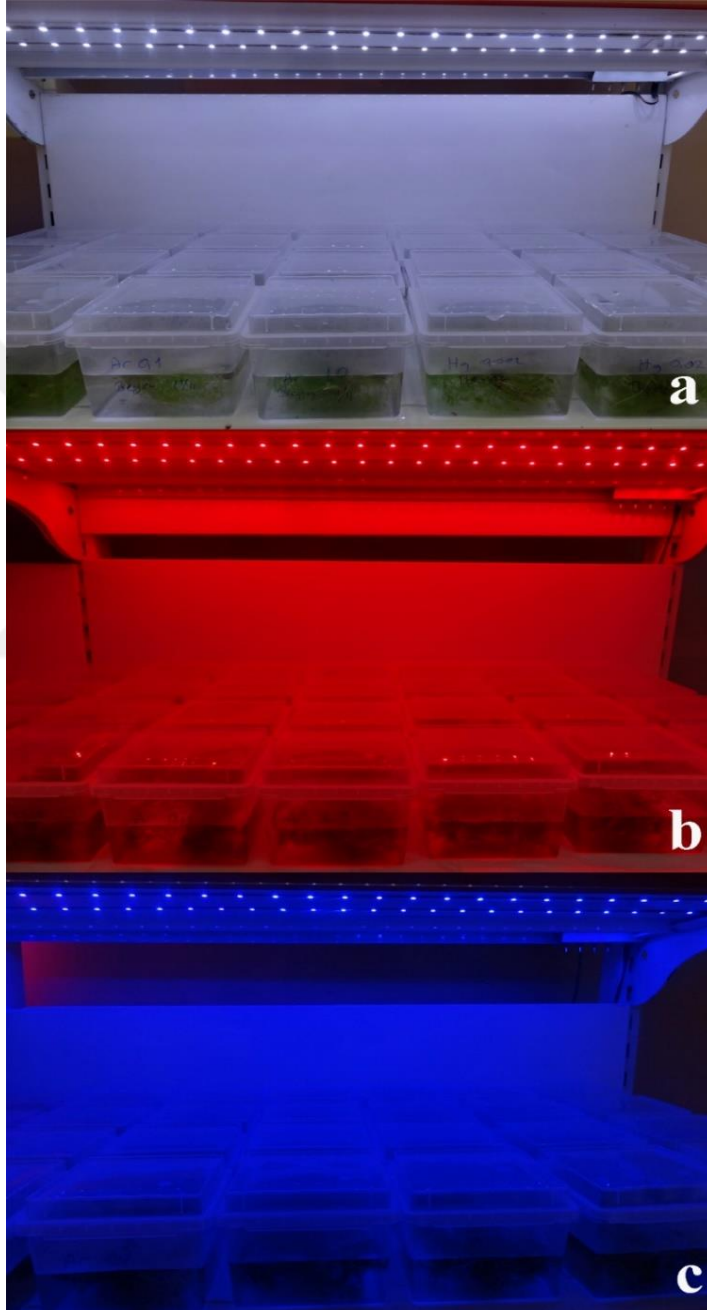
C. demersum doğal ortamında köksüz bir bitki olduğu için ayrıca köklendirme çalışmaları yapılmamıştır. *İn vitro* koşullarda üretilen bitkiler, daha sonra iklimlendirme dolabında dış koşullara alıştırılmıştır. Alıştırma işlemi tamamlanan bitkiler ile fitoremediasyon çalışmalarına geçilmiştir.



Şekil 4.1: 1 mg/L BAP içeren MS besin ortamında *C. demersum*'un boğum eksplantlarından sürgün rejenerasyonu. (a) iki hafta (b), (c) ve (d) altı hafta sonunda *in vitro* kültür ortamında çoğaltılan *C. demersum* sürgünleri.

4.2 Fitoremediasyon Çalışmaları

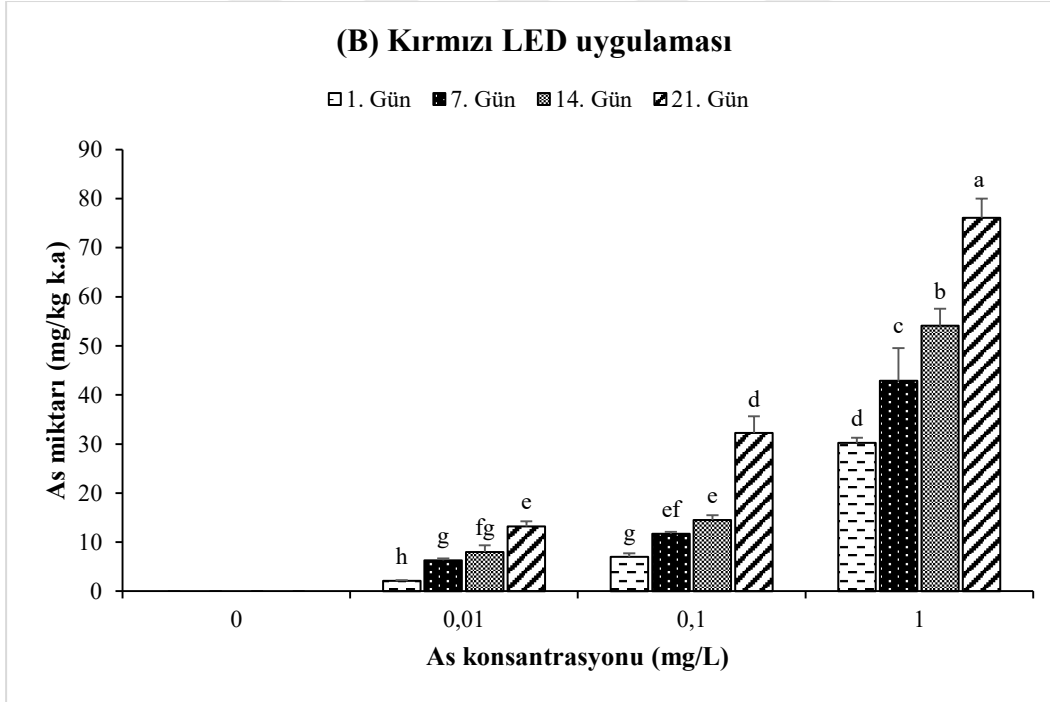
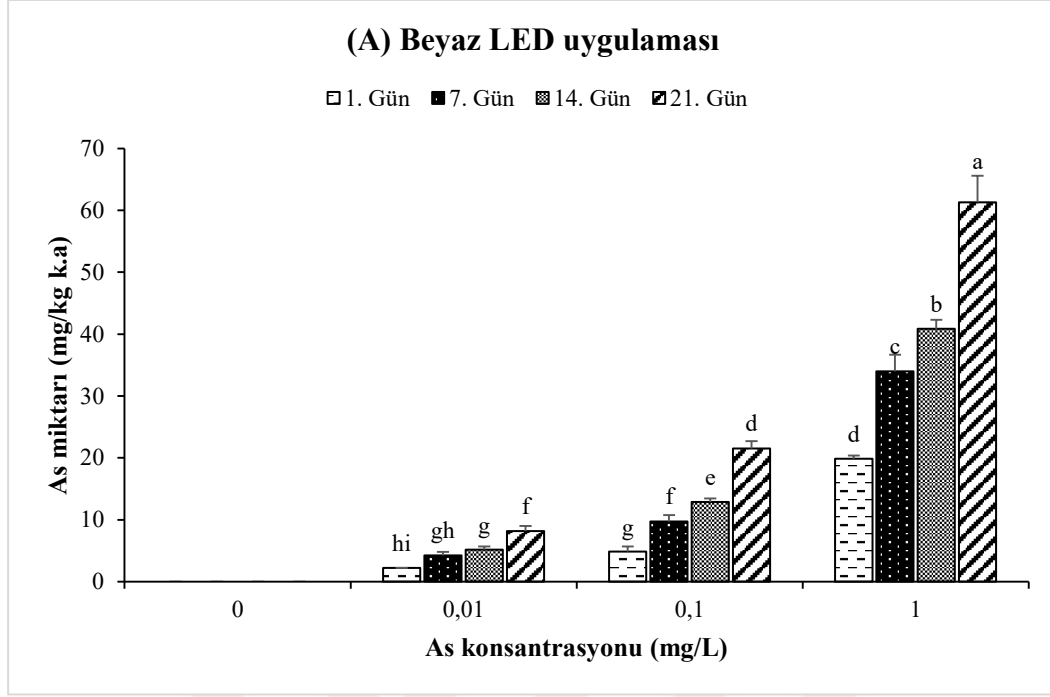
Doku kültürü koşullarında üretilen bitkilerinin farklı ışıklar altında fitoremediasyon durumları araştırılmıştır. *C. demersum*, farklı konsantrasyonlarda As ve Hg etkisinde 1, 7, 14 ve 21 gün süresince bekletilmiş ve LED ışık olarak beyaz, kırmızı ve mavi LED ışıklar kullanılmıştır (Şekil 4.2).



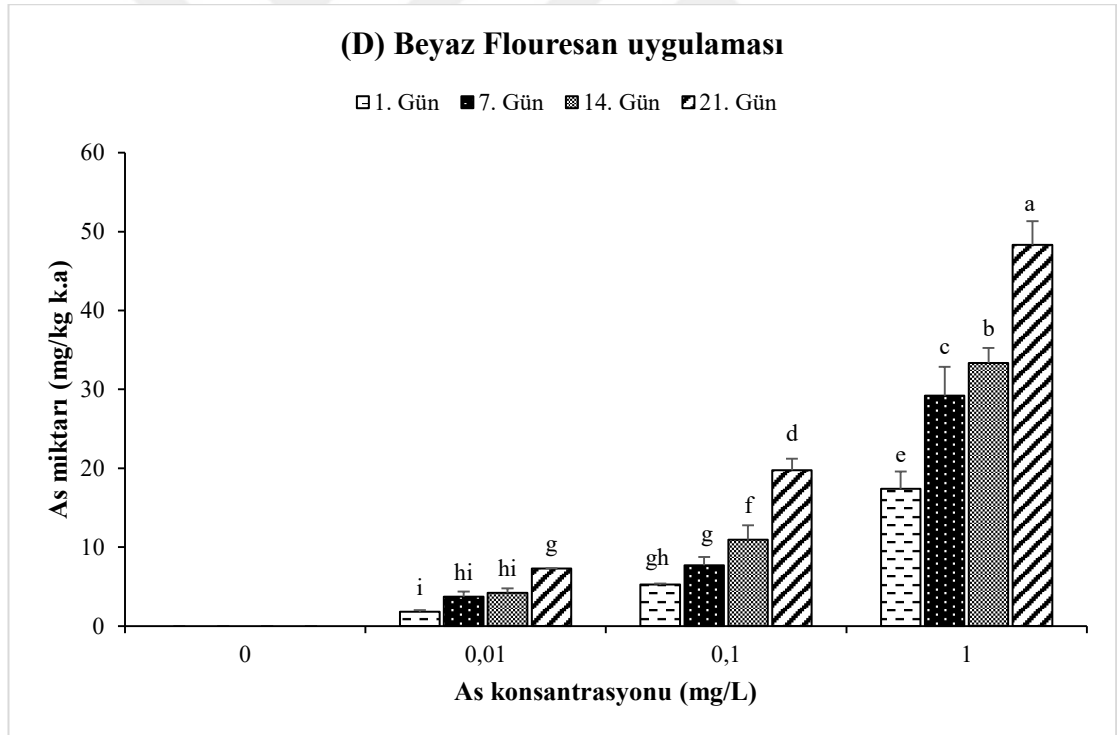
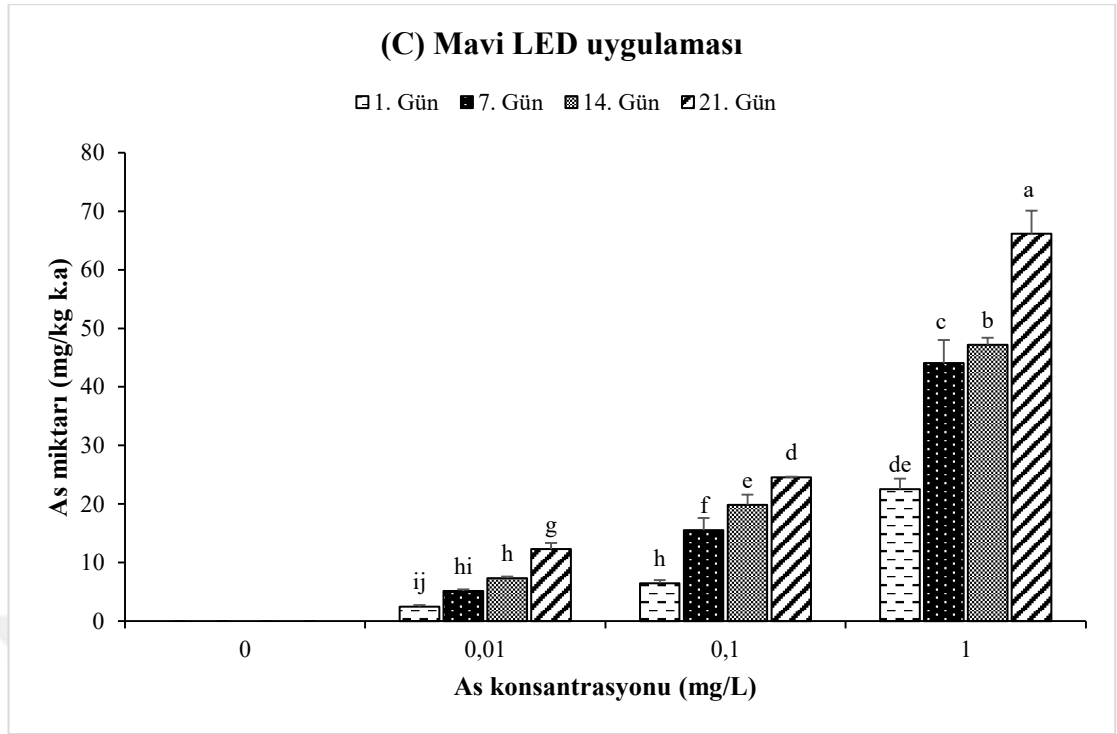
Şekil 4.2: Farklı ışık uygulamaları altında *C. demersum* bitkisinde fitoremediasyon çalışmaları. As ve Hg'nin fitoremediasyonu için (a) beyaz LED, (b) kırmızı LED ve (c) mavi LED ışık altına yerleştirilen *C. demersum* bitkileri.

4.2.1 Farklı ışık koşullarında As uygulanan bitkilerin ağır metal birikimleri

Farklı aydınlatma uygulamalarının bitkilerin metal akümülyasyon yetenekleri üzerine önemli etkileri ($p < 0,05$) olduğu görülmüştür (Şekil 4.3). Genel olarak artan metal konsantrasyonu ve süresi ile bitkilerdeki metal birikimleri artmıştır. Çalışmalarda en yüksek metal birikimleri 21 gün sonunda ve 1 mg/L As etkisinde sırasıyla 76,06 mg/kg k.a olarak kırmızı LED altında, 66,15 mg/kg k.a olarak mavi LED altında, 61,29 mg/kg k.a olarak beyaz LED altında ve 48,31 mg/kg k.a olarak beyaz flouresan ışık altındaki bitkilerde kaydedilmiştir. En düşük metal birikimleri 1 günlük 0,01 mg/L As maruziyetinde sırasıyla 1,82 mg/kg k.a olarak beyaz flouresan ışık, 2,14 mg/kg k.a olarak kırmızı LED, 2,21 mg/kg k.a olarak beyaz LED, 2,49 mg/kg k.a mavi LED ve altındaki bitkilerde belirlenmiştir.



Şekil 4.3 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'da metal miktarları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'daki metal miktarları. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

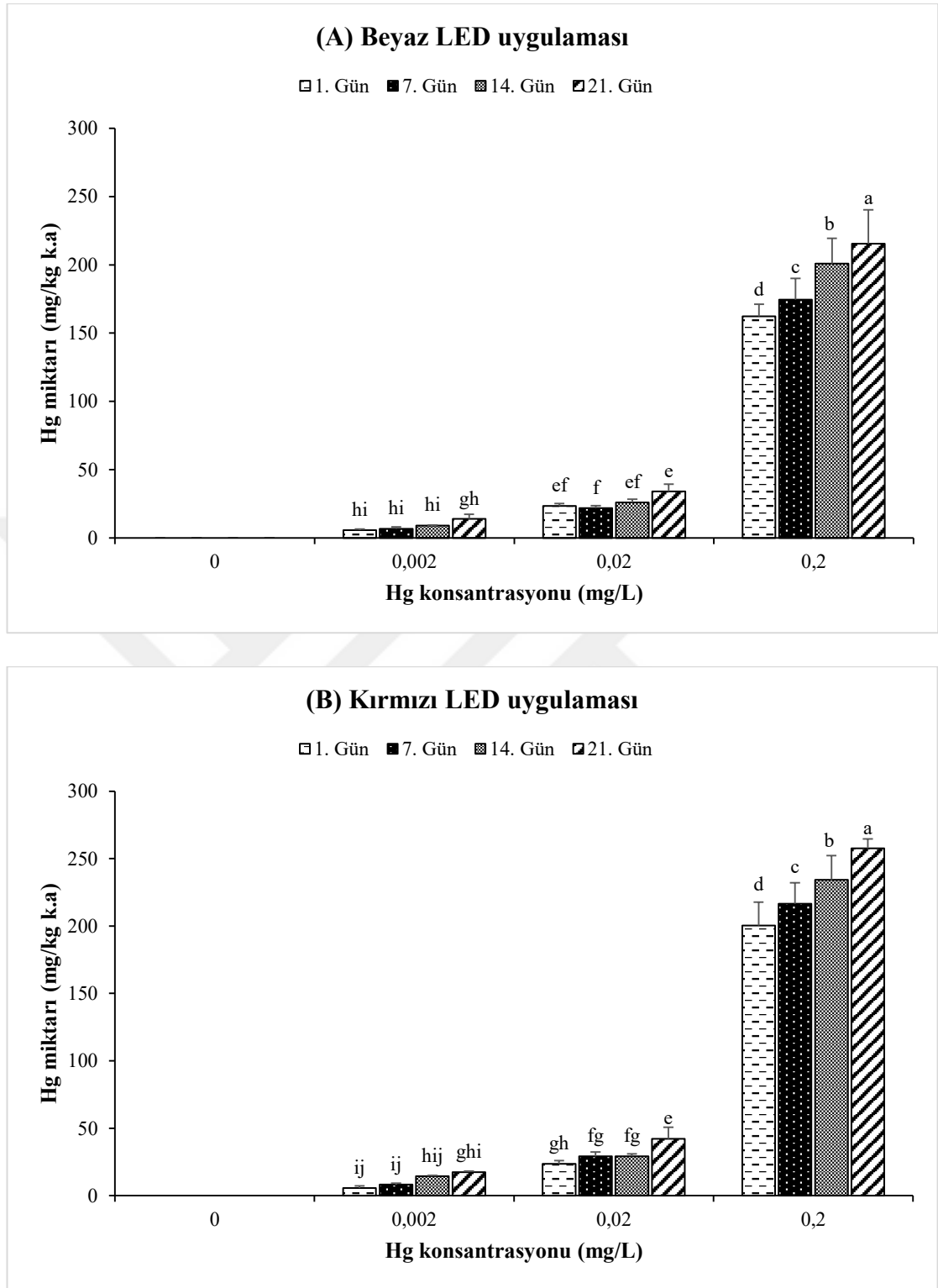


Şekil 4.3 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'da metal miktarları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'daki metal miktarları. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

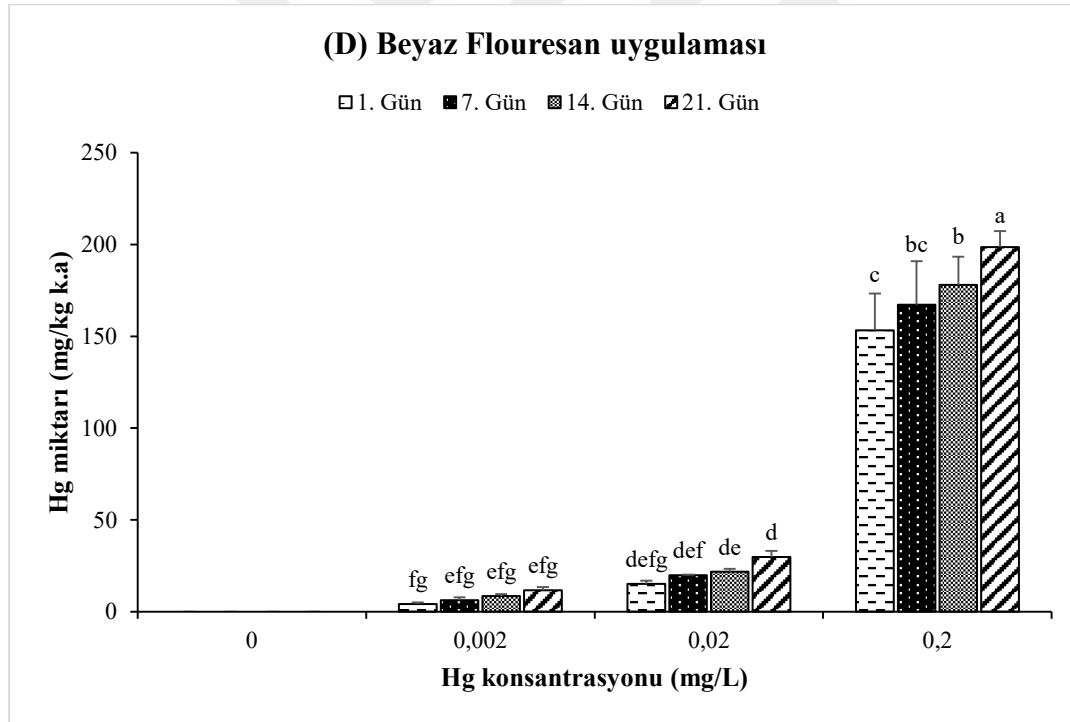
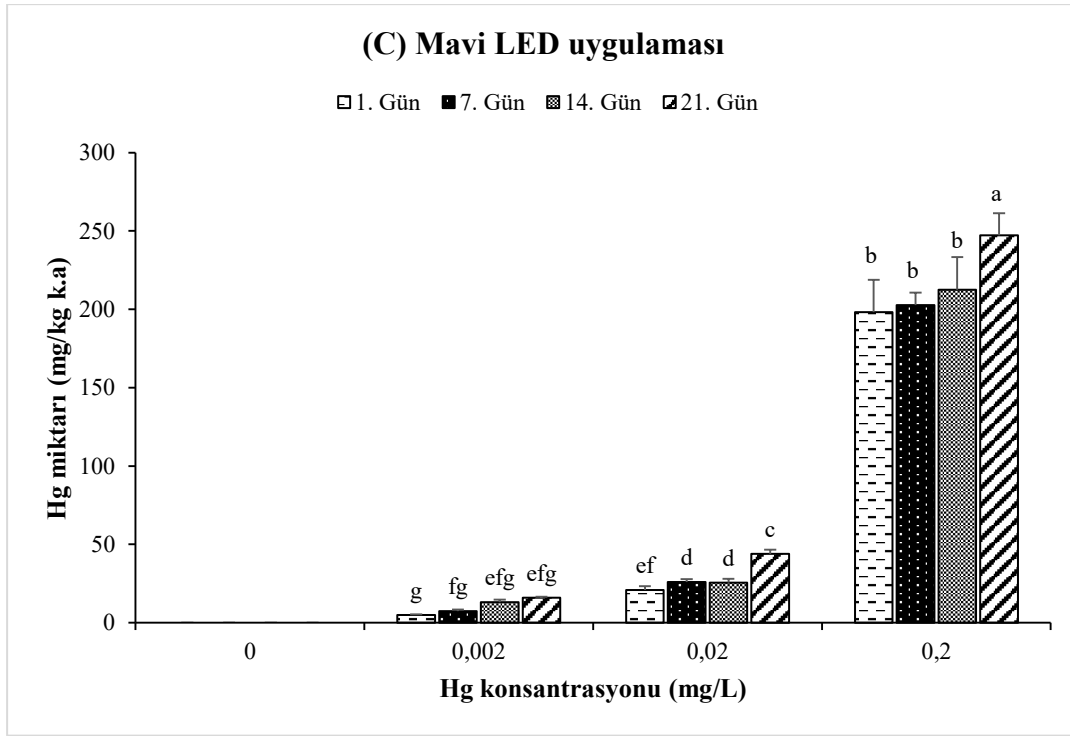
4.2.2 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanan bitkilerin ağır metal birikimleri

Bu denemede, farklı LED ve flouresan ışık altındaki bitkilerin Hg birikim seviyeleri araştırılmıştır. Tüm ışıklar altında Hg akümülayon değerleri istatistiksel olarak %95 güven aralığında önemli bulunmuştur (Şekil 4.4). Genel olarak Hg konsantrasyonu ve uygulama süresinin artışı ile bitkilerin akümüle ettiği Hg miktarı da artış göstermiştir. Hg'nin yüksek konsantrasyonlarındaki akümüle edilen miktar, Hg'nin düşük konsantrasyonlarından oldukça fazla çıkmıştır. Yine bitkilerin 1. günde bile yüksek seviyede Hg akümüle ettiği görülmüştür.

En yüksek metal birikimleri 21 gün sonunda ve 0,2 mg/L Hg etkisinde sırasıyla 257,69 mg/kg k.a olarak kırmızı LED, 247,29 mg/kg k.a olarak mavi LED, 215,52 mg/kg k.a olarak beyaz LED ve 198,54 mg/kg k.a olarak beyaz flouresan ışık altında bulunmuştur. En düşük Hg akümülayonu 1 günlük 0,002 mg/L Hg maruziyetinde sırasıyla 4,07 mg/kg k.a olarak beyaz flouresan ışık, 4,92 mg/kg k.a mavi LED, 5,61 mg/kg k.a olarak kırmızı LED ve 5,67 mg/kg k.a olarak beyaz LED ışık altında tespit edilmiştir.



Şekil 4.4 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'da metal miktarları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'daki metal miktarları. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



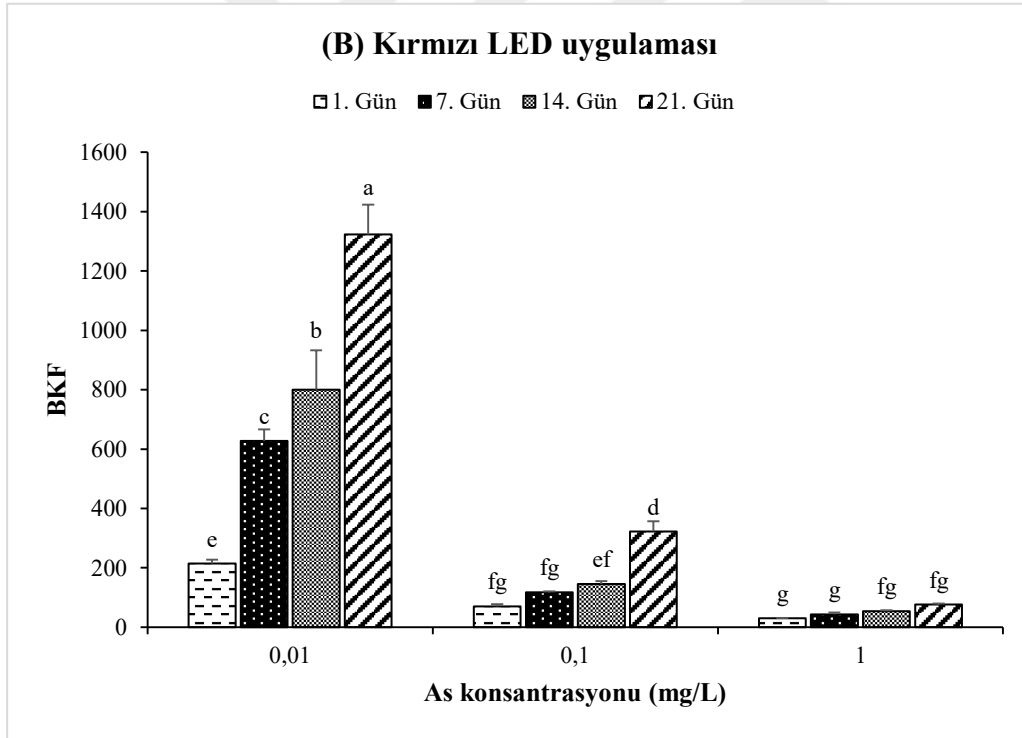
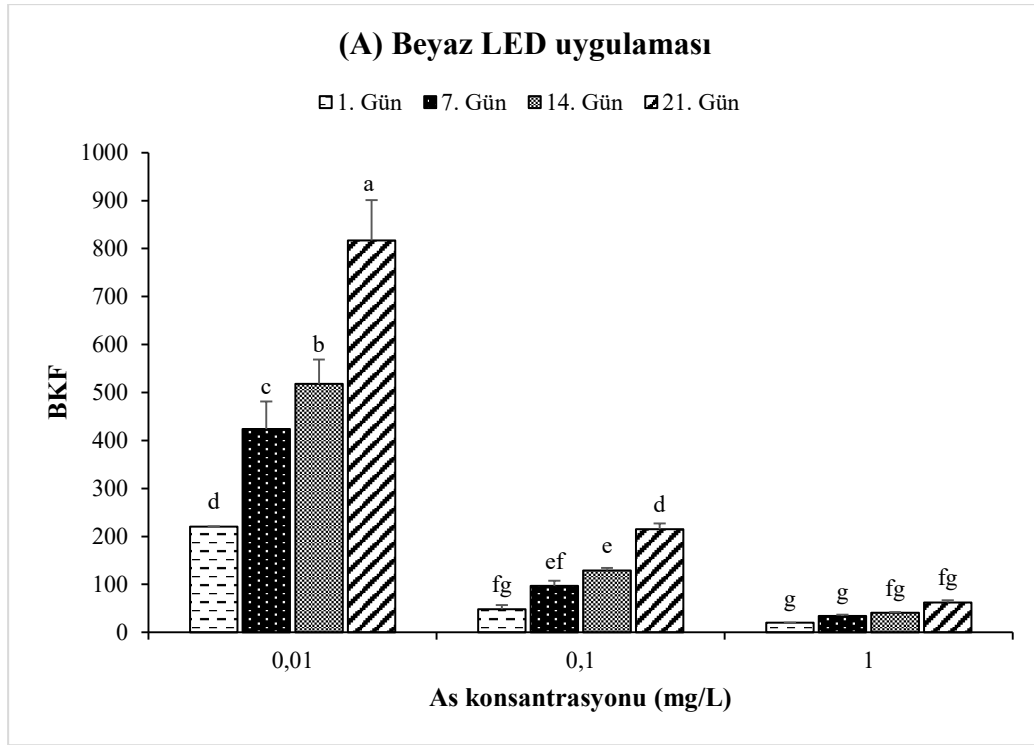
Şekil 4.4 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'da metal miktarları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'daki metal miktarları. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

4.3 Biyokonsantrasyon Faktörü (BKF)

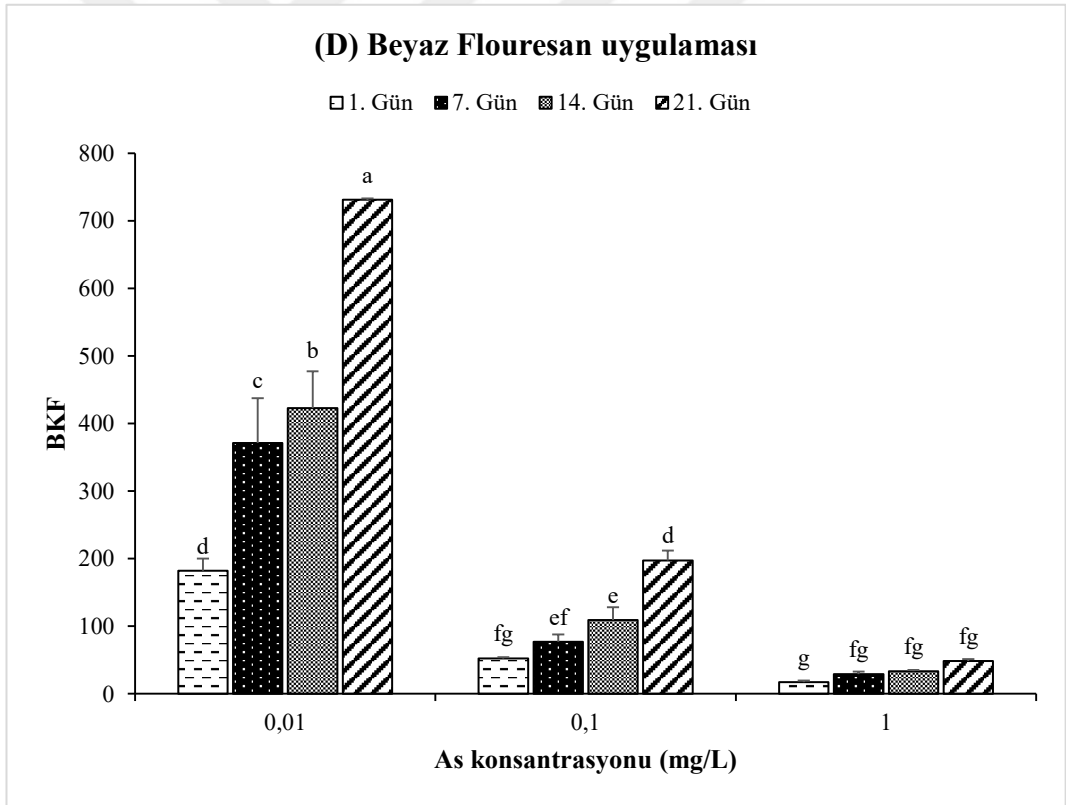
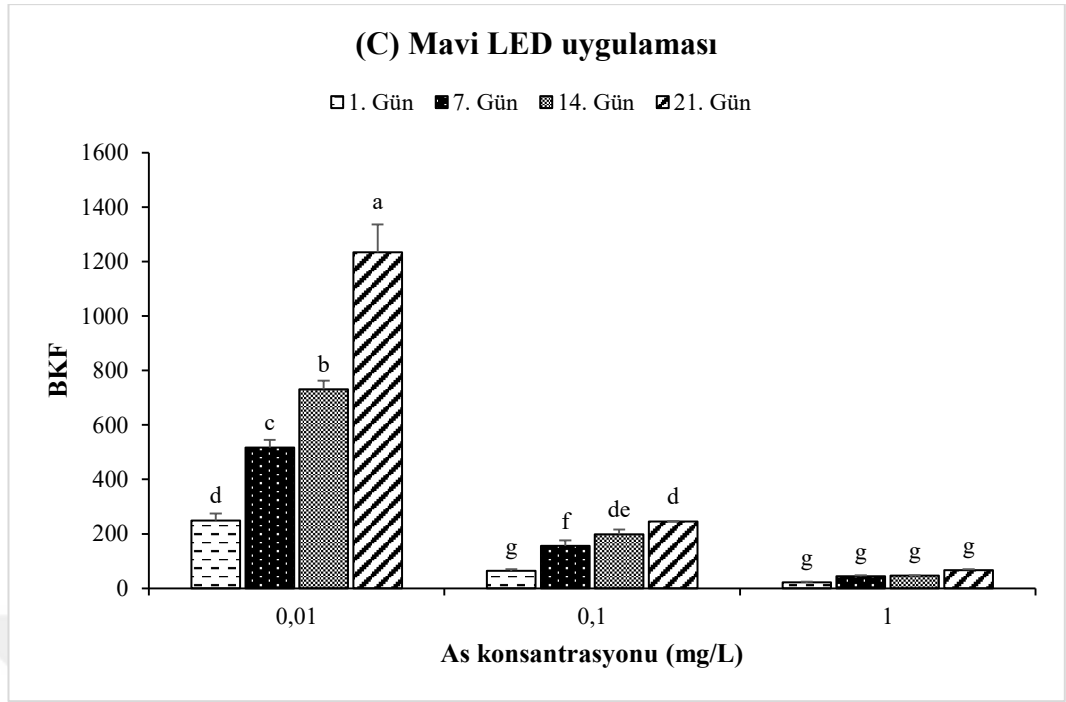
4.3.1 Farklı ışık koşullarında As uygulanan bitkilerin BKF değerleri

Farklı ışıklar altında 1-21 gün boyunca farklı konsantrasyonlarda As etkisinde bırakılan bitkilerin BKF değerleri incelenmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edilmiş ve veriler arasında $p<0,05$ seviyesine anlamlı farklılıklar bulunmuştur (Şekil 4.5)

BKF değerlerinin farklı ışıklarda farklı sonuçlar verdiği görülmüştür. Tüm As konsantrasyonları kıyaslandığından en yüksek BKF değeri, en düşük As konsantrasyonunda (0,01 mg/L) kaydedilmiştir. Beyaz LED ışık uygulamasında en yüksek BKF değerleri 1. gün için 220,60 olarak, 7 gün sonunda 424 olarak, 14 gün sonunda 517,76 olarak ve 21 gün sonunda 817,19 olarak belirlenmiştir. Kırmızı LED ışık uygulamasında en yüksek BKF değerleri 1. gün için 214,03 olarak, 7 gün sonunda 627,53 olarak, 14 gün sonunda 799,76 olarak ve 21 gün sonunda 1323,05 olarak tespit edilmiştir. Mavi LED ışık uygulamasında en yüksek BKF değerleri 1. gün için 249 olarak, 7 gün sonunda 516,89 olarak, 14 gün sonunda 731,43 olarak ve 21 gün sonunda 1233,75 olarak bulunmuştur. Beyaz flouresan ışık uygulamasında en yüksek BKF değerleri 1. gün için 182,03 olarak, 7 gün sonunda 371,26 olarak, 14 gün sonunda 422,80 olarak ve 21 gün sonunda 731,13 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.5 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'da BKF değerleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'daki BKF değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

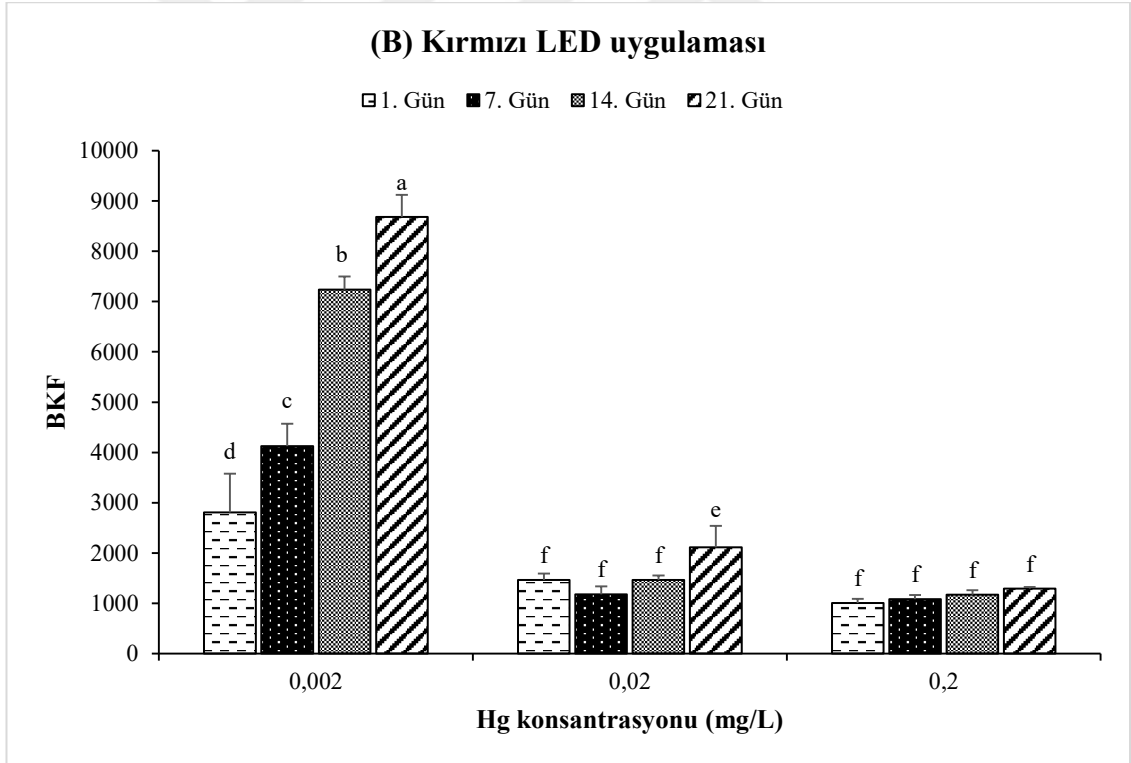
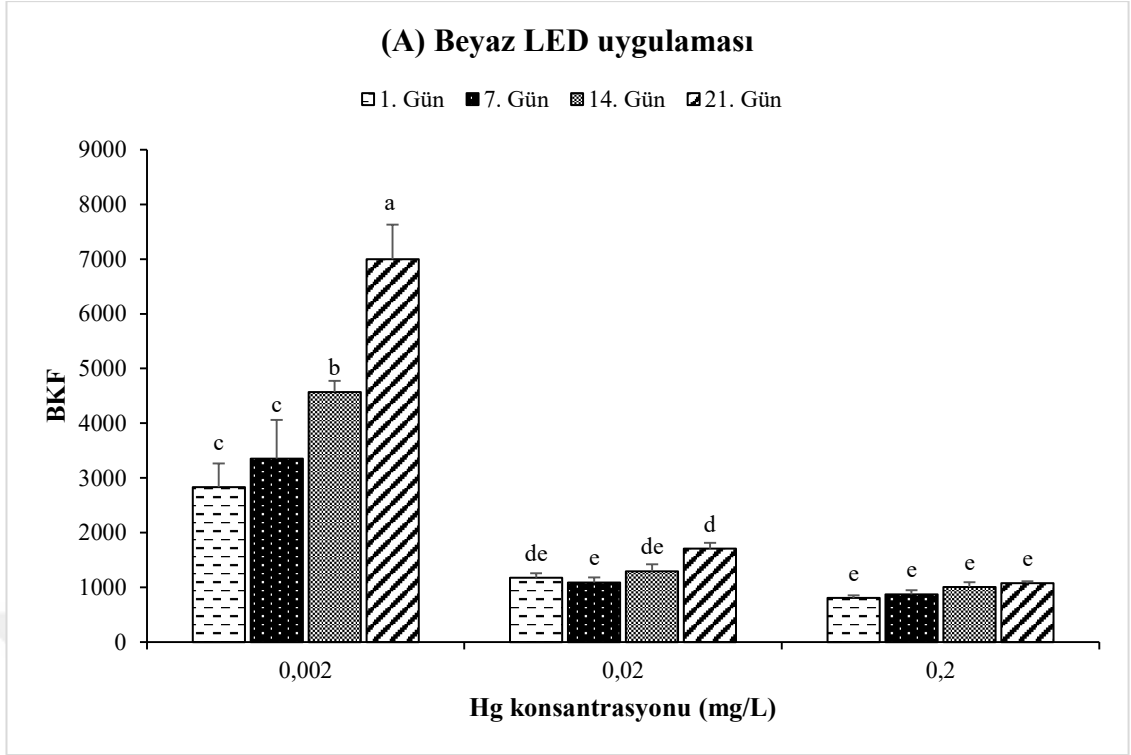


Şekil 4.5 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'da BKF değerleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'daki BKF değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma n=3). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

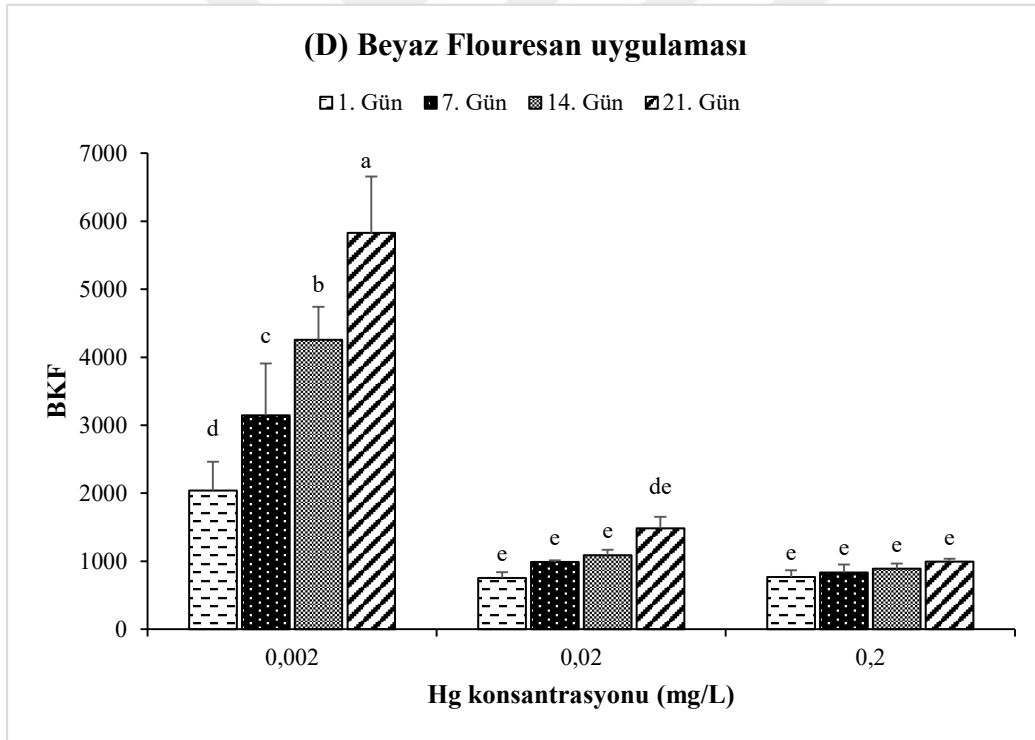
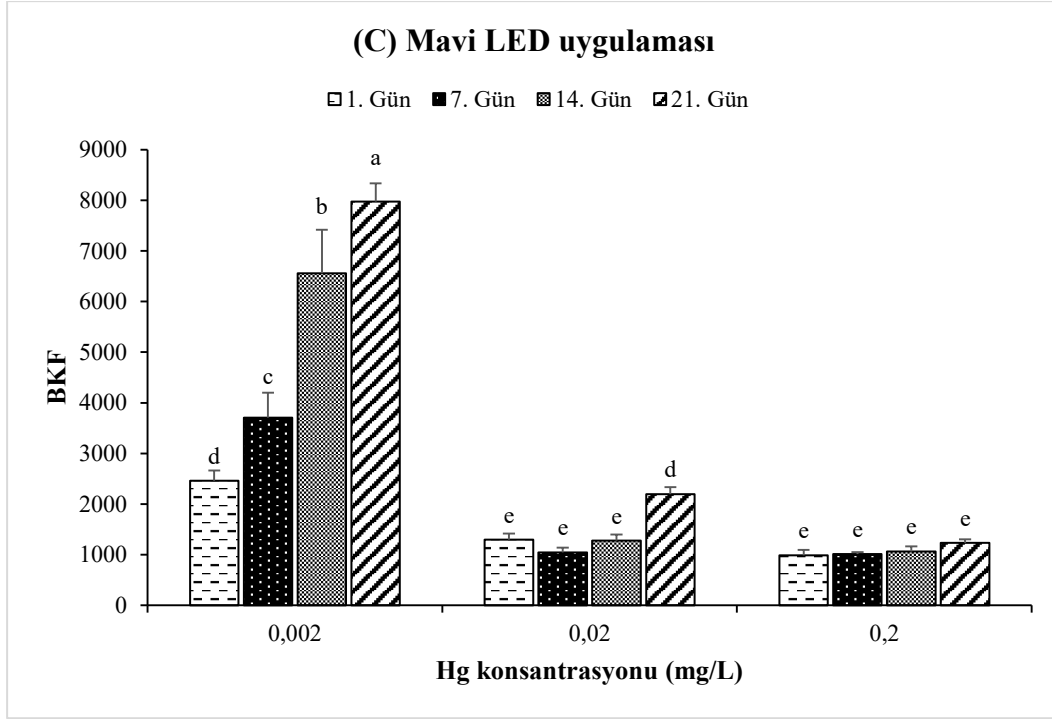
4.3.2 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanan bitkilerin BKF değerleri

Farklı ışıklar altında artan Hg etkisine bırakılan bitkilerin BKF değerleri incelenmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak $p<0,05$ seviyesine anlamlı farklılıklar bulunmuştur (Şekil 4.6). BKF değerlerinin farklı ışıklarda farklı sonuçlar verdiği görülmüştür. Tüm ışık uygulamalarında maksimum BKF değerleri, 21 gün sonunda en düşük Hg konsantrasyonunda (0,002 mg/L) sırasıyla kırmızı LED, mavi LED, beyaz LED ve beyaz flouresan ışık altında belirlenmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda Hg uygulaması BKF değerlerini düşürmüştür.





Şekil 4.6 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'da BKF değerleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'daki BKF değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



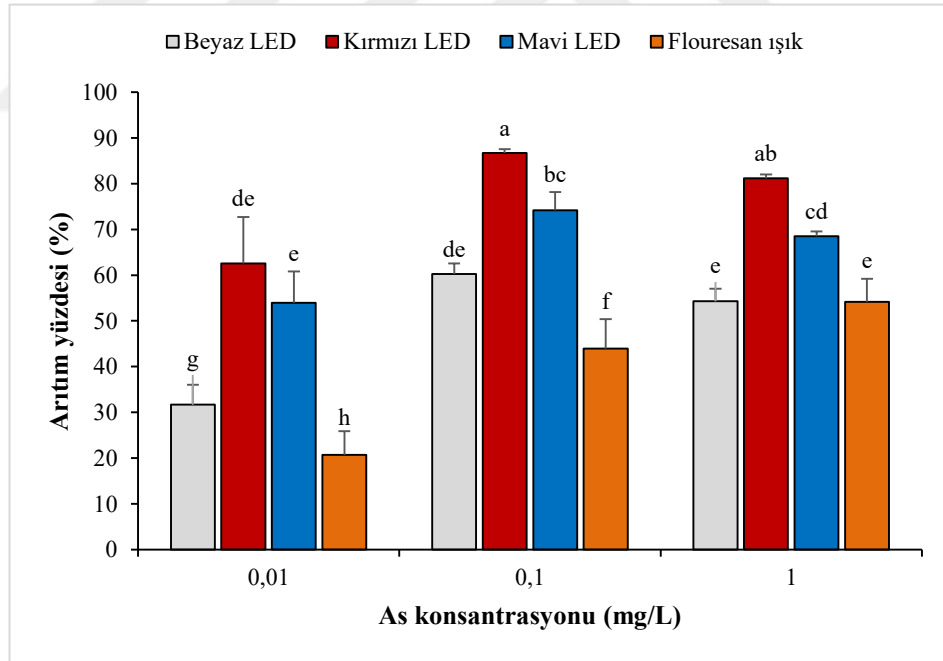
Şekil 4.6 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'da BKF değerleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'daki BKF değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma n=3). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

4.4 Su Örneklerinin Analizi

4.4.1 As uygulamaları

Farklı ışık ortamları altında bitkiler aracılığıyla As metalinin su ortamından uzaklaştırılması çalışılmıştır. *C. demersum* ile arıtım denemeleri kurulmuştur. Bunun sonucunda 21 gün sonunda su ortamında kalan As miktarları ICP-OES cihazında okutulmuş ve bitkilerin arıtım yüzdeleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.7).

En yüksek As arıtım yüzdesi, 0,1 mg/L As içeren uygulamada kırmızı LED ışık altındaki bitkilerin bulunduğu su ortamında (%86,75), ardından mavi ışık (%74,15) altındaki bitkilerin bulunduğu su ortamında elde edilmiştir. Suda tespit edilen en fazla As miktarı beyaz flouresan ışık altındaki bitkilerin bulunduğu ortamda belirlenmiştir. *C. demersum* uygulamasında genel olarak en yüksek arıtım yüzdeleri tüm ışıklar için 0,1 mg/L As içeren ortamda kaydedilmiştir. LED ışıkların flouresan ışıklara göre daha fazla arıtım yüzdesine sahip olduğu görülmüştür.

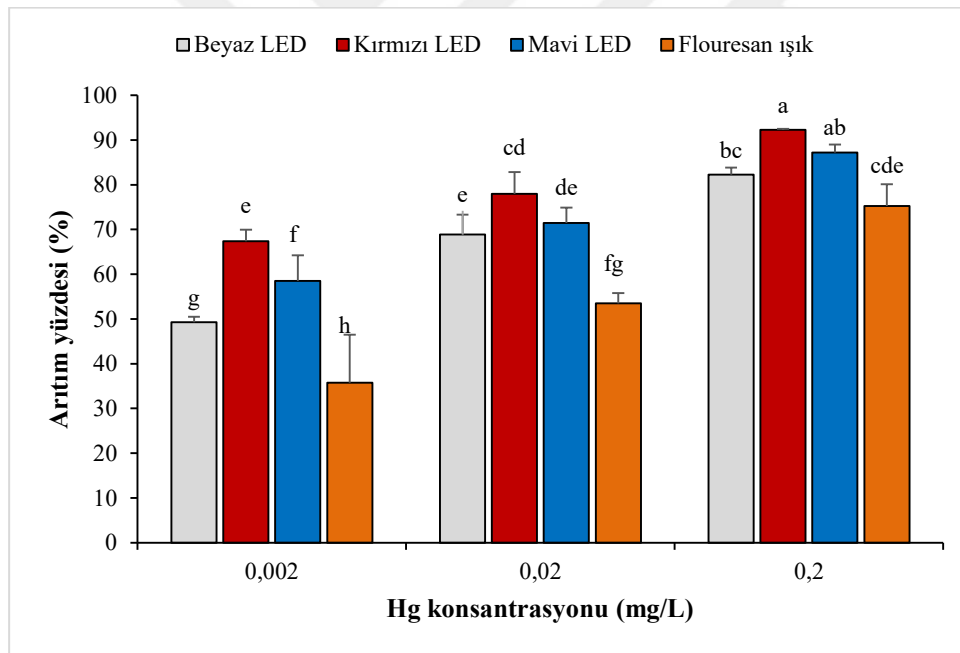


Şekil 4.7 : Farklı aydınlatma koşullarında *C. demersum* uygulanmış sudaki As yüzdesi. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında *C. demersum* uygulanmış sudaki As miktarları. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

4.4.2 Hg Uygulamaları

Fitoremediasyon denemeleri kurulan su örneklerinde Hg için artırım yüzdesi değerlendirilmiştir. LED ve flouresan ışık uygulamalarının sonuçları etkilediği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup ($p<0,05$) (Şekil 4.8).

Maksimum Hg artırım yüzdesi, 0,2 mg/L Hg içeren uygulamada kırmızı LED ışık altındaki bitkilerin bulunduğu su ortamında %92,25 olarak belirlenmiştir. Ardından mavi LED ışık altındaki bitkilerin bulunduğu su ortamında %82,24 olarak elde edilmiştir. En düşük artırım yüzdeleri tüm ışıklar içerisinde beyaz flouresan ışık altındaki bitkilerde belirlenmiştir. LED ışıkların flouresan ışıklara göre daha fazla artırım yüzdesine sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 4.8 : Farklı aydınlatma koşullarında *C. demersum* uygulanmış sudaki Hg yüzdesi. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında *C. demersum* uygulanmış sudaki Hg miktarları. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

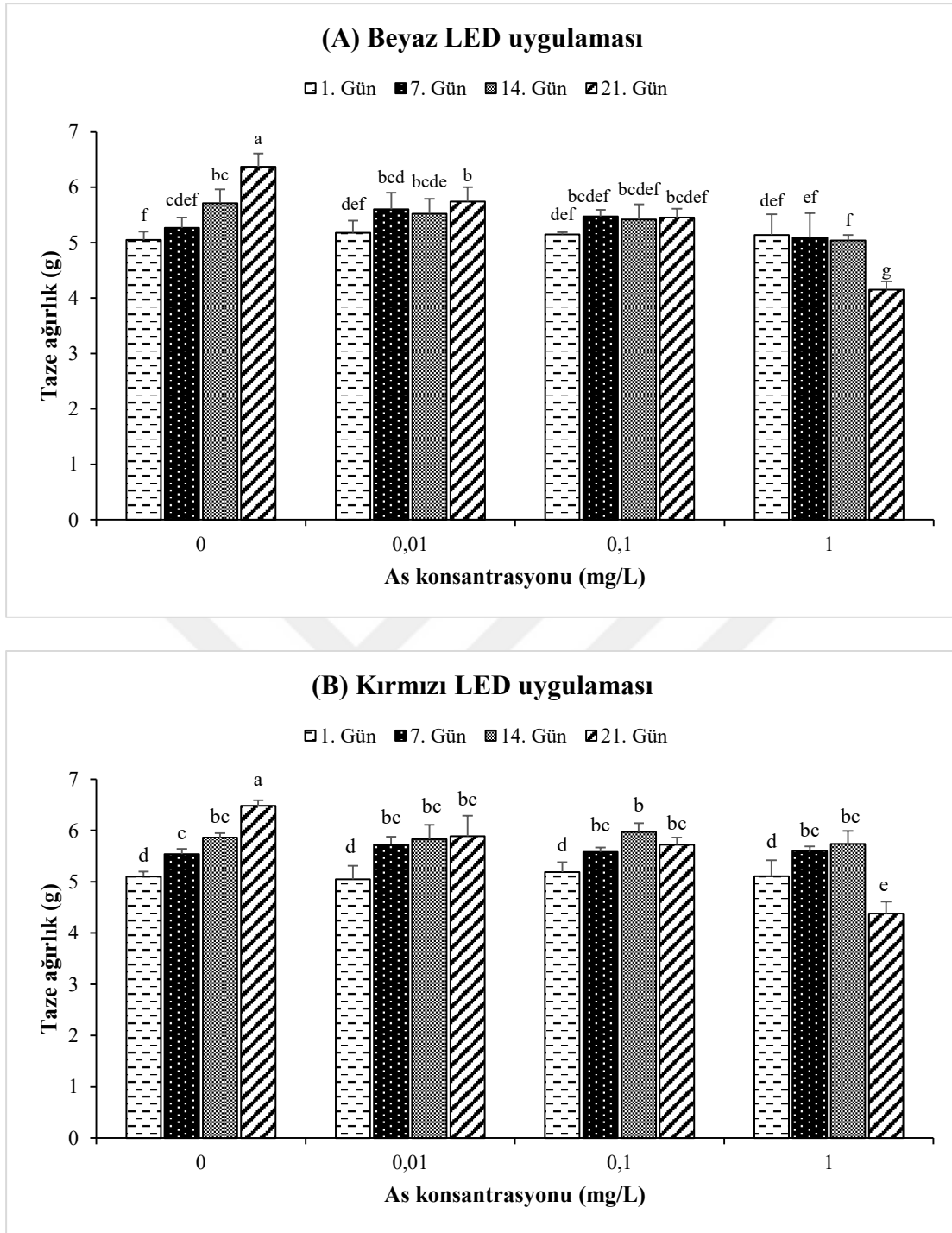
4.5 Taze ve Kuru Ağırlık Miktarları

4.5.1 Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış bitkilerin taze ve kuru ağırlıkları

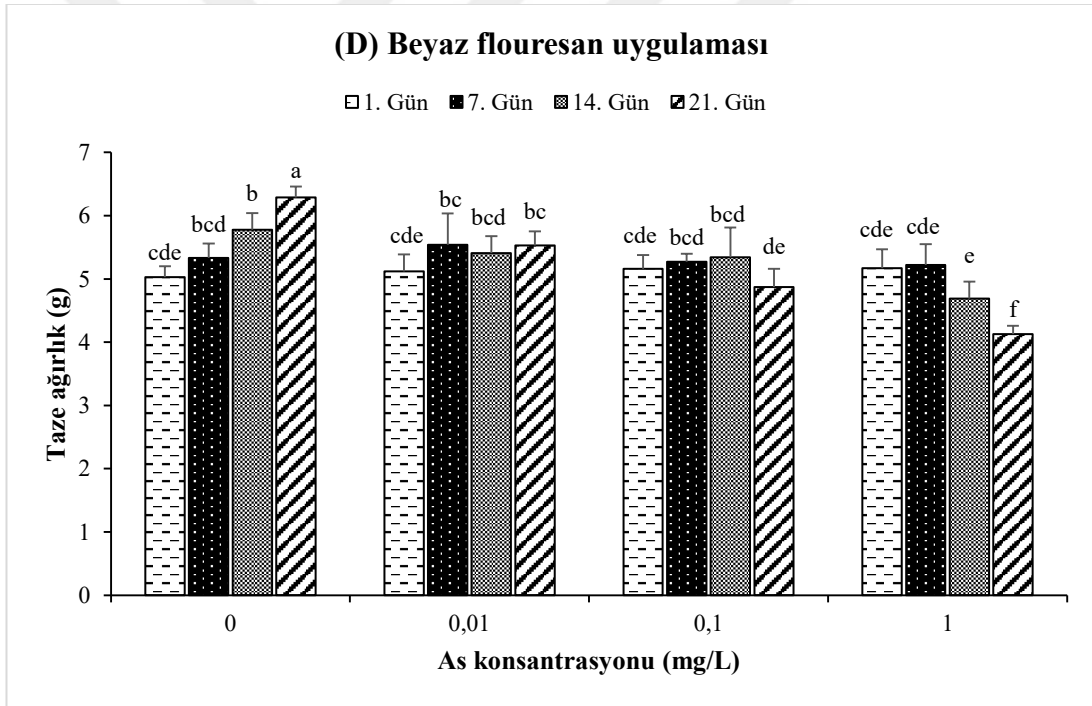
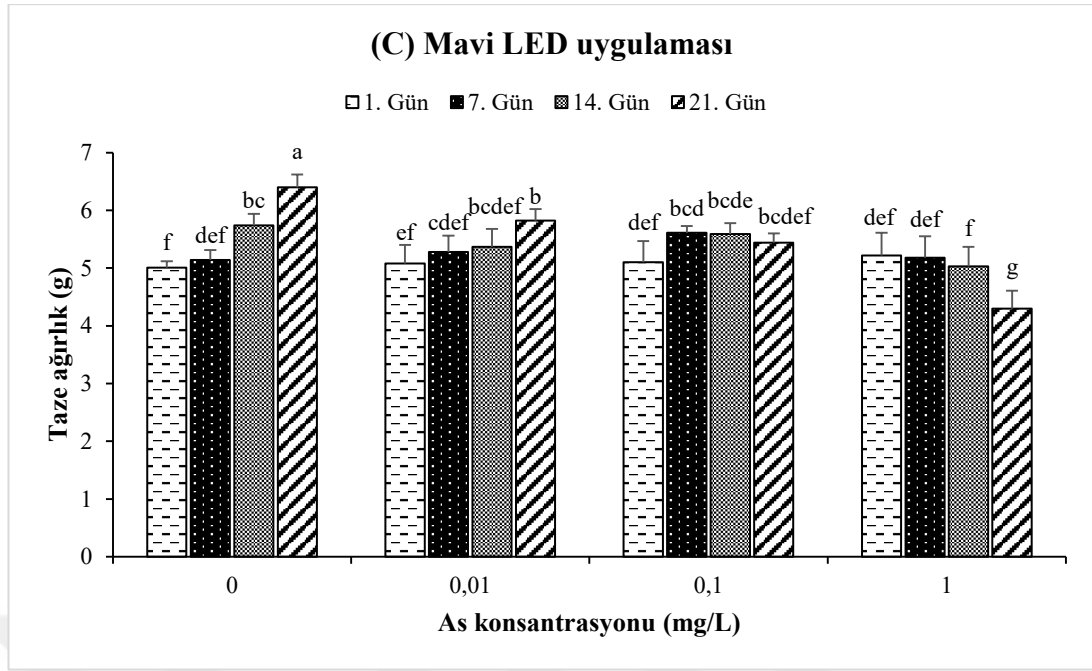
Farklı ışık koşullarında As uygulan bitkilerin taze ağırlıkları beyaz LED, kırmızı LED, mavi LED ve beyaz flouresan ışık için Şekil 4.9’da verilmiştir. Genel olarak bitkilerin taze ağırlıkları artan As konsantrasyonuna ve uygulama süresine bağlı olarak azalış göstermiştir. Tüm ışık uygulamalarında en yüksek taze ağırlıklar 21. günde ve kontrol grubunda ölçülmüştür. Buna karşın kontrol grubuna kıyasla en düşük taze ağırlıklar 21. günde ve 1 mg/L As uygulanan ışık ortamlarında kaydedilmiştir.

Beyaz LED ışık uygulamasında 1. ve 7. günlerde kontrol grubuna göre düşük konsantrasyonlarda uygulanan As (0,01 ve 0,1 mg/L) için taze ağırlıklarda artış görülmüş fakat yüksek As konsantrasyonunda ve 14. ve 21. günde taze ağırlıklarda istatistiksel olarak anlamlı azalmalar belirlenmiştir. Benzer şekilde, kırmızı ve mavi LED ışıklar altında da düşük As uygulaması ile taze ağırlıklarda kontrole göre artışlar görülmüştür. Tüm ışıklar kıyaslandığında en düşük taze ağırlık 21. günde sırasıyla beyaz flouresan ışık, beyaz LED, mavi LED ve kırmızı LED altındaki bitkilerde tartılmıştır.

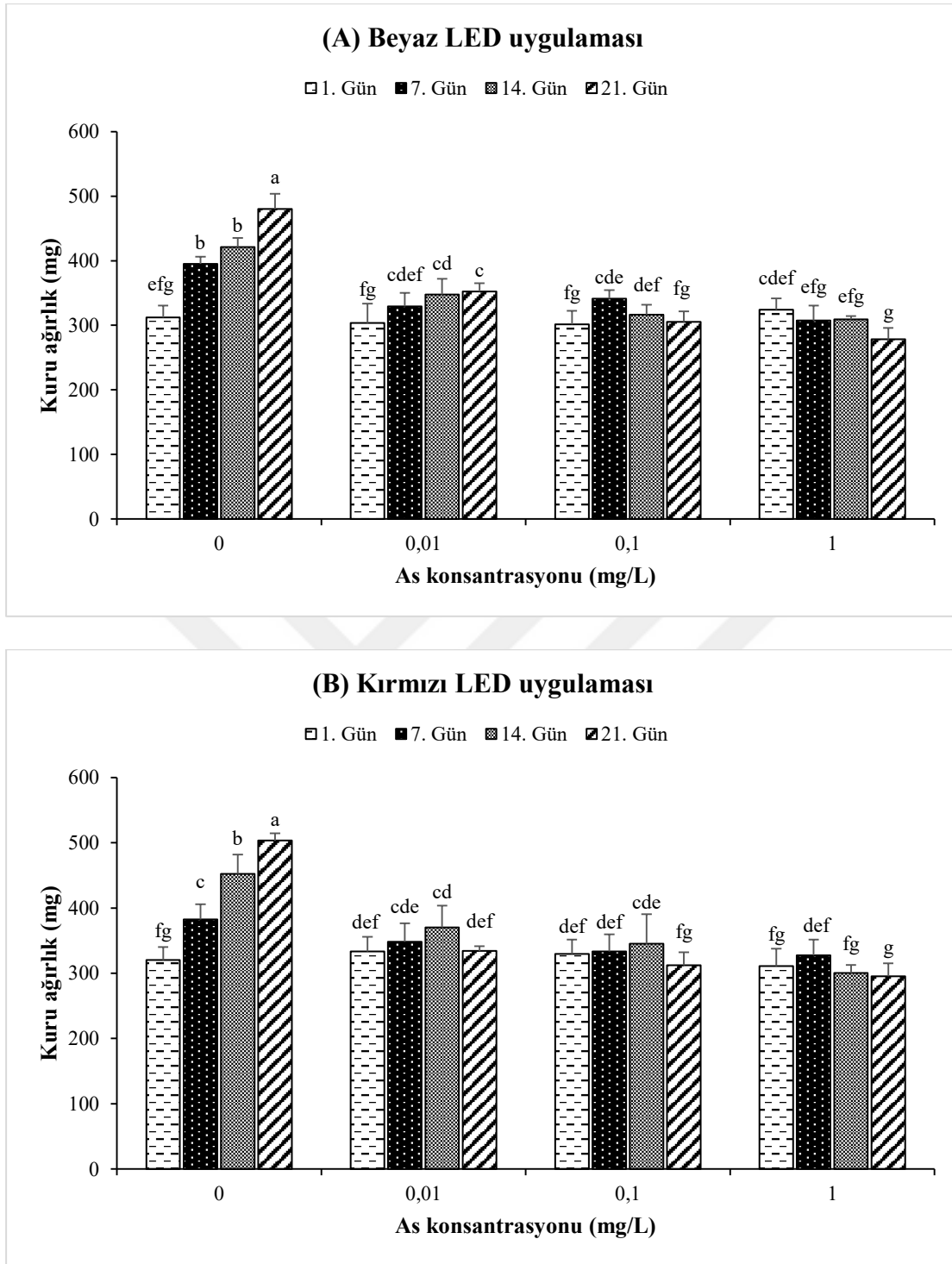
Farklı aydınlatma koşullarında As maruziyetine bırakılan *C. demersum*’un kuru ağırlıkları Şekil 4.10’da gösterilmiştir. En yüksek kuru ağırlıklar genel olarak As uygulanmamış bitkilerde elde edilmiştir. Buna karşın yüksek dozda As uygulaması ve uzun süre As maruziyetleri kuru ağırlıkları olumsuz etkilemiştir. Tüm ışık uygulamalarında en düşük kuru ağırlıklar 21. günde ve 1 mg/L As uygulamasında tespit edilmiştir.



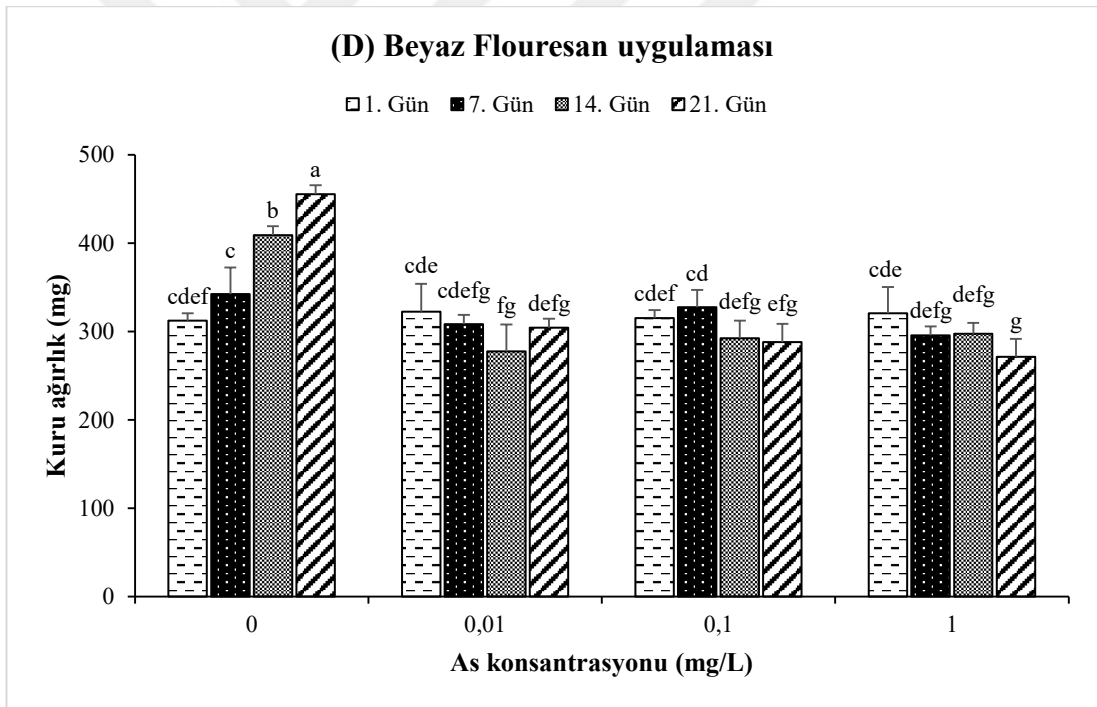
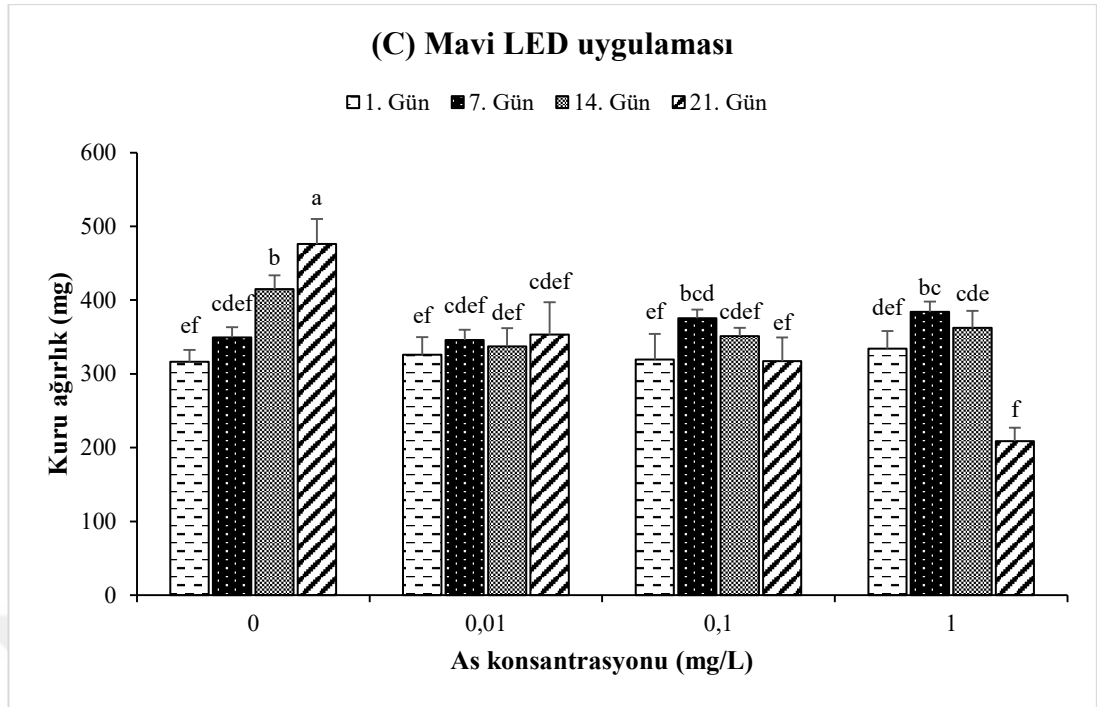
Şekil 4.9 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un taze ağırlıkları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un taze ağırlık değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



Şekil 4.9 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un taze ağırlıkları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un taze ağırlık değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



Şekil 4.10 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un kuru ağırlıkları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un kuru ağırlık değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

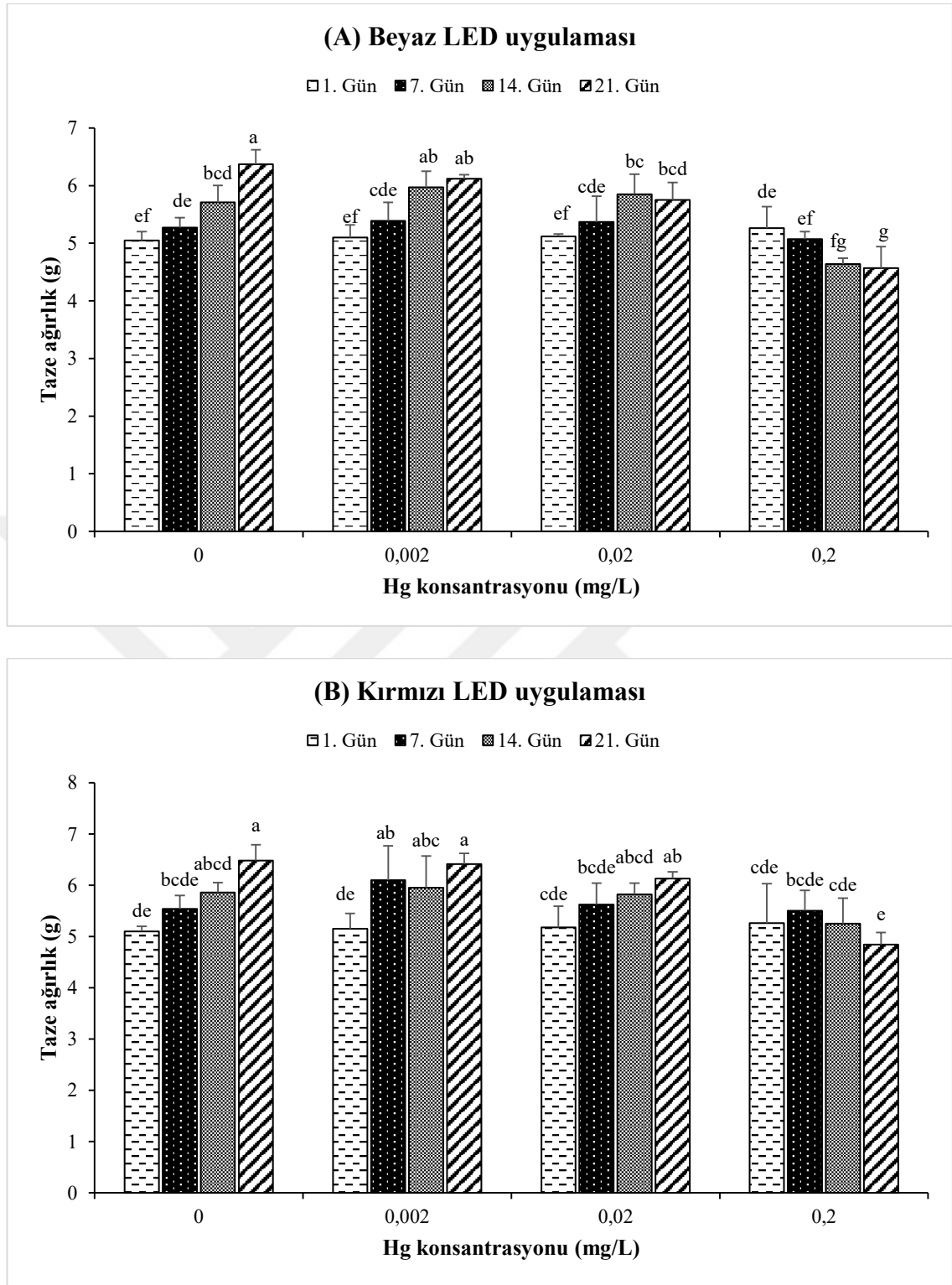


Şekil 4.10 (devam) : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un kuru ağırlıkları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un kuru ağırlık değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

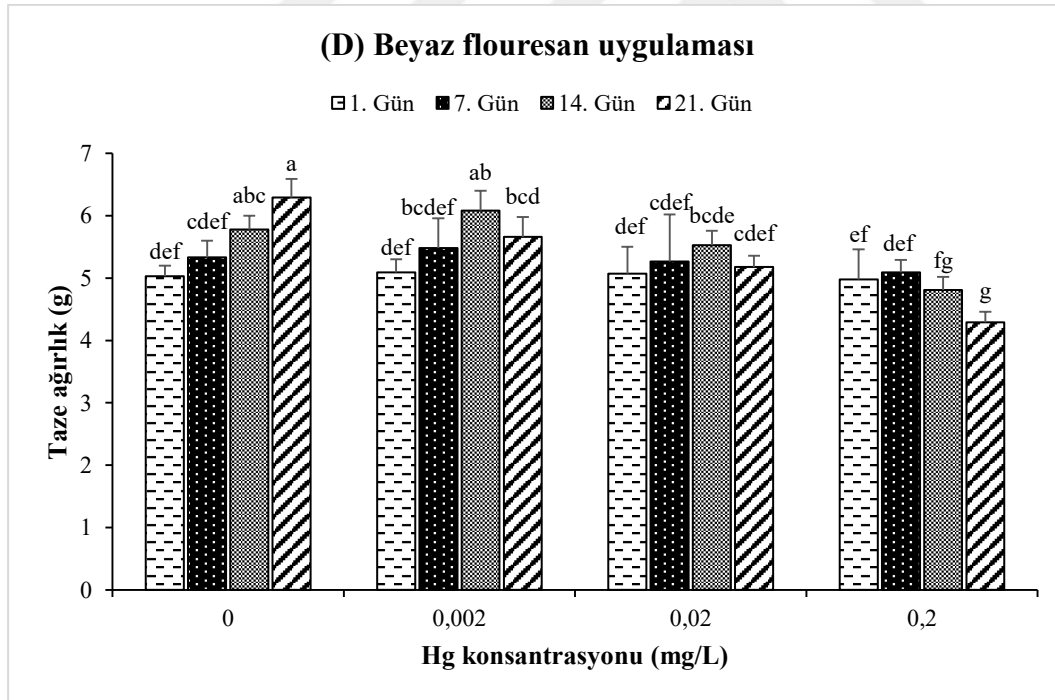
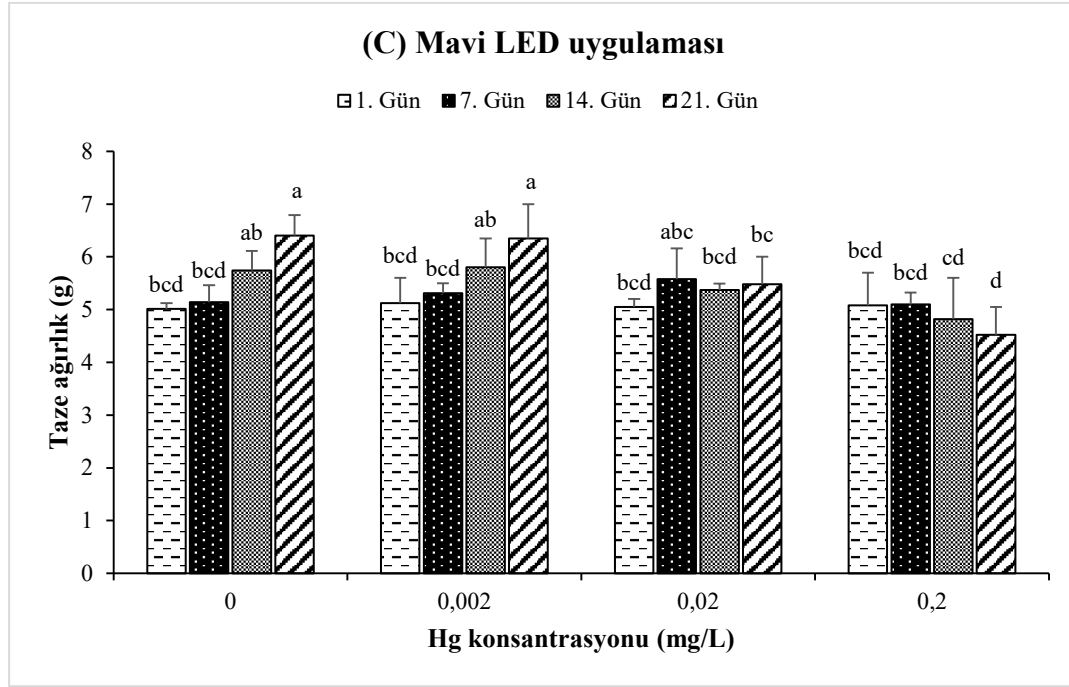
4.5.2 Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış bitkilerin taze ve kuru ağırlıkları

Beyaz, kırmızı, mavi LED ve beyaz flouresan ışık uygulamaları altında farklı konsantrasyonlarda Hg verilen bitkilerin taze ağırlık değerleri Şekil 4.11’de verilmiştir. Uygulanan Hg artışı ile birlikte bitkilerin taze ağırlıklarının kontrole göre anlamlı azalmalar belirlenmiştir ($p<0,05$). En yüksek taze ağırlıklar genel olarak kontrol grubunda belirlenmiştir. Kontrole göre en düşük taze ağırlıklar 21. günde ve 0,2 mg/L Hg uygulanan bitkilerde görülmüştür. Düşük konsantrasyonlarda Hg uygulanması ile bitkilerin taze ağırlıklarında kontrole göre kısmi artışlar belirlenmiştir. Özellikle mavi LED ışık altında ve 0.002 mg/L Hg uygulamasında uygulama periyodunun artışına göre taze ağırlıklarda da artışlar gözlenmiştir. Tüm ışıklar kıyaslandığında en düşük taze ağırlık 21. günde sırasıyla beyaz flouresan ışık, mavi LED, beyaz LED ve kırmızı LED altındaki bitkilerde belirlenmiştir.

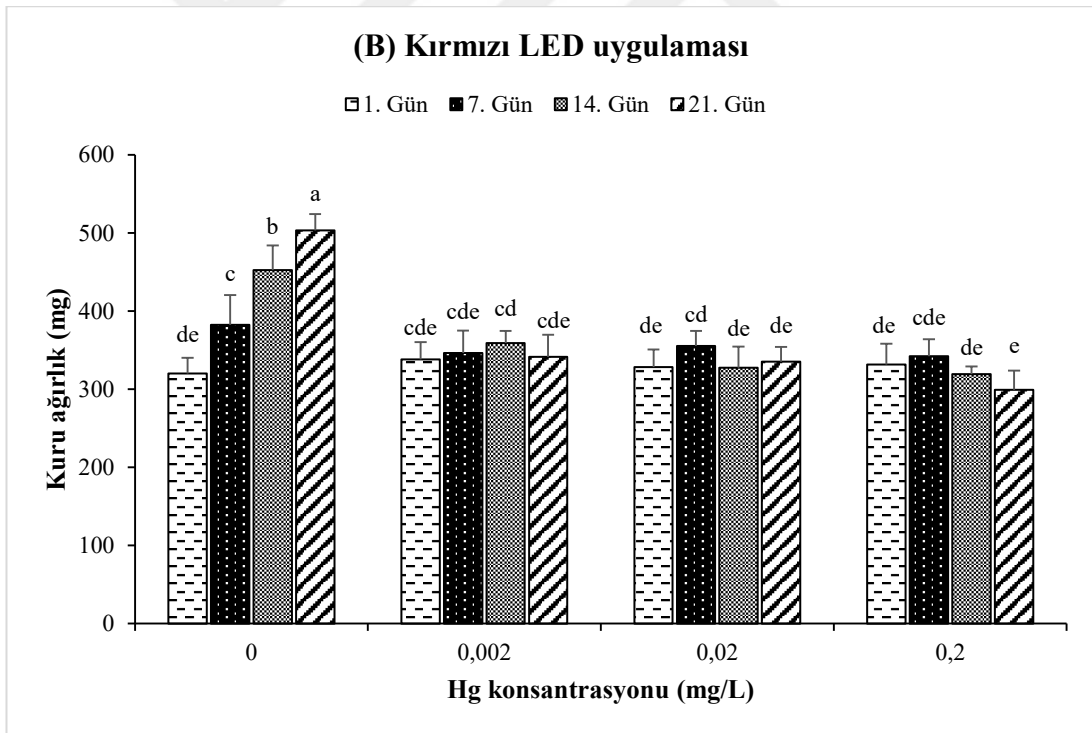
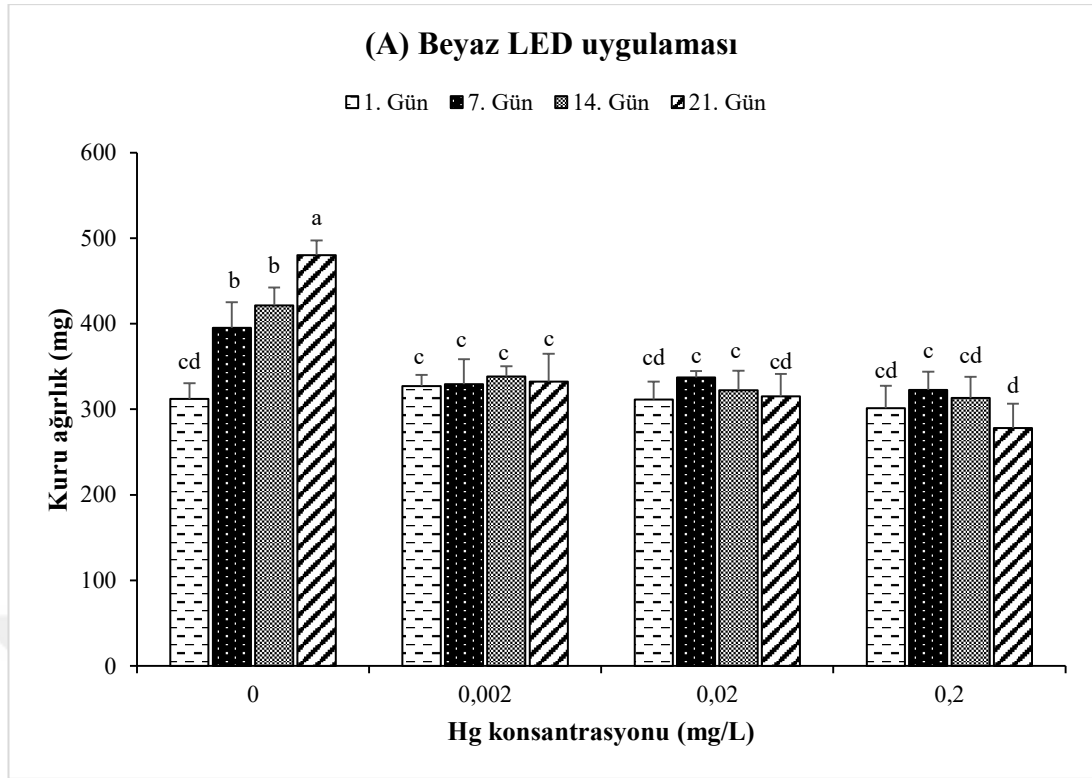
Farklı ışık ve Hg uygulamaları sonucu elde edilen bitkilerin kuru ağırlıkları istatistiksel olarak $p<0,05$ seviyesinde anlamlı bulunmuş ve Şekil 4.12’de gösterilmiştir. Kuru ağırlıkların en yüksek çıktığı veriler kontrol grubu bitkilerde belirlenmiştir. Hg uygulanan bitkilerin kuru ağırlıkları uygulanan süreye ve Hg konsantrasyonuna bağlı olarak azalmıştır. Kuru ağırlık değerleri uygulanan ışık koşullarında da önemli derecede etkilenmiştir. Tüm ışıklar kıyaslandığında en düşük kuru ağırlıklar 21. günde sırasıyla beyaz flouresan ışık, beyaz LED, mavi LED ve kırmızı LED altındaki bitkilerde belirlenmiştir.



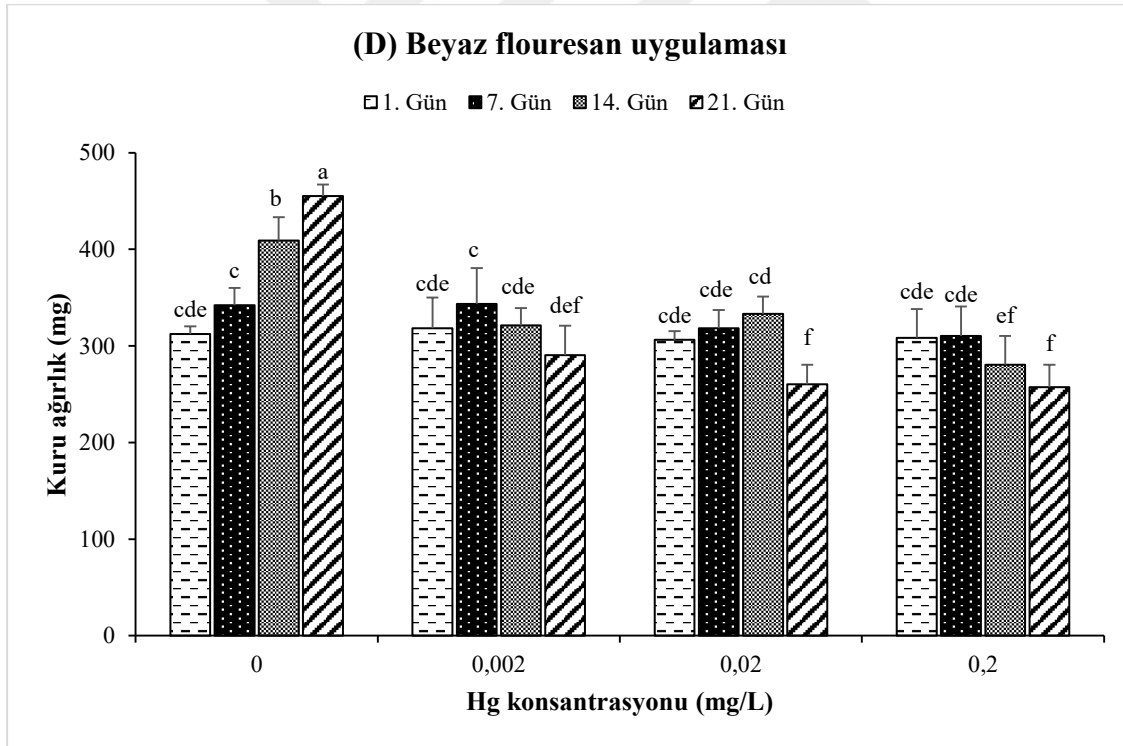
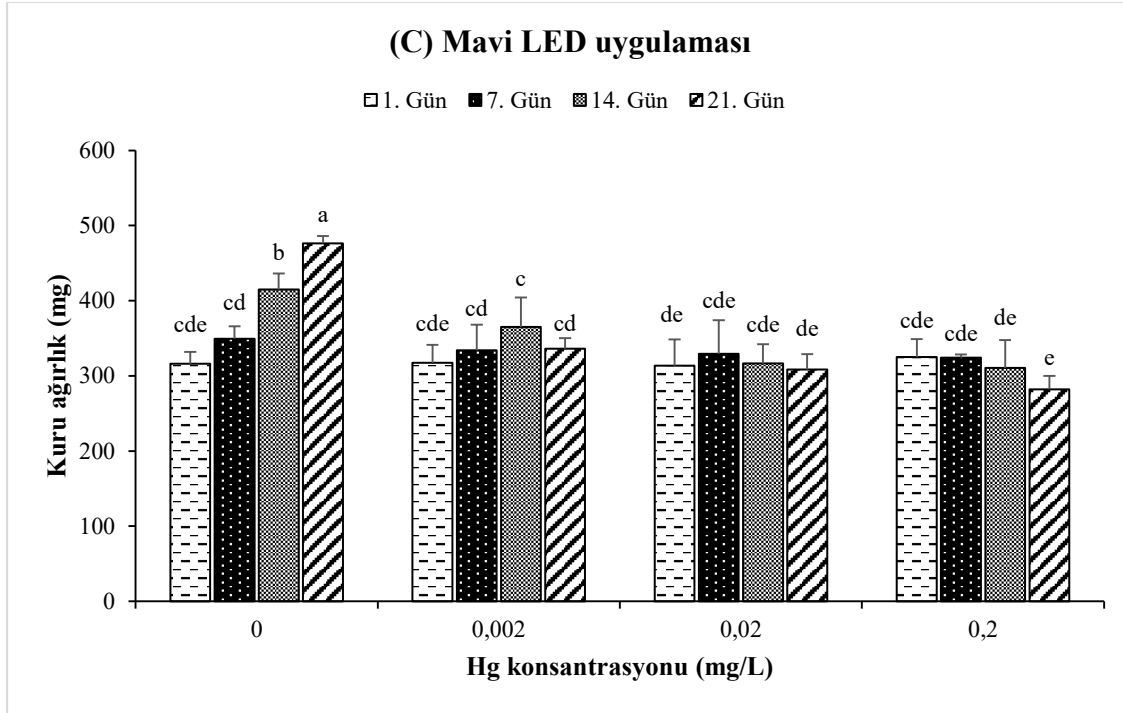
Şekil 4.11 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un taze ağırlıkları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un taze ağırlık değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



Şekil 4.11 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un taze ağırlıkları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un taze ağırlık değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



Şekil 4.12 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un kuru ağırlıkları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un kuru ağırlık değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



Şekil 4.12 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un kuru ağırlıkları. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un kuru ağırlık değerleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

4.6 Fotosentetik Pigment İçerikleri

4.6.1 Farklı ışık koşullarında As uygulanmış bitkilerin toplam klorofil içerikleri

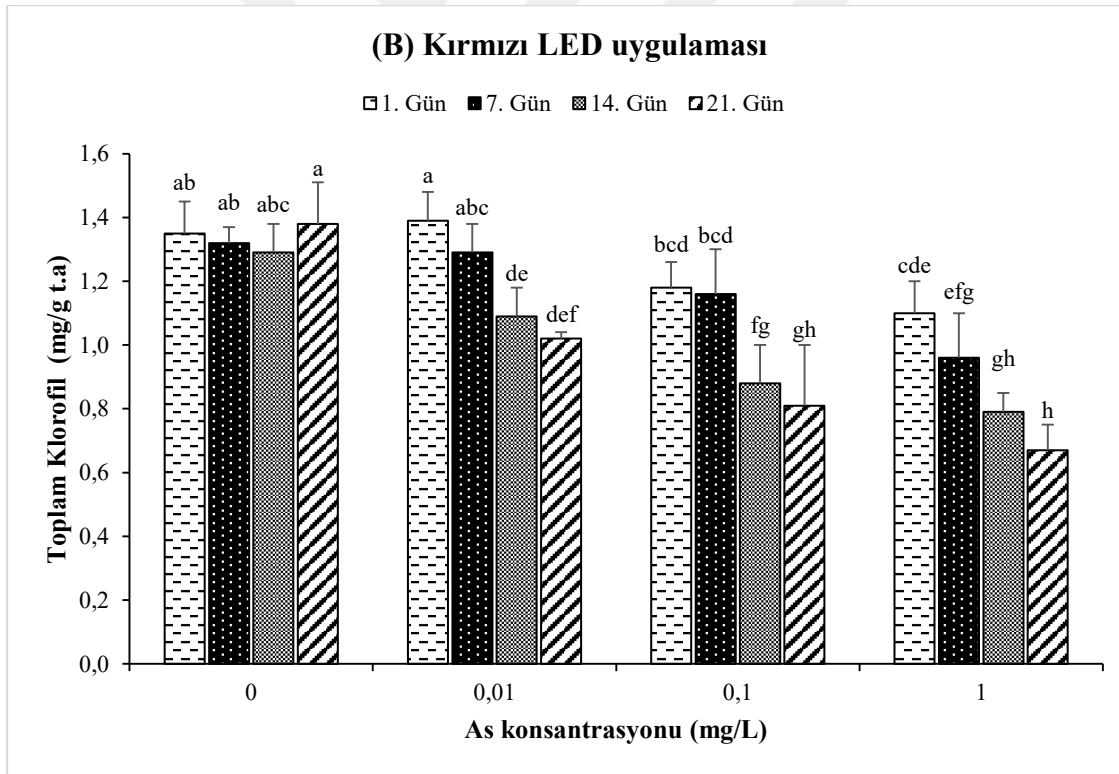
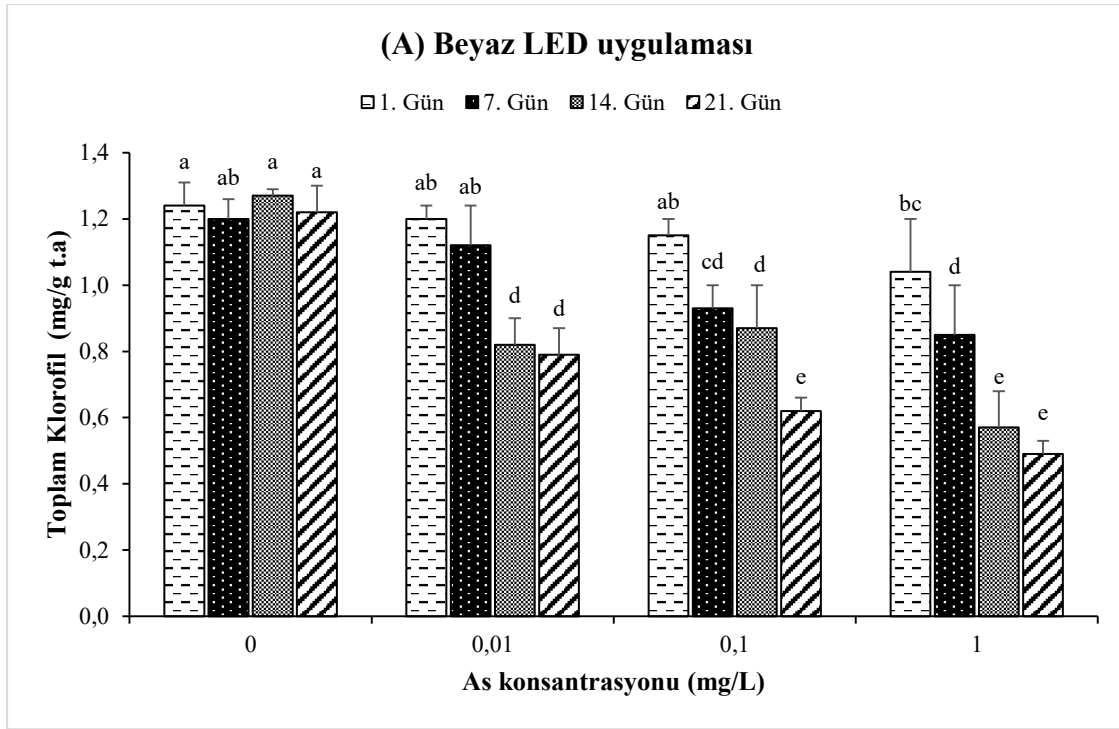
Farklı ışık ortamları ve As uygulamaları ile *C. demersum*'un fotosentetik pigment değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir ($p<0,05$). Elde edilen sonuçlar toplam klorofil (klorofil *a* + klorofil *b*) ve karotenoit olarak grafiklerde gösterilmiştir (Şekil 4.13)

Farklı konsantrasyonlarda ve sürelerde As uygulanan bitkilerdeki toplam klorofil içerikleri ışık renklerine göre farklılık göstermiştir. Beyaz LED uygulanan bitkilerde 0,01 mg/L As konsantrasyonunda 1. ve 7. günlerde toplam klorofil içeriklerinde kısmi azalma olurken, 14 ve 21. günlerden sonra toplam klorofil içeriklerinde ciddi azalmalar olmuştur. Kontrole göre klorofil içeriklerinde en fazla düşüş (0,49 mg/g t.a) 21 gün sonunda 1 mg/L As uygulanan bitkilerde kaydedilmiştir.

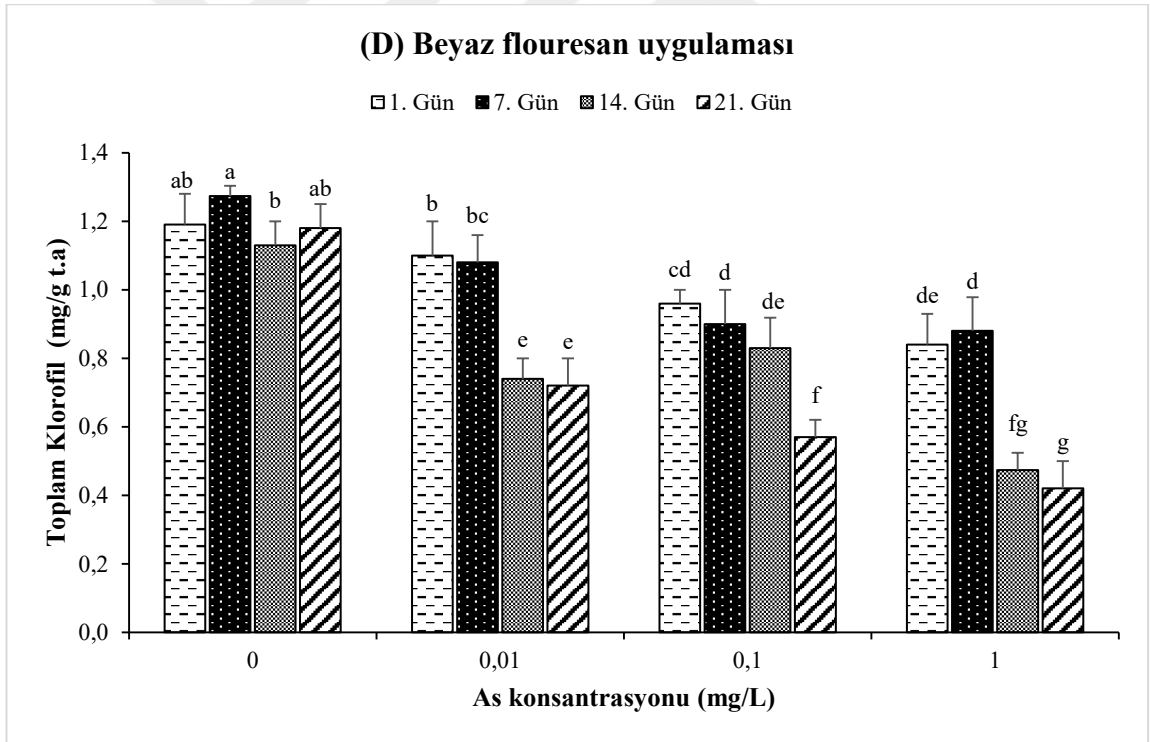
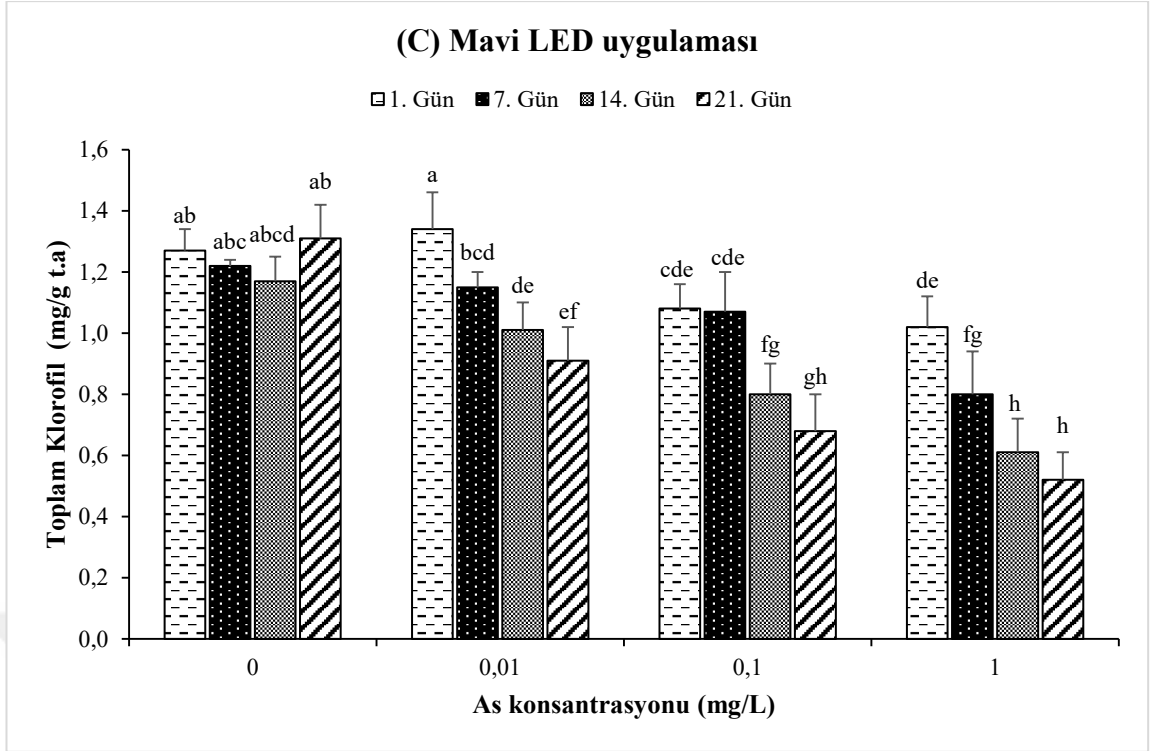
Kırmızı LED altındaki uygulamalar incelendiğinde 1. günde 0,01 mg/L As uygulanan bitkilerde kontrole göre daha yüksek klorofil içerikleri kaydedilmiş olsada, As maruziyeti ve artan periyot ile toplam klorofil içerikleri azalış göstermiştir. En düşük toplam klorofil içeriği 1 mg/L As uygulamasında ve 21 gün sonunda 0,67 mg/g t.a olarak belirlenmiştir.

Mavi LED ışık altında bitkilerin toplam klorofil değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir ($p<0,05$). Kırmızı LED ışık da olduğu gibi mavi LED ışıkda da en yüksek toplam klorofil içeriği 1 gün sonunda 0,01 mg/L As uygulana bitkilerde elde edilmiştir. Buna karşın As konsantrasyonu ve süre uygulamasının artması ile bitkilerin toplam klorofil içerikleri ciddi derecede düşüş göstermiştir. En düşük toplam klorofil değeri 0,52 mg/g t.a olarak 21 gün sonunda ve 1 mg/L As uygulanan bitkilerde tespit edilmiştir.

Beyaz flouresan ışık altında en yüksek As konsantrasyonunda toplam klorofil içerikleri önemli derecede düşüş göstermiştir. Kontrole göre toplam klorofil içeriklerinde en fazla azalış 0,42 mg/g t.a olarak 1 mg/L As maruziyetinde ve 21 gün sonunda bulunmuştur.



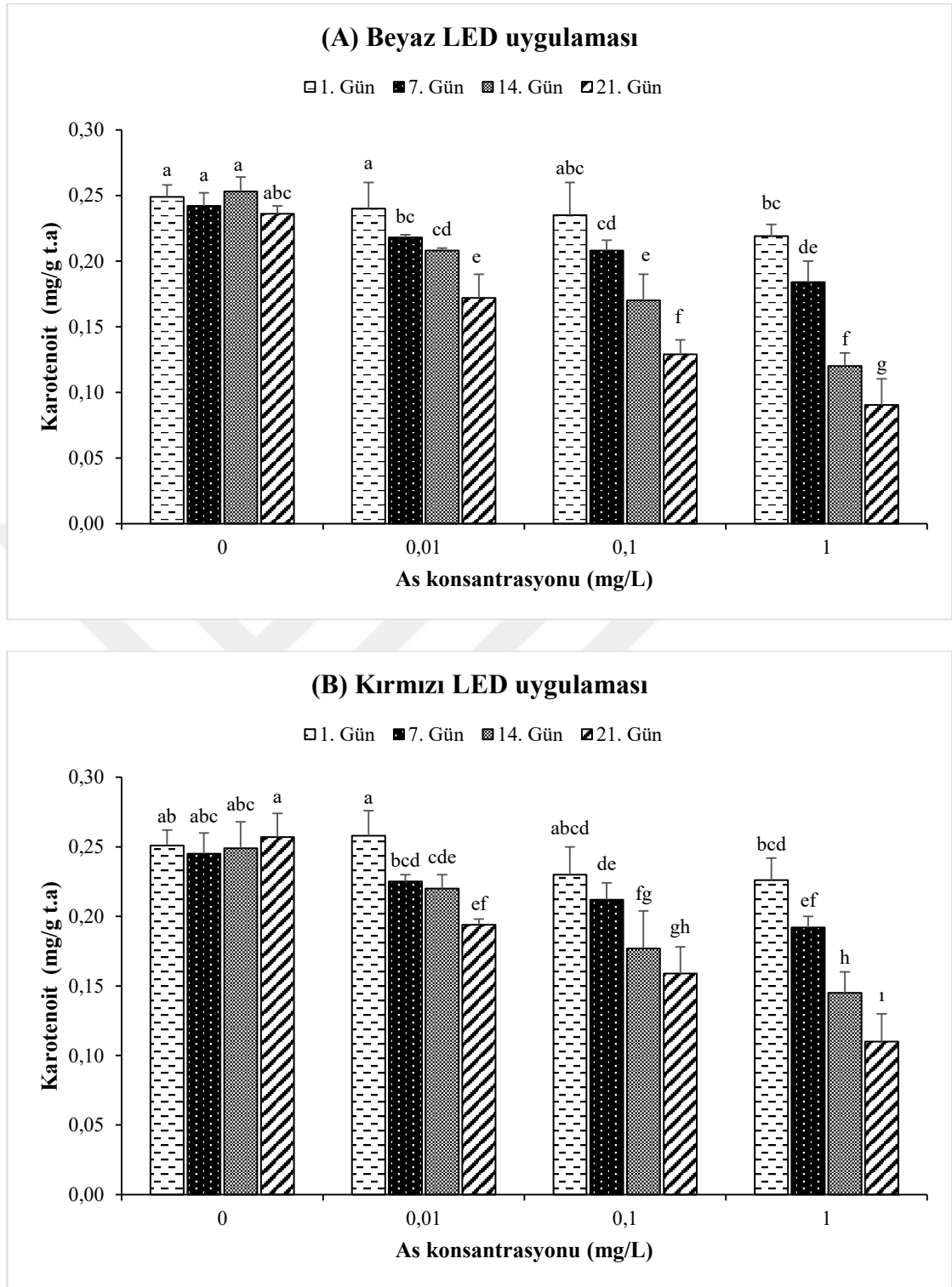
Şekil 4.13 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un toplam klorofil içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un toplam klorofil içerikleri. Veriler üç tekrerrün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



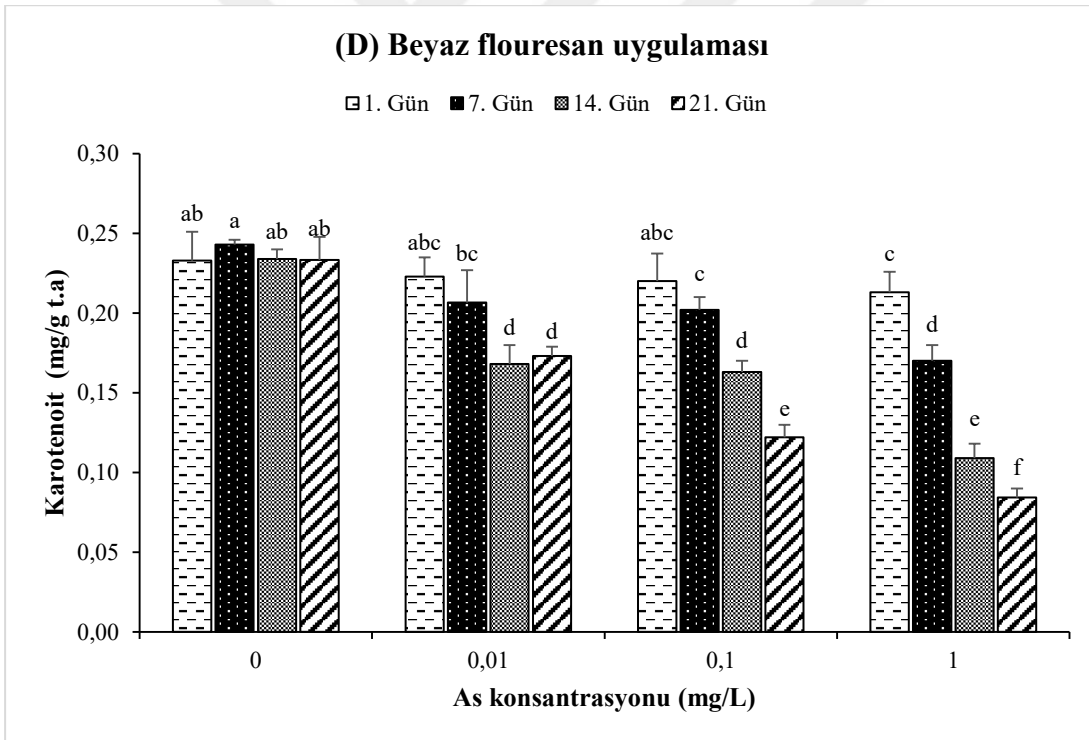
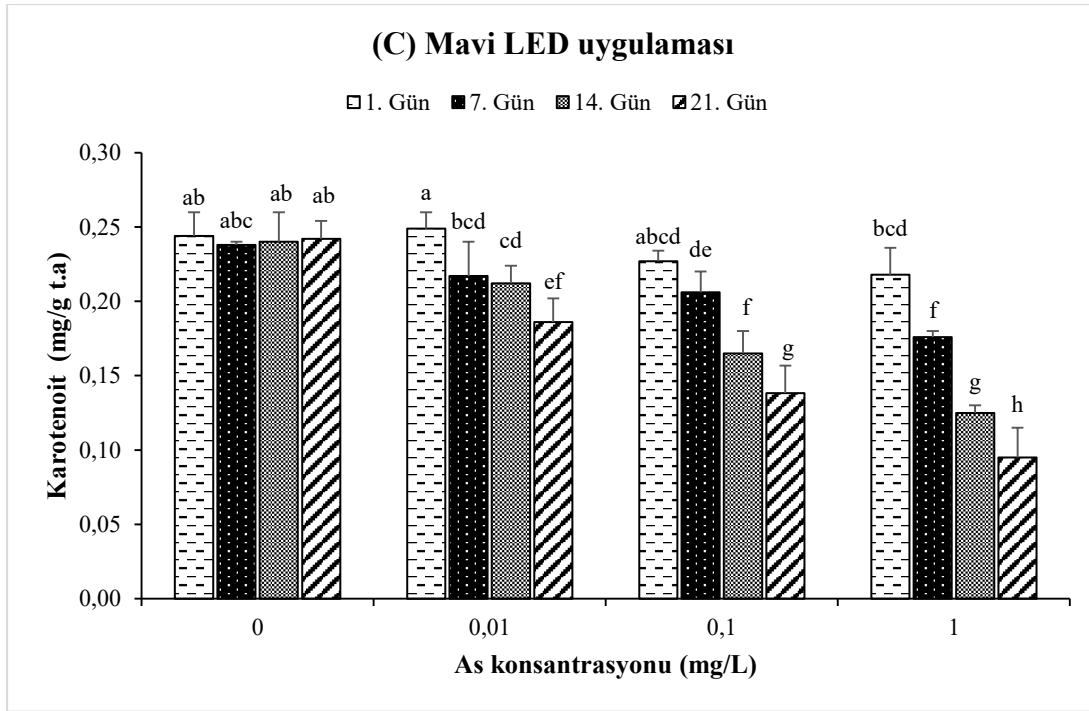
Şekil 4.13 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un toplam klorofil içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un toplam klorofil içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

4.6.2 Farklı ışık koşullarında As uygulanmış bitkilerin karotenoit içerikleri

Farklı ışıklar altında As maruziyetine bırakılan bitkilerin karotenoit içerikleri farklılık göstermiştir (Şekil 4.14). En yüksek karotenoit içerikleri kırmızı ve mavi LED ışıklarda 1 gün sonunda ve 0,01 mg/L As uygulanan bitkilerde kaydedilirken, beyaz LED ışık uygulamasında kontrol grubunda ve 14 gün sonunda ve beyaz flouresan ışıklar 7 gün sonunda ve kontrol grubu bitkilerde bulunmuştur. Genel olarak uygulanan As dozunda artışlar ve uygulama süresindeki artışlar karotenoit içeriğini olumsuz etkilemiştir. Tüm ışıklar kıyaslandığında en düşük karotenoit içerikleri 1 mg/L As uygulamasında 21. günde sırasıyla 0,08 mg/g t.a olarak beyaz flouresan ışık altında, 0,09 mg/g t.a olarak beyaz LED altında, 0,095 mg/g t.a olarak mavi LED altında ve 0,11 mg/g t.a olarak kırmızı LED altındaki bitkilerde belirlenmiştir.



Şekil 4.14 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un karotenoid içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un karotenoid içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



Şekil 4.14 (devam) : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un karotenoid içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un karotenoid içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

4.6.3 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanmış bitkilerin toplam klorofil içerikleri

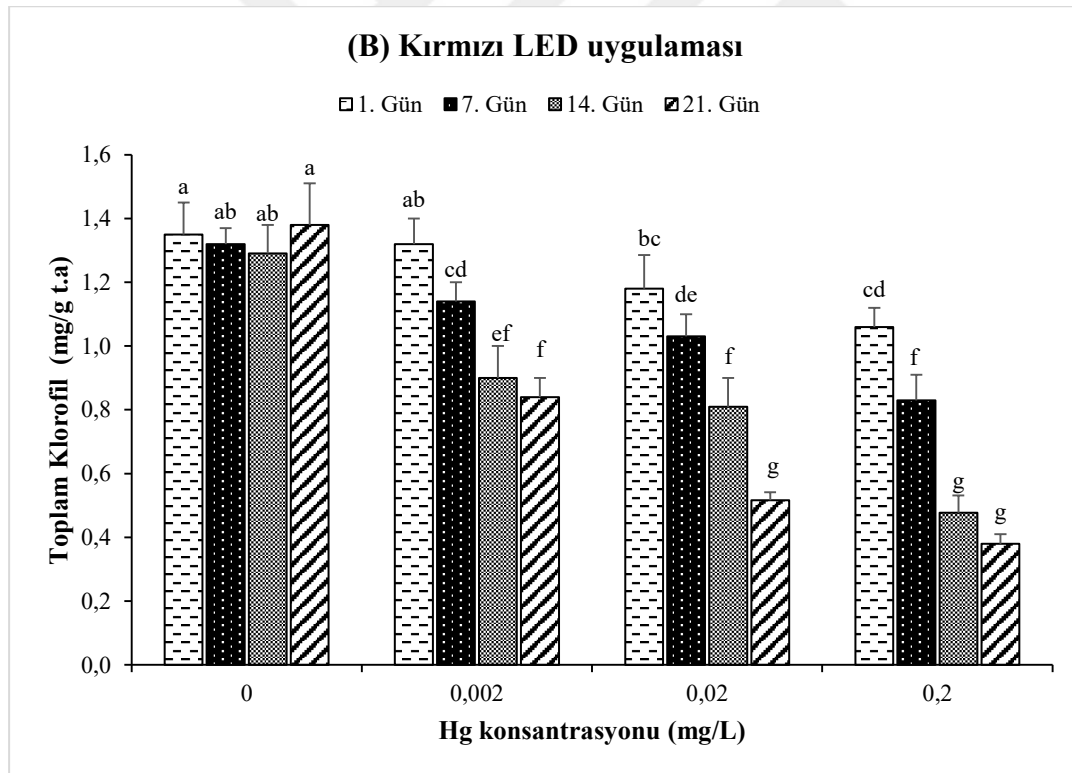
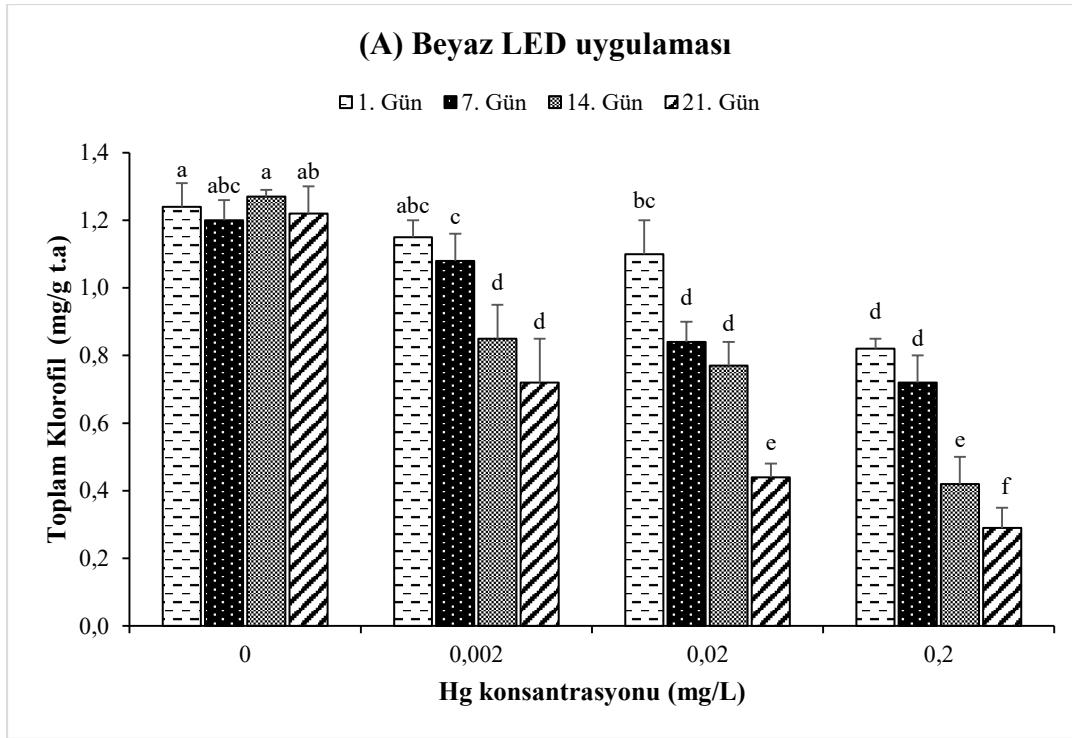
Artan Hg konsantrasyonlarına maruz bırakılan ve farklı aydınlatma koşullarına aktarılan *C. demersum*'un fotosentetik pigment içerikleri incelenmiş ve elde edilen değerler anlamlı farklılıklar göstermiştir ($p<0,05$). Toplam klorofil içerikleri (klorofil *a* + klorofil *b*) ve karotenoit değerleri alınarak grafikleştirilmiştir (Şekil 4.15).

Değişen dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'daki toplam klorofil değerleri üzerine farklı aydınlatmalar uygulanmış ve veriler kaydedilmiştir. Beyaz LED altındaki bitkilerde 1 gün sonunda kontrole göre toplam klorofil içeriklerinde kısmi düşüşler olsada, 7. 14. ve 21. günlerden sonra çok daha yüksek düşüşler belirlenmiştir. Toplam klorofil içeriklerinde kontrole göre en fazla düşüş 0,29 mg/g t.a olarak 21 gün sonunda 0,2 mg/L Hg maruziyetinde belirlenmiştir.

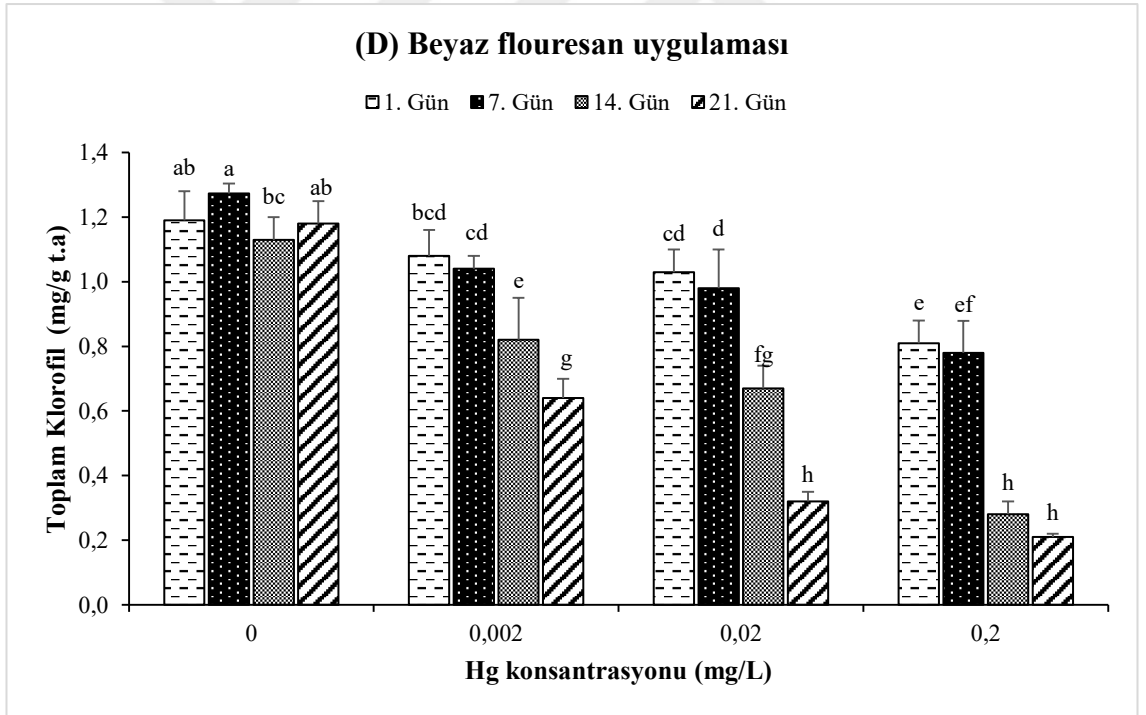
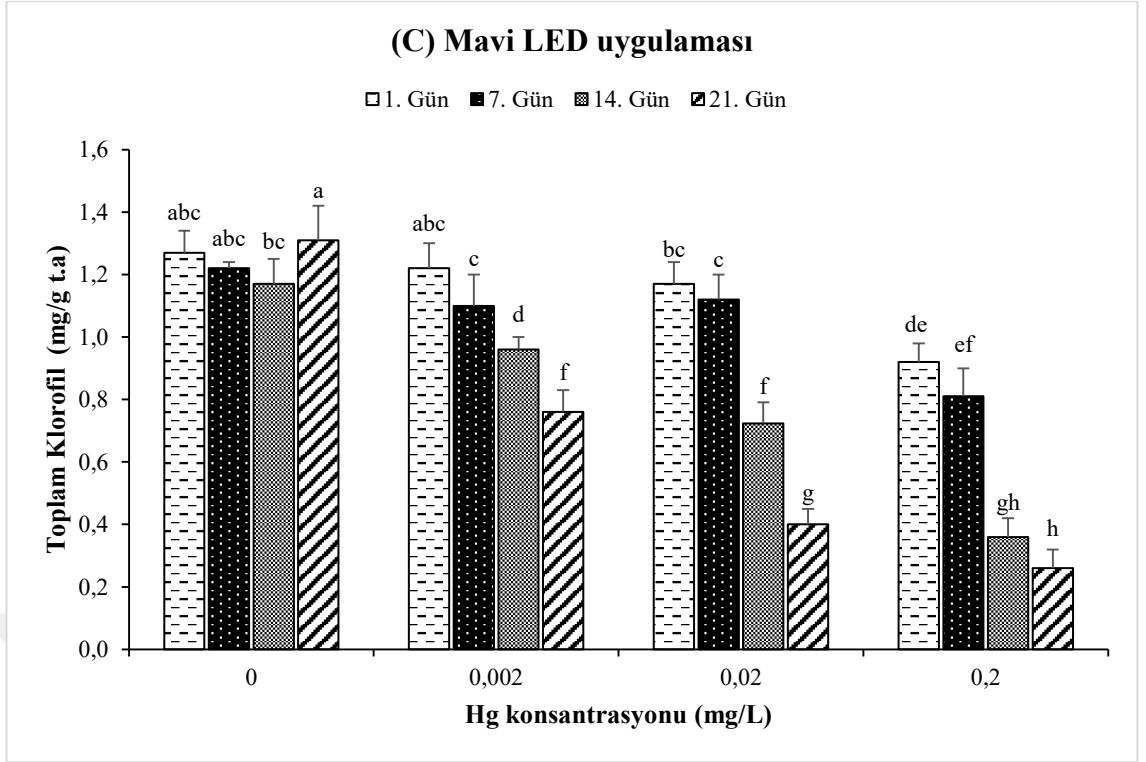
Kırmızı LED altındaki bitkilerde Hg'nin tüm dozları ve uygulana tüm sürelerde toplam klorofil içerikleri kontrolden düşük çıkmıştır. Özellikle yüksek değerde Hg uygulaması bitkilerin toplam klorofil içeriklerini önemli derecede düşürmüştür. En düşük toplam klorofil içeriği 0,2 mg/L Hg uygulamasında ve 21 gün sonunda 0,38 mg/g t.a olarak kaydedilmiştir.

Mavi LED ışık altında bitkilerin toplam klorofil değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir ($p<0,05$). Mavi LED ışık altındaki bitkilerde 1. ve 7. günlerde toplam klorofil içerikleri çok fazla düşüş göstermezken, 14 ve 21. günlerde birden sert bir düşüş göstermiştir. Hg konsantrasyonu ve süre uygulamasının artması ile bitkilerin toplam klorofil içeriklerinde düşüşler kaydedilirken, en düşük toplam klorofil içeriği 0,26 mg/g t.a olarak 21 gün sonunda ve 0,2 mg/L Hg maruziyetinde belirlenmiştir.

Beyaz flouresan ışık uygulanan *C. demersum*'ların toplam klorofil değerleri, mavi LED ışıktaki olduğu gibi 1. ve 7. günlerde toplam klorofil içeriklerinde kısmi düşüşler olurken, 14 ve 21. günlerde birden sert bir düşüşler tespit edilmiştir. Kontrole göre toplam klorofil içeriklerinde en fazla azalış 21 gün sonunda 0,21 mg/g t.a olarak 0,2 mg/L Hg uygulanan bitkilerde belirlenmiştir.



Şekil 4.15 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un toplam klorofil içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un toplam klorofil içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

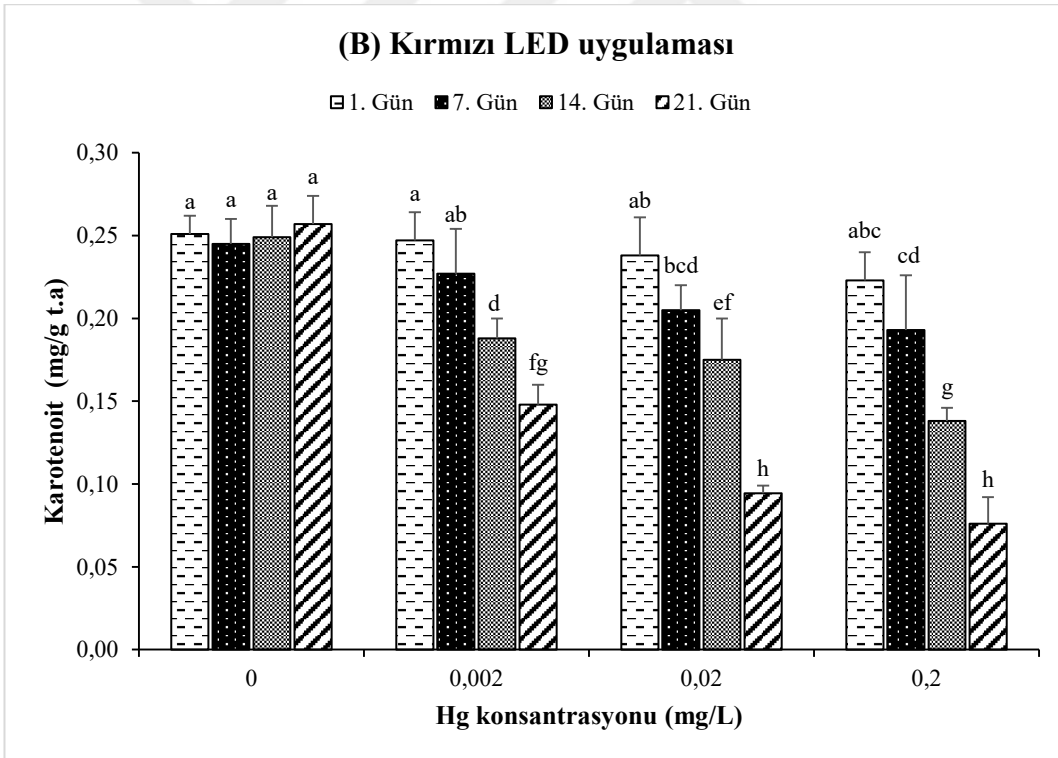
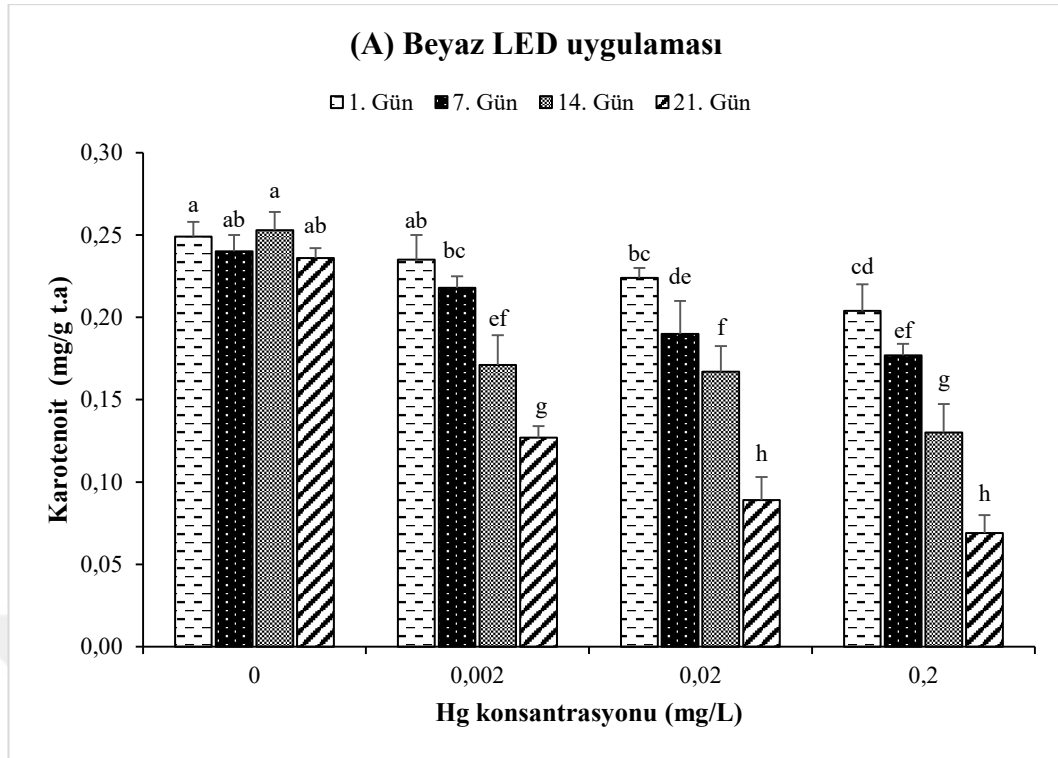


Şekil 4.15 (devam):Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un toplam klorofil içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un toplam klorofil içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

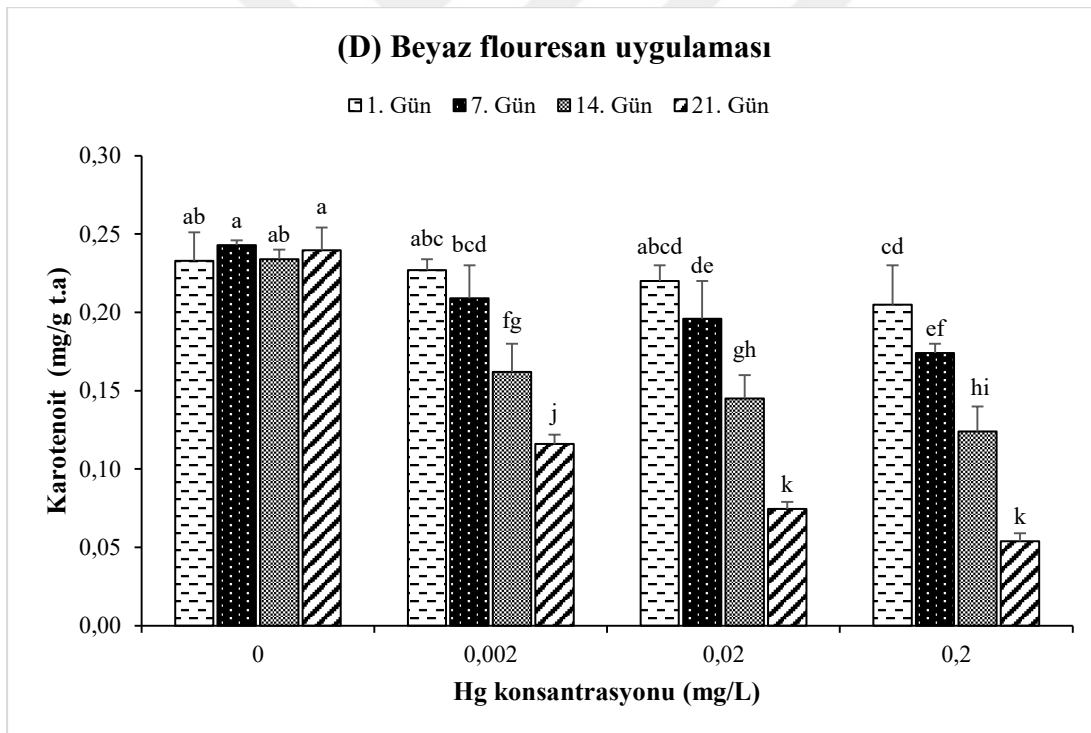
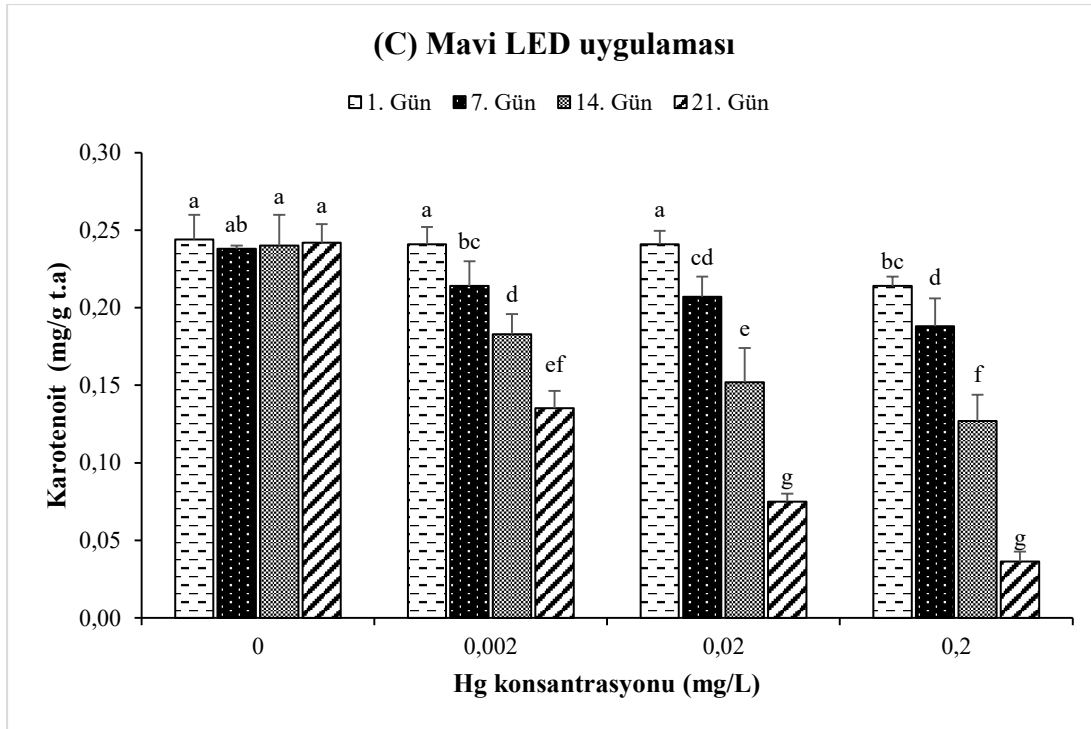
4.6.4 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanmış bitkilerin karotenoit içerikleri

Farklı ışıklar altında Hg'nin farklı konsantrasyonlarına 1-21 gün maruz bırakılan bitkilerin karotenoit içerikleri incelenmiştir. Maksimum karotenoit içerikleri Hg uygulanmamış kontrol grubunda belirlenmiştir (Şekil 4.16). Artan Hg konsantrasyonları ve süre ile bitkilerin karotenoit değerleri azalış göstermiştir. Tüm ışıklar kıyaslandığında minimum karotenoit içerikleri 0,2 mg/L Hg uygulamasında 21. günde sırasıyla 0,036 mg/g t.a olarak mavi LED altında, 0,05 mg/g t.a olarak beyaz flouresan ışık altında, 0,07 mg/g t.a olarak beyaz LED altında ve 0,076 mg/g t.a olarak kırmızı LED altındaki bitkilerde belirlenmiştir.





Şekil 4.16 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un karotenoid içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un karotenoid içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

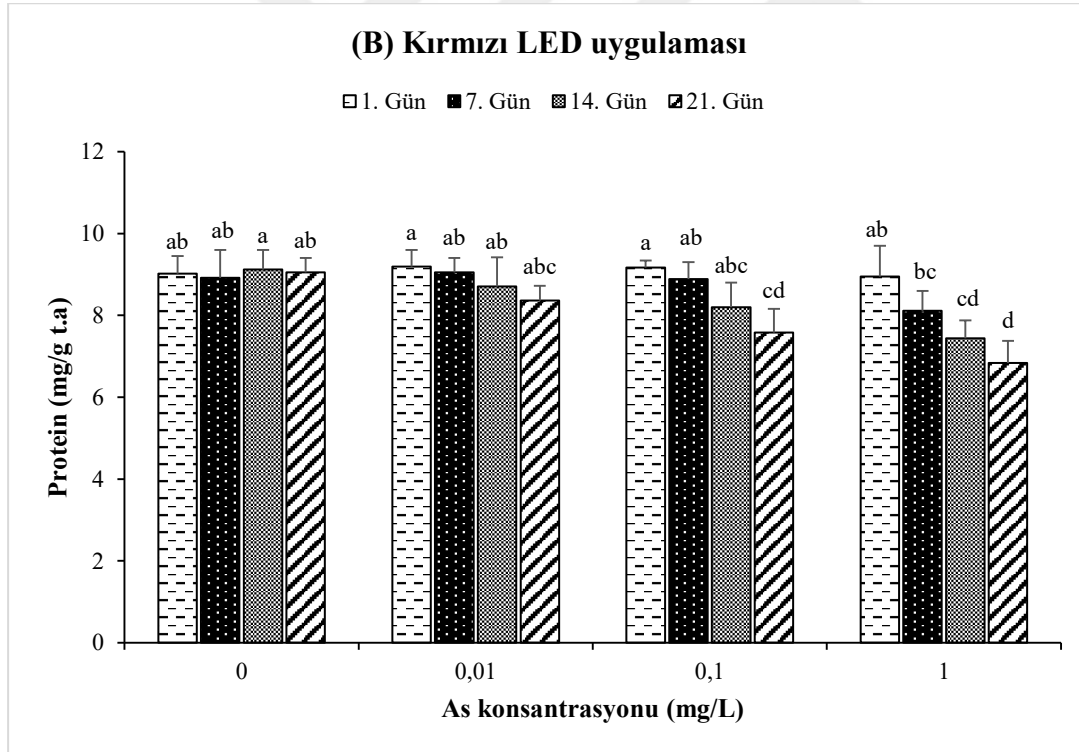
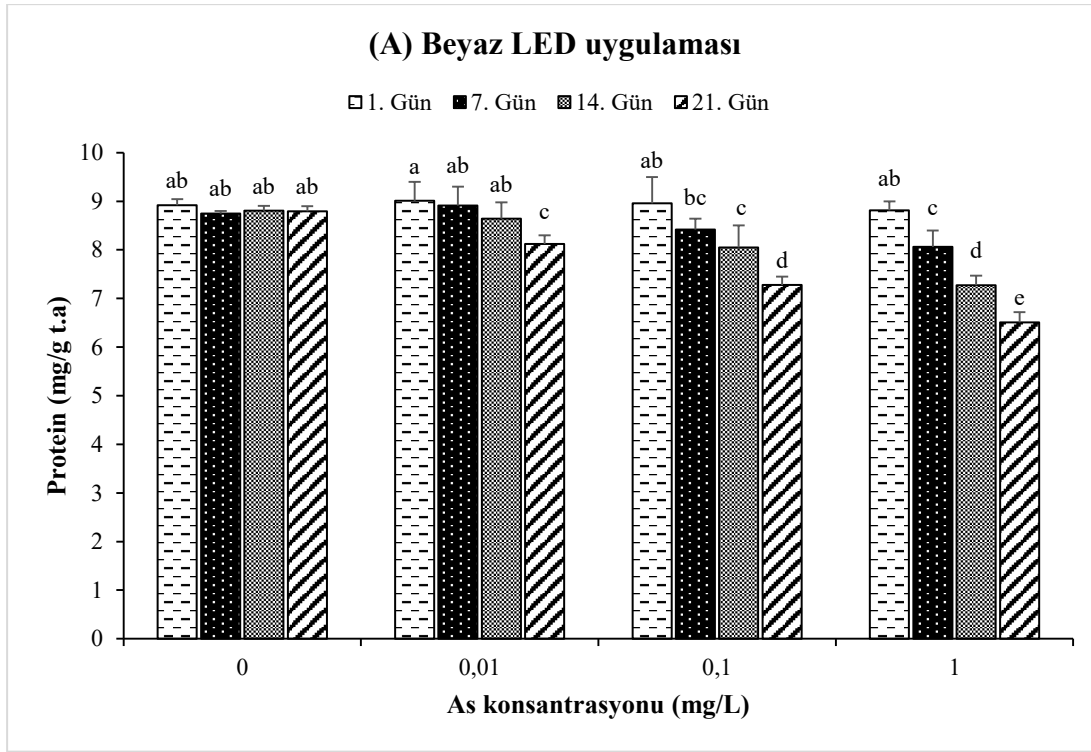


Şekil 4.16 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un karotenoid içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un karotenoid içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

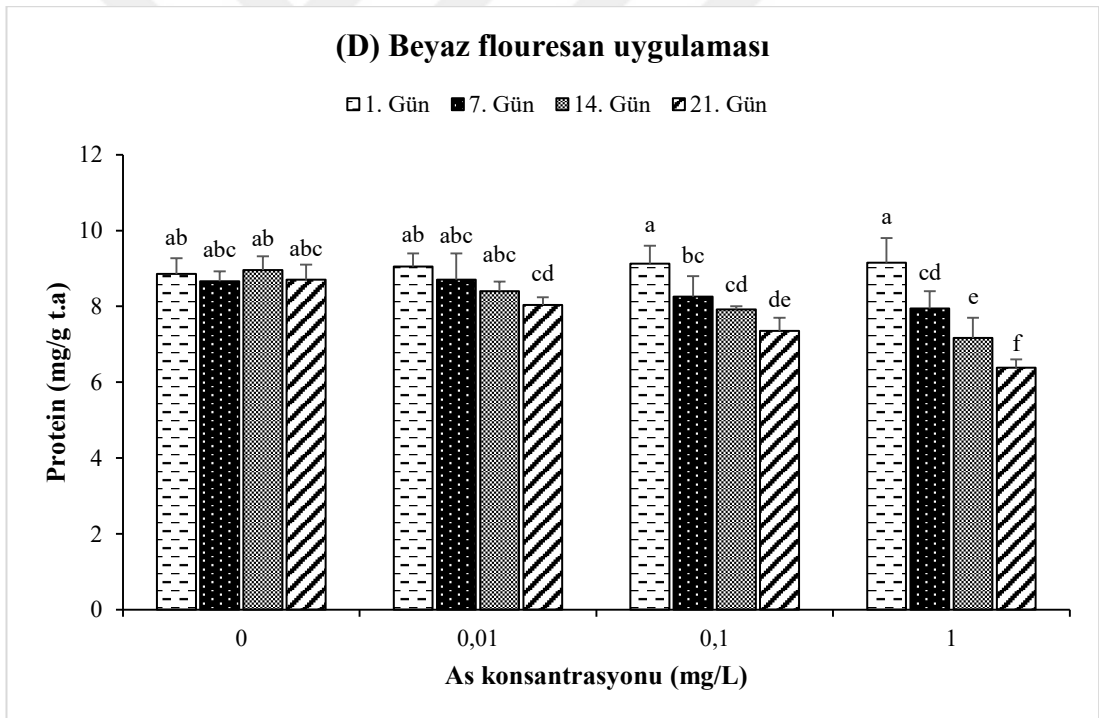
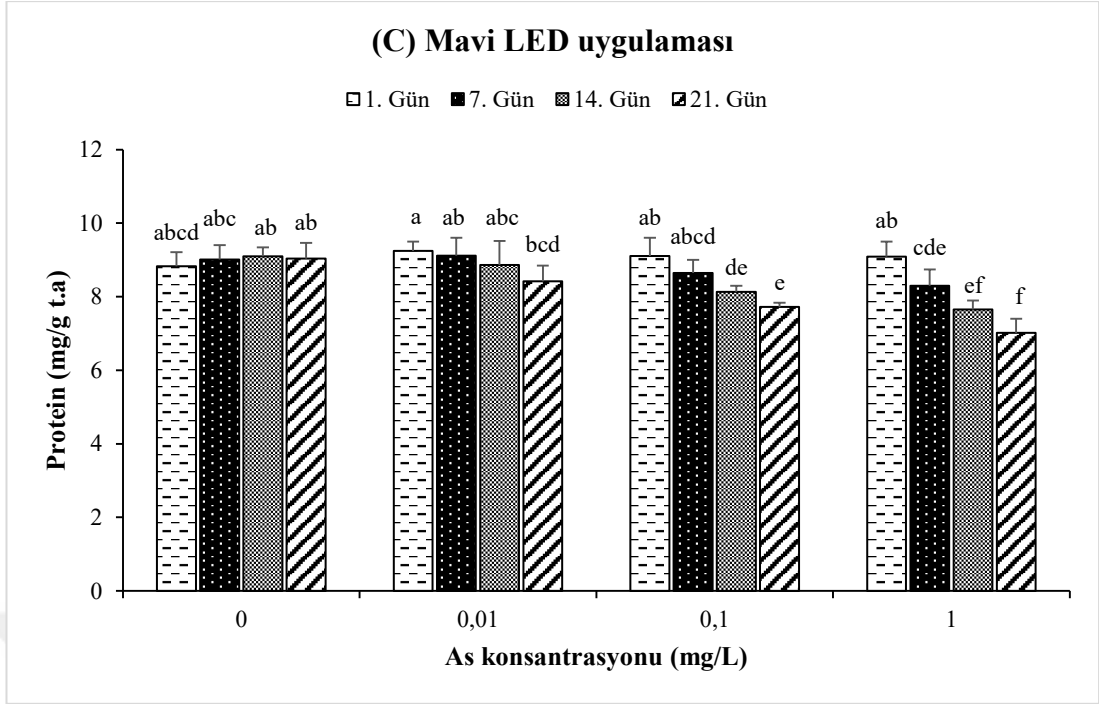
4.7 Protein İçerikleri

4.7.1 Farklı ışık koşullarında As uygulanmış bitkilerin protein içerikleri

Bu uygulamada, farklı süre ve konsantrasyonlarda As maruzitetindeki bitkilerin protein değerleri incelenmiş ve elde edilen veriler grafiklere dökülerek istatistiksel olarak analizler yapılmıştır (Şekil 4.17). Genel olarak tüm ışık uygulamalarında artan As konsantrasyonu ve süre ile protein içerikleri azalış göstermiştir. En yüksek protein içeriği beyaz LED (9,01 mg/g t.a), kırmızı LED (9,19 mg/g t.a), mavi LED (9,25 mg/g t.a) ışık uygulamalarında 1 gün sonunda olarak 0,01 mg/L As uygulamasında elde edilirken, beyaz flouresan ışık uygulamasında (9,15 mg/g t.a) 1 gün sonunda ve 1 mg/L As maruziyetinde tespit edilmiştir. En düşük seviyede protein içerikleri; 21. günde ve 1 mg/L As maruziyetinde sırasıyla 6,38 mg/g t.a olarak beyaz flouresan ışık altında, 6,51 mg/g t.a olarak beyaz LED altında, 6,84 mg/g t.a olarak kırmızı LED altında ve 7,02 mg/g t.a olarak mavi LED altındaki bitkilerde belirlenmiştir.



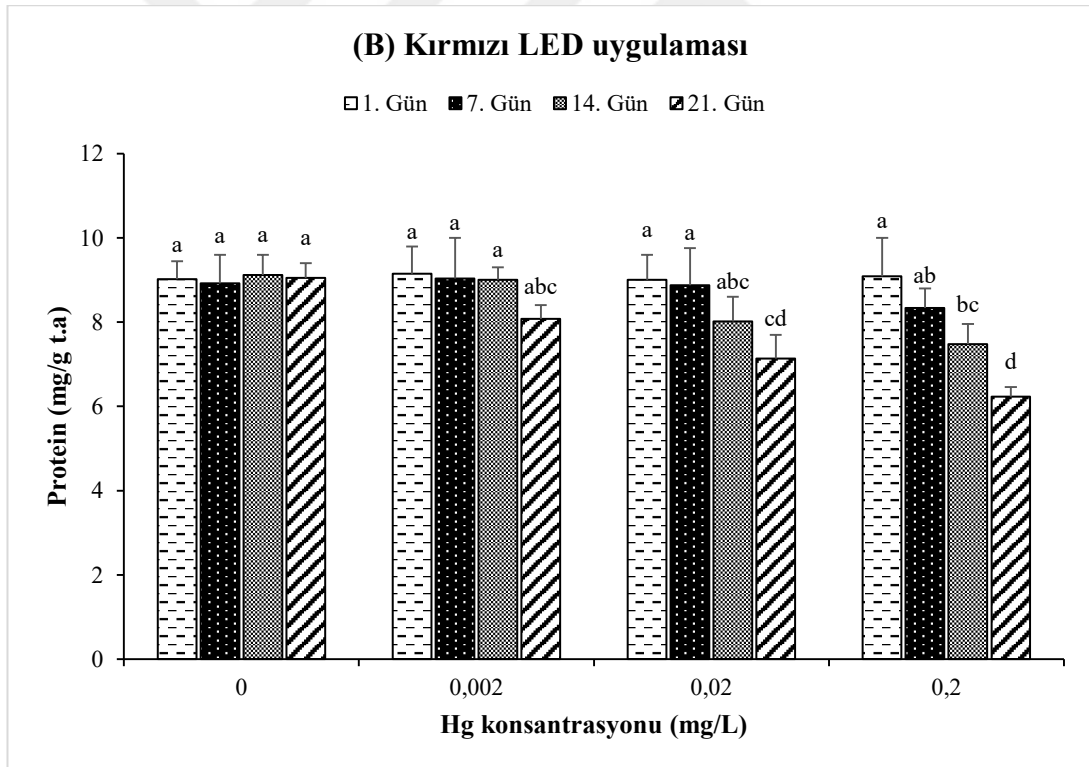
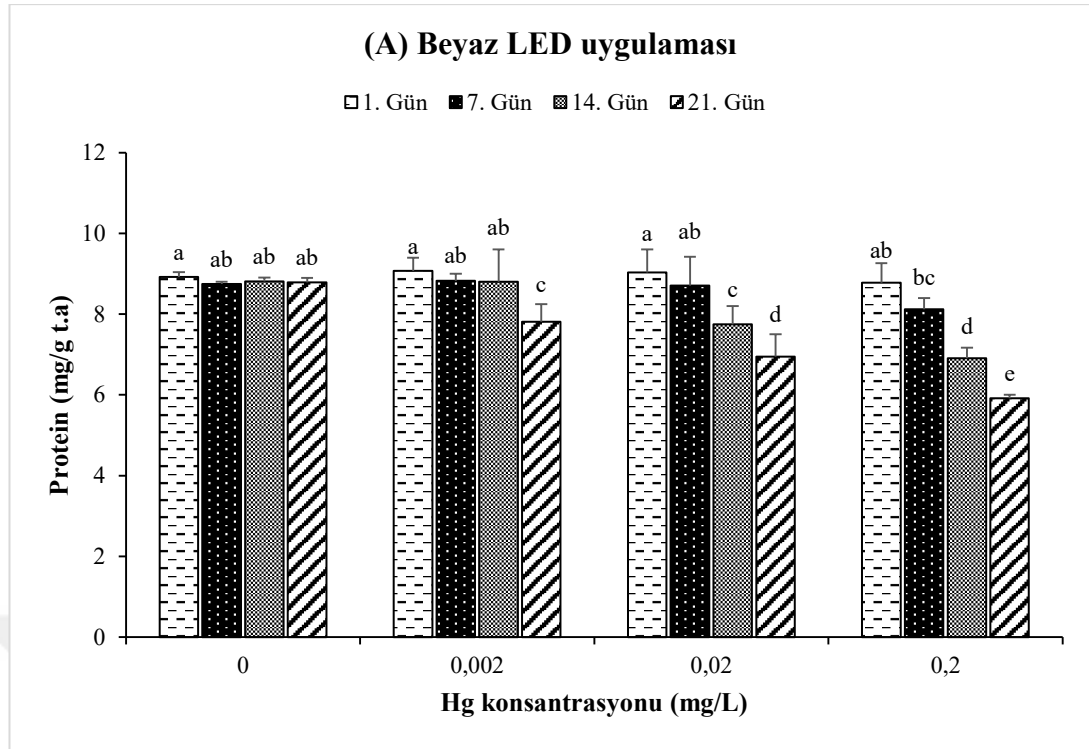
Şekil 4.17 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un protein içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un protein içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



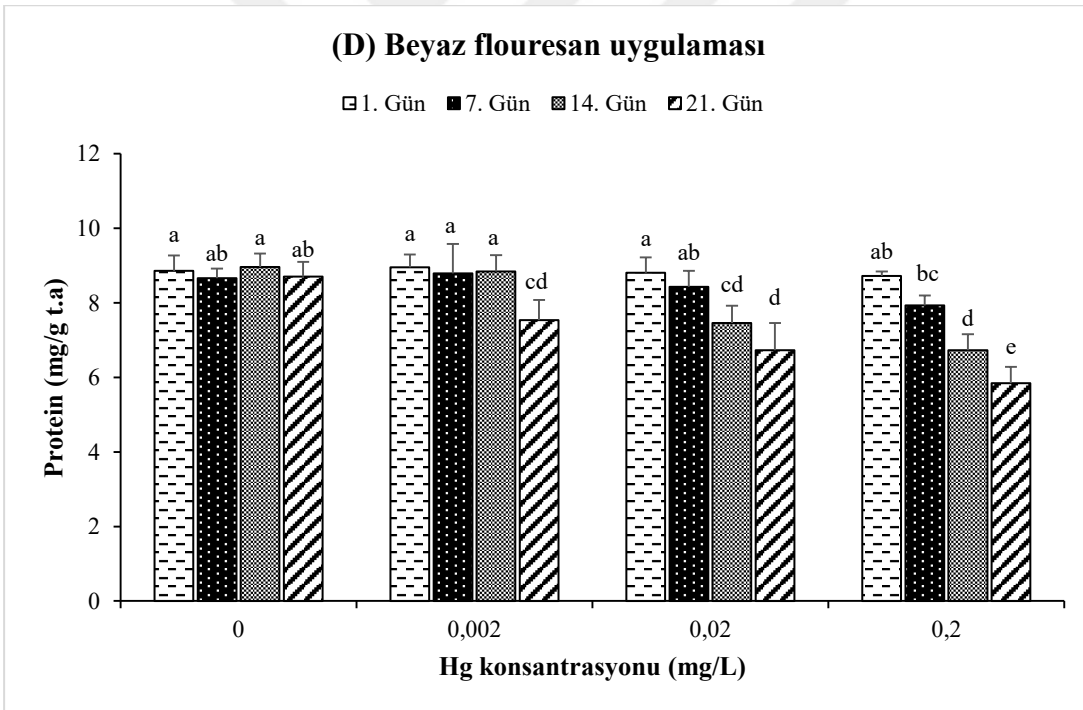
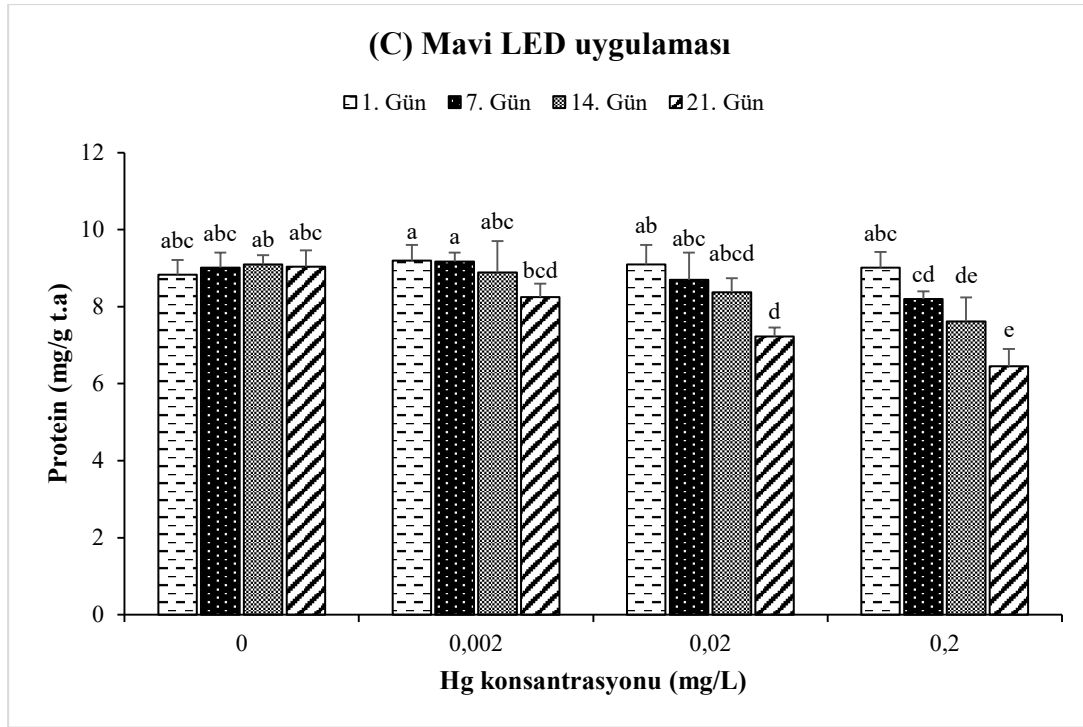
Şekil 4.17 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un protein içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un protein içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

4.7.2 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanmış bitkilerin protein içerikleri

Bu denemede, değişen süre ve konsantrasyonlarda Hg uygulanmış bitkilerin farklı ışık ortamlarındaki protein içeriklerindeki değişimleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar tüm ışık uygulamaları için istatistiksel olarak $p < 0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.18). Maksimum protein içeriği beyaz LED ışık uygulamasında 9,07 mg/g t.a olarak, kırmızı LED ışık uygulamasında 9,15 mg/g t.a olarak, mavi LED ışık uygulamasında 9,20 mg/g t.a olarak 0,002 mg/L Hg uygulamasında ve 1 gün sonunda elde edilirken, beyaz flouresan ışık uygulamasında 8,96 mg/g t.a olarak 14 gün sonunda ve kontrol grubunda tespit edilmiştir. Hg etkisinde bitkilerin protein içeriklerinde kontrol grubuna göre düşüşler tespit edilmiştir. Hg'nin konsantrasyonu ve uygulama süresindeki artış ile protein içeriğindeki düşüşler de artış göstermiştir. Minimum protein içerikleri ise 21. günde ve 0,2 mg/L Hg maruziyetinde sırasıyla 5,84 mg/g t.a olarak beyaz flouresan ışık altında, 5,92 mg/g t.a olarak beyaz LED altında, 6,23 mg/g t.a olarak kırmızı LED altında ve 6,45 mg/g t.a olarak mavi LED altındaki bitkilerde belirlenmiştir.



Şekil 4.18 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un protein içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un protein içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



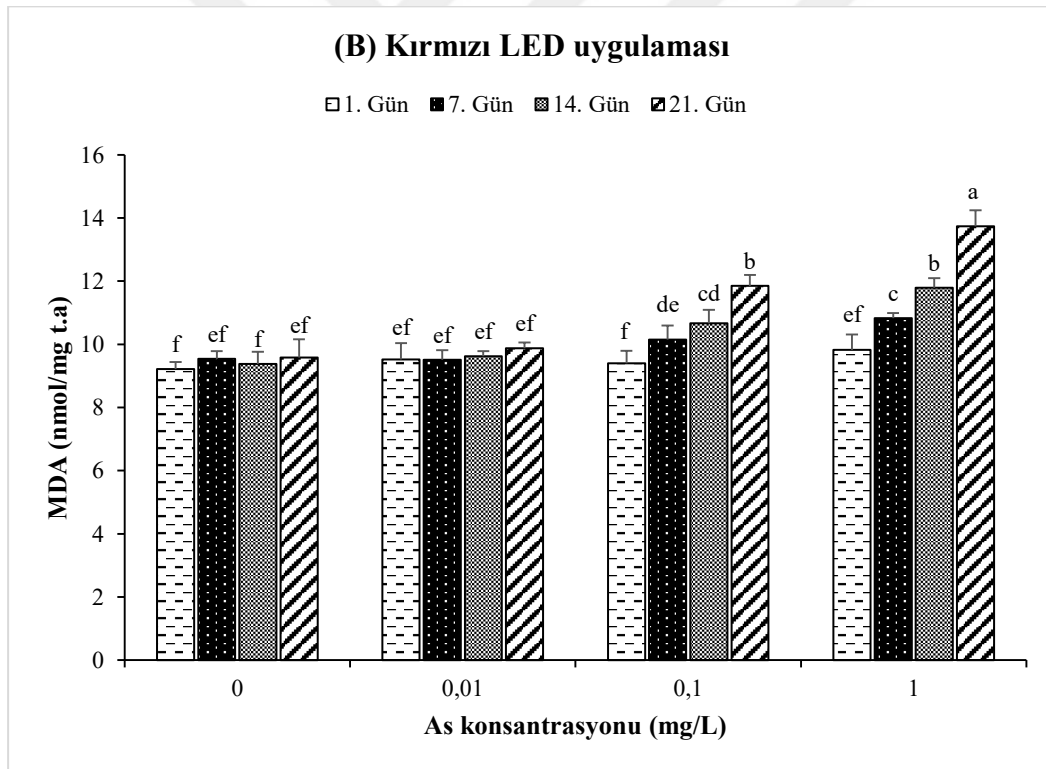
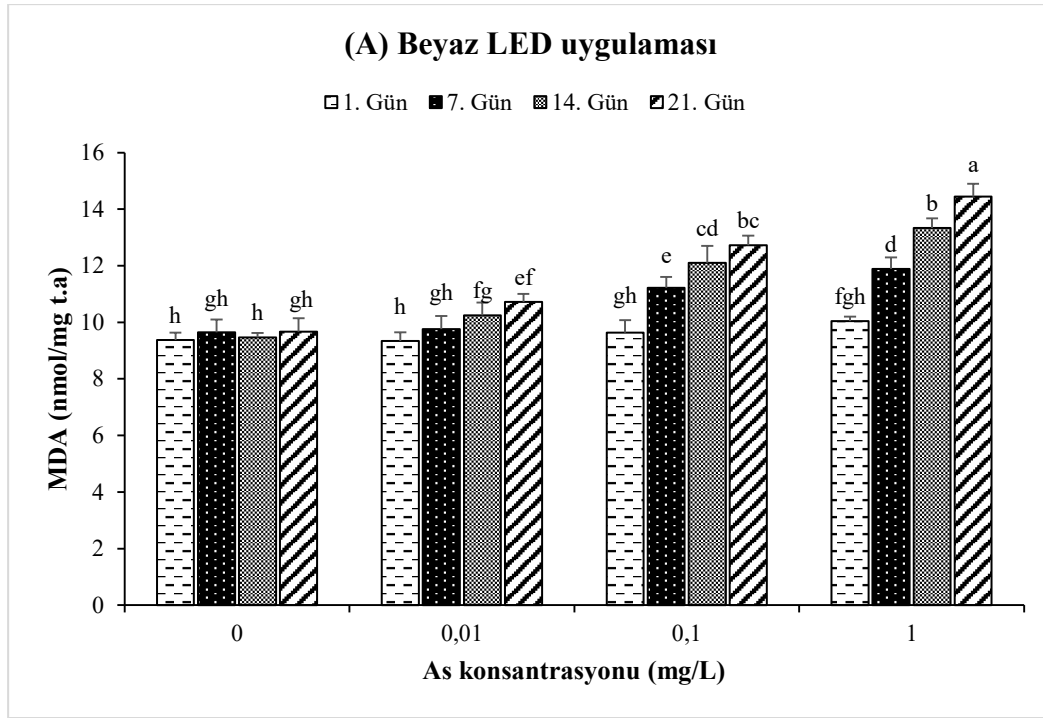
Şekil 4.18 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un protein içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un protein içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

4.8 Lipit Peroksidasyonun Belirlenmesi

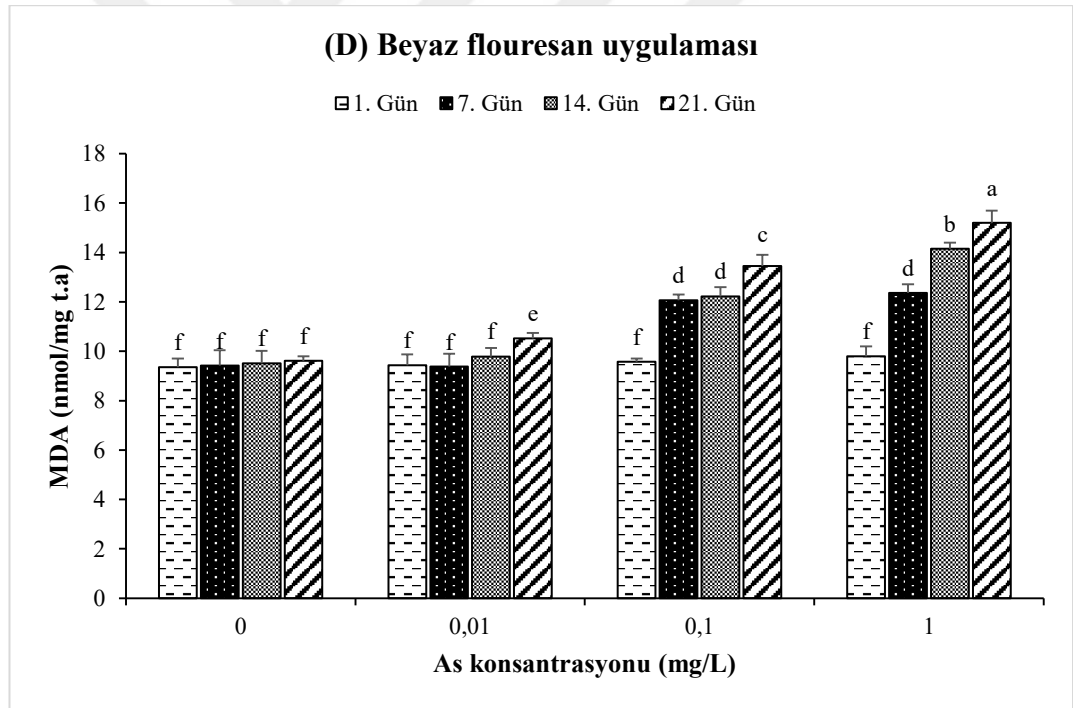
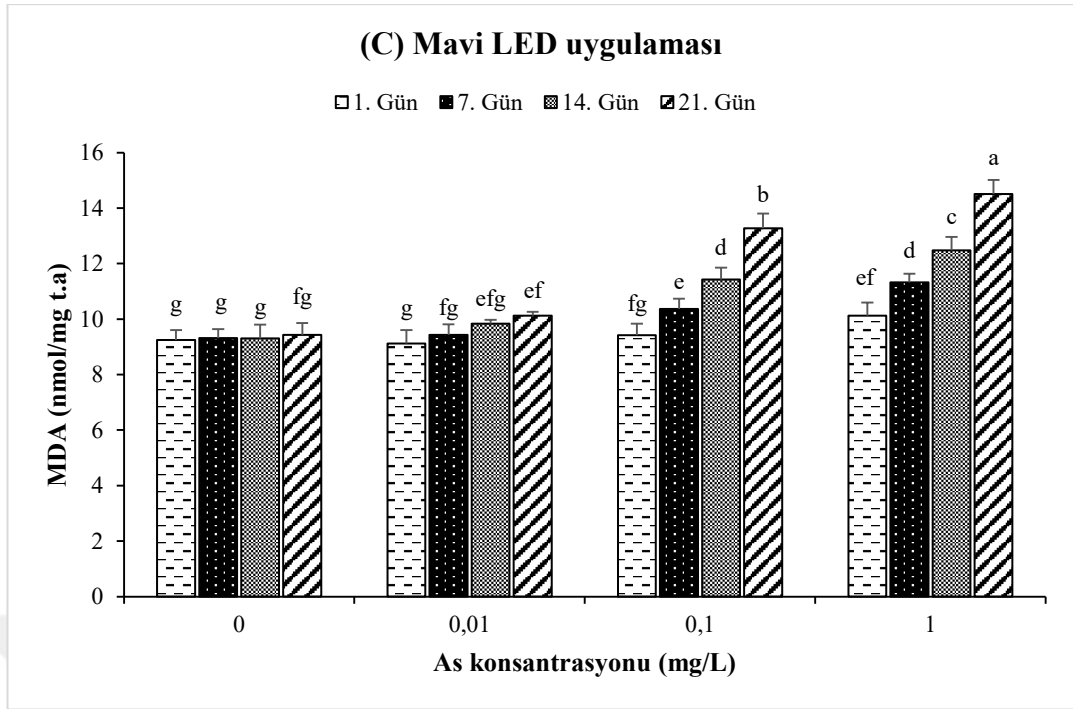
4.8.1 Farklı ışık koşullarında As uygulanmış bitkilerde lipit peroksidasyonun belirlenmesi

Bu denemede, farklı ışık uygulamaları altında 1, 7, 14 ve 21 gün süresince farklı konsantrasyonlarında As (0,01-1 mg/L) içeren ortama maruz bırakılan *C. demersum*'un lipit peroksidasyonundaki değişim araştırılmıştır. Lipid peroksidasyonunun belirlemek için ağır metal uygulamasından sonra malondialdehit (MDA) içeriklerine bakılmıştır. Uygulama süresi ve As konsantrasyonu artışı ile MDA içeriklerinde artışlar tespit edilmiş, elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edilerek grafiklerde sunulmuştur (Şekil 4.19).

Beyaz LED ışık altındaki sonuçlar incelendiğinde en yüksek MDA içeriği 1 mg/L As maruziyetinde ve 21 gün sonunda 14,45 nmol/mg t.a olarak belirlenirken en düşük MDA içeriği 1 gün sonunda 0,01 mg/L As maruziyetinde 9,34 nmol/mg t.a olarak bulunmuştur. Kırmızı LED ışık verileri incelendiğinde maksimum MDA içeriği 1 mg/L As maruziyetinde ve 21 gün sonunda 13,74 nmol/mg t.a olarak tespit edilmiştir. Buna karşın, en düşük MDA içeriği 1 gün sonunda 9,22 nmol/mg t.a olarak kontrol grubu bitkilerinde belirlenmiştir. Mavi LED ışık altındaki denemelerde MDA içerikleri As maruziyeti ile değişmiş ve en yüksek MDA içeriği 21 gün sonunda 1 mg/L As etkisinde 14,51 nmol/mg t.a olarak tespit edilmiştir. En düşük MDA içeriği 1 gün sonunda ve 0,01 mg/L As uygulamasında 9,12 nmol/mg t.a olarak kaydedilmiştir. Beyaz flouresan ışık altında en fazla MDA içeriği 15,20 nmol/mg t.a olarak 21 gün sonunda ve 1 mg/L As etkisinde belirlenirken, en düşük MDA içeriği 9,35 nmol/mg t.a olarak 1 gün sonunda kontrol grubu bitkilerinde görülmüştür.



Şekil 4.19 : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un MDA içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un MDA içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

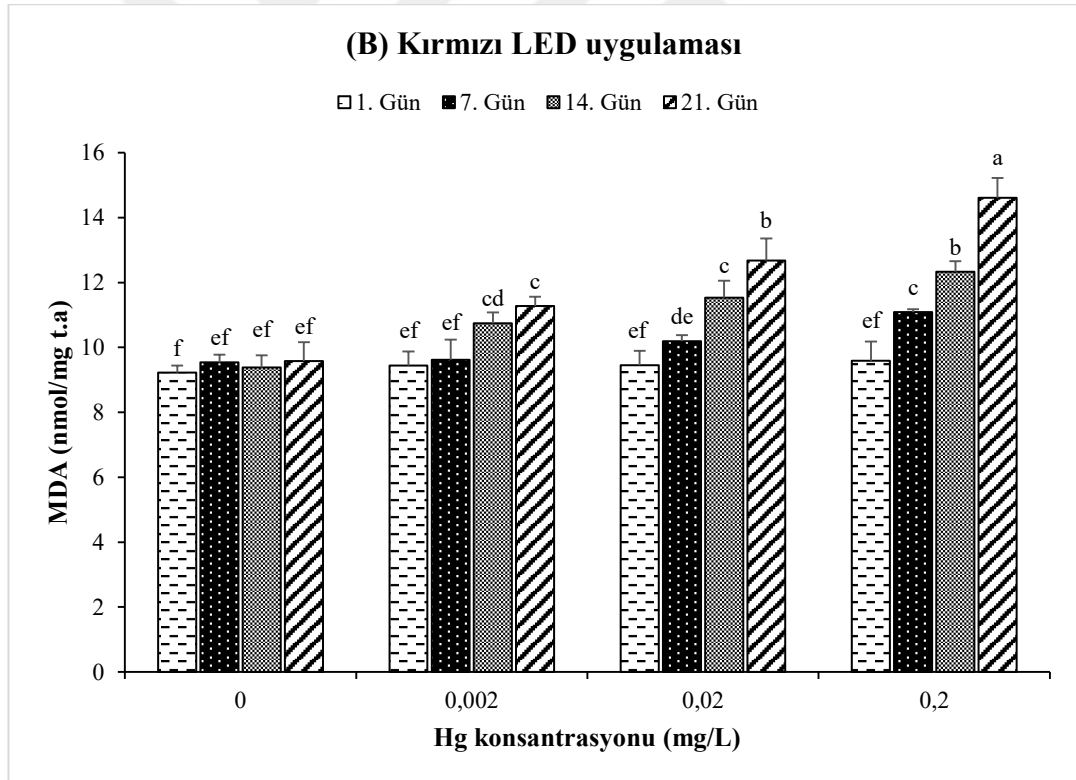
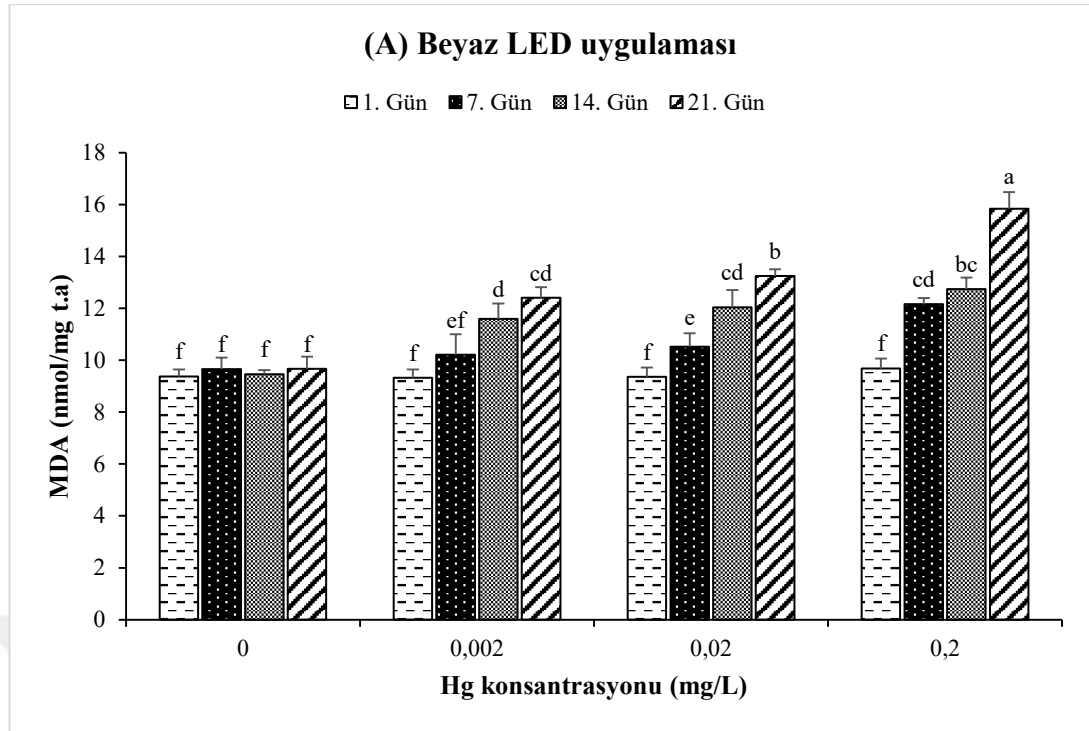


Şekil 4.19 (devam) : Farklı aydınlatma koşullarında As uygulanmış *C. demersum*'un MDA içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda As uygulanan *C. demersum*'un MDA içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

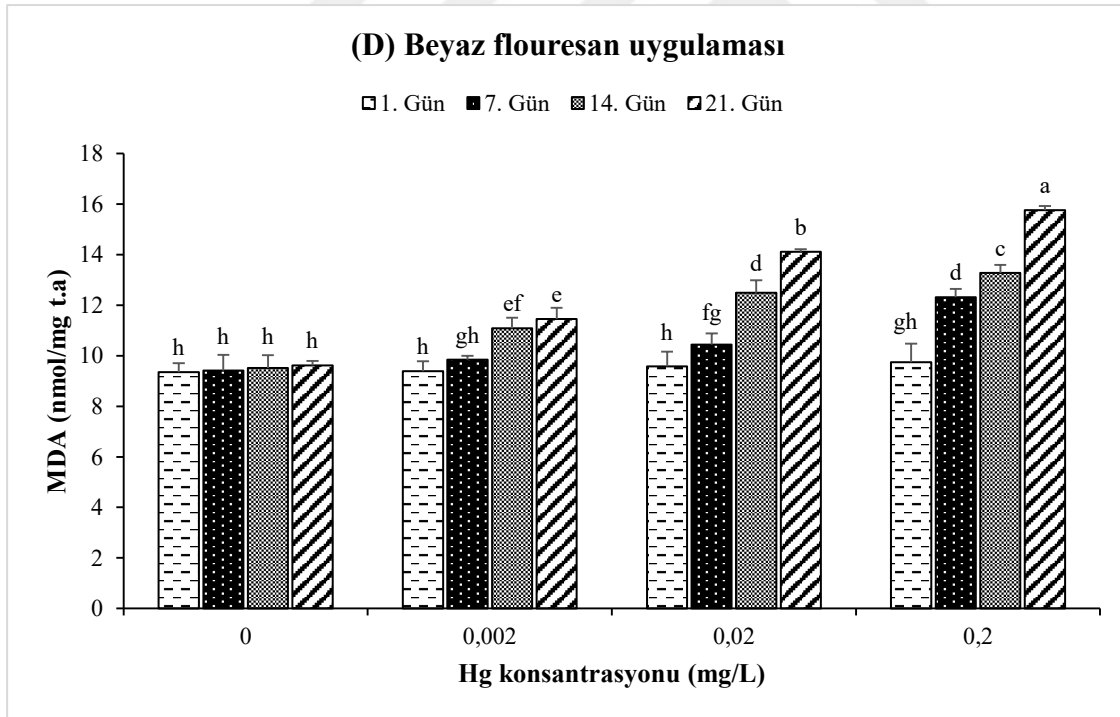
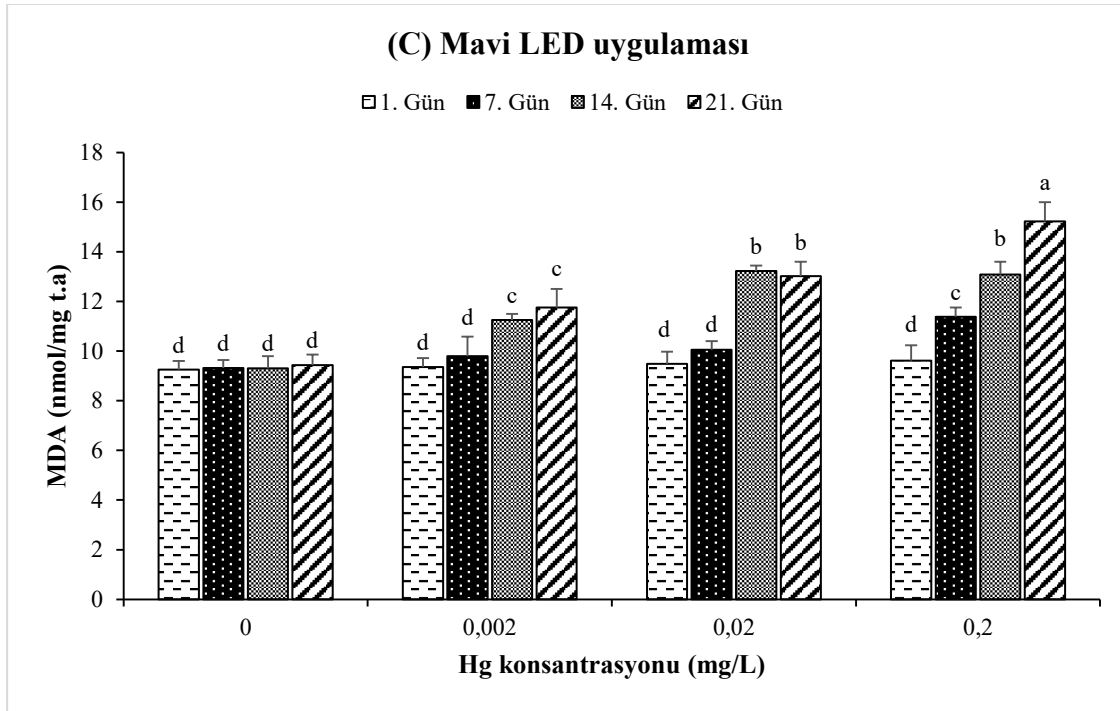
4.8.2 Farklı ışık koşullarında Hg uygulanmış bitkilerde lipid peroksidasyonu belirlenmesi

Farklı ışık uygulamaları altında 1-21 gün süresince farklı konsantrasyonlarında Hg (0,002-0,2 mg/L) içeren ortama maruz bırakılan bitkilerin lipid peroksidasyonundaki değişimler MDA içerikleri yönünden incelenmiştir. Genel olarak tüm ışık uygulamalarına bakıldığında artan Hg konsantrasyonu ve uygulama süresi ile MDA içerikleri de artış göstermiştir. Elde edilen veriler $p<0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.20).

En yüksek seviyede MDA içeriği 21 gün sonunda 0,2 mg/L Hg etkisinde beyaz LED ışık için 15,84 nmol/mg t.a, kırmızı LED için 14,61 nmol/mg t.a, mavi LED için 15,22 nmol/mg t.a ve beyaz flouresan ışık için 15,76 nmol/mg t.a olarak bulunmuştur. En düşük seviyede MDA içerikleri kırmızı LED ışık, mavi LED ışık ve beyaz flouresan ışık altındaki bitkilerde 1 gün sonunda kontrol grubu bitkilerinde kaydedilirken, beyaz LED ışık altındaki bitkilerde en düşük MDA seviyesi 1. gün sonunda 0,002 mg/L Hg uygulamasında belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, yüksek konsantrasyonlarda Hg maruziyeti ile MDA içerikleri önemli derecede artış göstermiştir.



Şekil 4.20 : Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un MDA içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un MDA içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).



Şekil 4.20 (devam): Farklı aydınlatma koşullarında Hg uygulanmış *C. demersum*'un MDA içerikleri. (A) Beyaz LED, (B) kırmızı LED (C) mavi LED ve (D) beyaz flouresan ışık altında farklı dozlarda ve periyotlarda Hg uygulanan *C. demersum*'un MDA içerikleri. Veriler üç tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir (Ortalama $\pm$ Standart sapma $n=3$). Farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Duncan test, $p < 0,05$).

5. TARTIŞMA

Fitoremediasyon çalışmalarında kullanılan *C. demersum*, doku kültürü ile üretilmiştir. Bu teknik sayesinde istenildiği kadar canlı ve steril bitki üretimi başarıyla sağlanabilmiştir. Son yıllarda doku kültürleri çalışmalarına ilgi artmıştır. Fitoremediasyondaki ilerlemeler fizyoloji, biyokimya, genetik ve moleküler biyoloji gibi alanlara yardımcı olmaktadır. Ayrıca bu alanların yanında hızlı bitki üretimi, bitki ıslahı, sekonder metabolit üretimi ve uzun süreli koruma gibi uygulama alanlarında da başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Poyraz, 2012). Benzer şekilde, *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr. ve *Bacopa monnieri* (L.) Wettst (Dogan, 2020a), *Cannabis sativa* L. (Galán-Ávila ve diğerleri, 2020), *Morus alba* (Rezaei-Zafarghandi ve Rahmati-Joneidabad, 2020), *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr. ve *Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb) Koehne (Dogan, 2020b) ve *Staurogyne repens* (Nees) Kuntze (Kose ve diğerleri, 2021) ve *Triticum monococcum* ssp. *monococum* (Örgeç ve diğerleri, 2021) gibi değerli bitkiler doku kültürü teknikleri ile üretilmiştir.

Yürütülen fitoremediasyon çalışmalarında beyaz LED, kırmızı LED, mavi LED ve beyaz flouresan ışıkları kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, fitoremediasyon kabiliyeti bakımından kırmızı LED ışık uygulamasının diğer LED ışıklar ve beyaz flouresan ışık kaynağına göre etkili olduğu görülmüştür. Ardından ise mavi LED ışık kaynağının etkili olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni, kırmızı ve mavi LED ışıkların, bitki büyüme-gelişmesi ve fotosentez aktivitesi için en etkili ışıklar olmasından kaynaklandığı ve böylece bitkiye As ve Hg'ye karşı dayanıklılık sağlayarak, ağır metal akümüilasyon yeteneğine katkı sunduğu düşünülmektedir. Benzer şekilde Gupta ve Jatothu (2013) kırmızı ve mavi LED ışıklarını kullanımının bitkinin büyüme ve gelişimini olumlu etkilediğini bildirmiştir. Ayrıca, kırmızı ve mavi LED ışıkların bitki gelişimini artırdığı birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Duong ve diğerleri, 2003; Shin ve diğerleri, 2008). Kirleticilerin uzaklaştırılması için mikroalglerin kullanıldığı bazı çalışmalarda, LED ışıklarından yayılan monokromatik dalga boyunun, flouresan lambadan gelen karışık dalga boyundaki ışıklara göre daha yüksek arıtma oranına sahip olduğu bulunmuştur (Kwon

ve diğerleri, 2013; Yan ve diğerleri, 2014). Buna ek olarak büyümeyi teşvik eden dalga boylarının mikroalglerin ağır metal tepki mekanizmalarını (adsorbsiyon ve emilim gibi) uyardığı ve böylece ağır metallerin uzaklaştırılmasına önemli katkı yaptığı bildirilmiştir (Kwon ve diğerleri, 2015). Kwon ve diğerleri, (2017) LED ışık ve flouresan ışıkların Cu ve Zn metallerinin *Phaeodactylum tricornutum*, *Nitzschia sp.*, *Skeletonema sp.*, ve *Chlorella vulgaris* mikroalgleri tarafından adsorption ve absorptionunu araştırmışlardır. Fitoremediasyon kapasitelerinin LED ışık altındaki mikroalglerde daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır.

Genel olarak ağır metal akümülayon değerleri As ve Hg konsantrasyonu ve süresinin artması ile artış göstermiştir. Akümülayon değerleri uygulama süresinin ilk zamanlarında hızlı iken 14 ve 21 gün sonundaki değerlerde birikim seviyeleri düşüş göstermiştir. Bu düşüşün sebebi bitkilerin ağır metallerin toksik etkilerinden etkilenmesine dayanıyor olabilir. Benzer şekilde, Doğan ve diğerleri, (2018) *in vitro* koşullarda üretilen *C. demersum* bitkisi 1, 3 ve 5 gün boyunca farklı konsantrasyonlarda kadmiyuma (0,2-1,6 mg/L) maruz bırakmışlardır. En yüksek metal birikimi 1,6 mg/L Cd uygulamasında ve 5 gün sonra elde edilmiştir. Ayrıca, Hg akümülayonu üzerine daha önce *Medicago sativa* (Zhou ve diğerleri, 2007), *Pteris vittata* ve *Nephrolepis exaltata* (Chen ve diğerleri, 2009), *Sesbania drummondii* (Venkatachalam ve diğerleri, 2009), *Jatropha curcas* (Gao ve diğerleri, 2010), *Oriza sativa* (Meng ve diğerleri, 2010) ve *Mentha arvensis* (Manikandan ve Venkatachalam, 2011) gibi diğer bazı bitki türlerinde de çalışılmıştır. Benzer şekilde As akümülayonu üzerine çalışmalar daha önce *Plantago lanceolata* L. (Orłowska ve diğerleri, 2012), *Ocimum spp* (Hu ve diğerleri, 2013) ve *Oryza sativa* L. (Siddiqui ve diğerleri, 2013; Dixit ve diğerleri, 2016) gibi diğer bazı bitki türlerinde yürütülmüştür. Yine *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle (Xue ve Yan, 2011) ve *Ceratophyllum demersum* (Mishra ve diğerleri, 2013) gibi bazı sucul makrofitlerde yüksek miktarda As biriktirebilmektedir.

Bitkilerde önemli bir As detoksifikasyon stratejisi, sürgünlerdeki vakuollere taşınmasını kolaylaştıran As ile kompleksler üreten glutatyon (GSH) ve fitoşelatinlerin (PC) sentezidir (Karimi ve diğerleri, 2009; Zhao ve diğerleri, 2009). GSH, arseniğe bağlanabilir ve ayrıca hücrel redoks dengesinde önemli bir metabolittir (Jozefczak ve diğerleri, 2012; Islam ve diğerleri, 2015). PC'ler, (γ -Glu-Cys) $_n$ -Gly yapısına sahip GSH oligomerlerinden oluşan ve n değeri 2 ile 11 arasında değişen, enzimatik olarak sentezlenmiş küçük bir peptit ailesidir (Batista ve diğerleri, 2014). As ile PC

kompleksleşmesinin bitkilerde hem yapıcı hem de adaptif toleransta önemli bir mekanizma olduğunu gösterilmiştir (Gupta ve diğerleri, 2011). As-PC komplekslerinin vakuollerde tutulması da, As detoksifikasyon metabolizmasında önemli bir adımdır. *Arabidopsis thaliana*'da, vakuolde yer alan iki ABC taşıyıcısı AtABCC1 ve AtABCC2, As direncinde önemli bir rol oynamaktadır (Song ve diğerleri, 2010). Yürüttüğümüz çalışmalarda kırmızı ve mavi LED ışıkların bitkilerde bu PC ve GSH seviyesini etkilemiş olabileceği böylece bitkiye dayanıklılık ve birikim kabiliyeti kazandırmış olabileceği de düşünülmektedir.

Hiperakümülatör bitkilerin daha yüksek seviyede fotosentetik pigment içeriği ürettiğine inanılmaktadır; bu, As ve Hg dahil metal iyonlarının kontamine alanlardan verimli bir şekilde uzaklaştırılması için potansiyel bir detoksifikasyon mekanizması olabilir (Malar ve diğerleri, 2015). Bitkilerin kırmızı (600-700 nm) ve mavi ışık (400-500 nm) uygulamalarının fotosentetik pigment içeriğini artırdığı bir gerçektir. Böylece kırmızı ve mavi LED ışık altındaki bitkilerin yüksek pigment içeriği ile daha yüksek ağır metal birimi özelliği kazanmış olabilir.

Yütütülen çalışmada bitkilerin taze ve kuru ağırlıkları analiz edilmiştir. Özellikle yüksek dozlarda ağır metal uygulaması bitkilerin taze ve kuru ağırlıklarında önemli azalmalara neden olmuştur. Yine yürütülen çalışmada ağır metallerin etkileri nedeniyle bitkilerin toplam klorofil içerikleri ve karotenoit içeriklerinde önemli derecede düşüşler tespit edilmiştir. Klorofil ve toplam karotenoid seviyesinin belirlenmesinin, yüksek bitkilerde ağır metal toksisitesinin basit ve güvenilir bir göstergesi olarak kullanılabileceğini öne sürülmüştür (Krupa ve diğerleri, 1996). As toksisitesinin bitkilerin fotosentetik mekanizmalarını etkilediği bilinmektedir. Artan As konsantrasyonlarının, içbükey membran bükülmesi ile kloroplast şeklinin değişmesine ve asimilatların birikimi ve akışındaki değişikliklerle birlikte kısmi yıkıma neden olduğu ve nihayetinde pirinç yaprağındaki klorofil içeriğinin azalmasına neden olduğu gösterilmiştir (Miteva ve Merakchiyska, 2002). Rahman ve diğerleri, (2007), klorofil içeriği, pirinç büyümesi ve verim arasında iyi korelasyonlar gözlemledi, bu da As toksisitesinin fotosentezi etkilediğini ve sonuçta pirinç büyümesi ve veriminde azalmaya neden olduğunu göstermiştir. As toksisitesi altındaki diğer bitki türlerinde de pigment içeriğinde benzer düşüş gözlenmiştir (Srivastava ve Sharma, 2013). Klorofil pigmentleri fotosentez ile ilişkili olduğundan, pigment konsantrasyonunda gözlenen değişikliklerin fotosentetik süreç üzerinde dolaylı bir

etkiye sahip olmaktadır. Metal stresi altında bitkiler, genellikle klorofil molekülündeki magnezyum iyonlarını mevcut herhangi bir ağır metal ile değiştirir ve bu da fotosentezin parçalanmasıyla bitkilerin fotosentetik aktivitesinde aşırı bozulmalara yol açar. Fotosentetik pigmentler, fotosentetik hızı sınırlayabilen en önemli iç faktörlerden bazılarıdır (Srivastava ve diğerleri, 2017). Böylece As ve Hg varlığında bitkilerin fotosentetik pigment içeriklerinde azalmalar olabileceği anlaşılmıştır.

Yürütülen çalışmalarda, protein içerikleri As ve Hg varlığında azalmış ve maruziyet süresi arttıkça protein içeriğinde azalmalar ciddi boyutlara ulaşmıştır. Bunun nedeni As ve Hg'nin bitki hücreleri üzerindeki toksik etkileri olabilir. Nitekim, yüksek konsantrasyonda As ve Hg iyonları, bitki hücrelerinde protein oksidasyonu, enzim inhibisyonu, DNA ve RNA hasarı ve peroksidaz hasarlarından sorumlu olan süperoksit radikali, singlet oksijen, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu artırarak oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir (Gallego ve diğerleri, 2002; Marmiroli ve diğerleri, 2011). Beş değerlikli As, hücreye girdikten sonra, ATP sentezi de dahil olmak üzere fosforolitik reaksiyonlarda fosfatın yerini alarak fosfata bağımlı metabolizmaya müdahale eder ve böylece bitki hücrelerinde toksisiteye neden olur (Souri ve diğerleri, 2017). As'ın bitki içindeki çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik süreçleri olumsuz yönde etkilediğine ve bitki büyümesinin ve veriminin azalmasına neden olduğuna dair çok sayıda rapor bulunmaktadır (Flora 2011; Khalid ve diğerleri, 2017; Marmiroli ve diğerleri, 2014).

As ve Hg maruziyetindeki bitkilerin lipid peroksidasyonunu belirlemek için MDA seviyelerine bakılmıştır. MDA, biyomembranların çoklu doymamış yağ asitlerinin ayrılmış ürünüdür ve bitkiler As ve Hg stresi altındayken artması oksidatif stresin boyutunun bir göstergesidir (Hou ve diğerleri, 2007; Hu ve diğerleri, 2012). Çalışmamızda, kontrole kıyasla ağır metal uygulama süresi ve konsantrasyonu artışı ile bitkilerin MDA seviyesinde artışlar tespit edilmiştir. Hg maruziyeti, bitkilerin kloroplastlarında ve peroksizomlarında daha yüksek düzeyde ROS üretimine neden olur. Bu ROS'lar, lipid radikallerinin ve reaktif aldehytlerin oluşumuna yol açan doymamış yağ asitlerinden hidrojen iyonlarının uzaklaştırılması nedeniyle ciddi lipid peroksidasyonuna neden olabilir (Chen ve diğerleri, 2009). As, lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA artışa yol açarak oksidatif stres oluşturmaktadır (Srivastava ve diğerleri, 2017). Bu durum, *C. demersum* bitkilerinde

As ve Hg kaynaklı oksidatif stres nedeniyle biyomembranın hasar gördüğünü düşündürmektedir.

Bununla beraber, farklı LED ışıkların etkileri ile bitkilerin taze ve kuru ağırlıkları, fotosentetik pigment içerikleri, protein içerikleri ve lipid peroksidasyonlarında farklı seviyeler ortaya çıkmıştır. Özellikle kırmızı ve mavi LED ışık altındaki bitkiler, diğer ışık uygulamalarına kıyasla As ve Hg'nin olumsuz etkilerinden daha az etkilenmiştir. Bunun nedenleri arasında kırmızı ve mavi LED ışıkların bitkiler üzerinde biyokimyasal ve fizyolojik açıdan olumlu etkileri sayılabilir. Çok sayıda çalışma, farklı oranlardaki kırmızı ve mavi ışıkların, çeşitli bitkilerin yetiştirilmesi için yeterince verimli olduğunu doğrulamıştır (Hogewoning ve diğerleri, 2010; Mizuno ve diğerleri, 2011). Kırmızı ve mavi LED'lerin kullanımı, bu dalga boylarının klorofiller tarafından verimli bir şekilde absorbe edildiği için önemli görülmüştür (Ouzounis ve diğerleri, 2015). Ayrıca, kırmızı ve mavi ışıkların kombinasyonu, diğer LED renklerine kıyasla en yüksek foton verimini sağlamaktadır (Nelson ve Bugbee, 2014). Yüksek oranlarda mavi LED dalga boylarına maruz kalındığında *Brassica*'nın sürgün dokusu pigmentlerinde, glukosinolatlarda ve temel mineral elementlerde önemli artışlar olduğunu göstermektedir (Kopsell ve Sams, 2015). Mavi ışık kriptokrom sistemini aktive eder ve klorofil ve karotenoid absorpsiyon spektrumlarıyla eşleşir, böylece yeşil sebze morfolojisi, büyümesi, fotosentez ve antioksidan sistem tepkisi üzerinde önemli etkilere sahiptir (Olle ve Viršilė, 2013). Mavi LED ışık, yeşil sebzelerin besin kalitesini iyileştirmede de faydalı olmuş ve nitrat içeriğini azaltmıştır (Xin ve diğerleri, 2015; Bian ve diğerleri, 2016), antioksidan durumu uyararak, fenolik bileşikleri artırmıştır (Bian ve diğerleri, 2016; Taulavuori ve diğerleri, 2016). Mavi ışığın, besin değerini (Vaštakaitė ve diğerleri, 2015) ve mineral içeriklerini (Kopsell ve diğerleri, 2014; Gerovac ve diğerleri, 2016) geliştirmek için kullanılabileceğini göstermiştir. Kırmızı ve mavi LED ışık kullanımının *Brassica campestris* L.'da daha yüksek klorofil konsantrasyonuna, en yüksek C vitamini konsantrasyonuna ve vejetatif büyümeye yardımcı olduğu görülmüştür (Li ve diğerleri, 2012). *Coriandrum sativum*'da en yüksek taze ve kuru kütle birikimi, 10 :1 oranında kırmızı: mavi LED'lerin altındaki bitkilerde belirlenmiştir (Naznin ve diğerleri, 2016). Kırmızı ışık genellikle aydınlatma spektrumunun temelidir ve bitki büyümesi ve fotosentez için tek kırmızı LED ışık yeterli olabilir (Viršilė ve diğerleri, 2017).

Anlaşılabacağı üzere bu gibi olumlu etkileri nedeniyle, bitkiler As ve Hg etkisine karşı daha dayanıklı olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, ağır metal stres koşulları altında, hücre membran yapısını, nükleik asitleri ve fotosentetik pigment içeriğini etkileyen ROS üretiminin artması nedeniyle bitkilerde detoksifiye edici enzim aktivitelerinin seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2007). Kırmızı ve mavi LED ışıklar toksik etki altındaki bitkilerde, detoksifiye edici enzim aktivitelerinin seviyesini artırmış olabilir, böylece bitki gelişimi diğer ışık uygulamalarına kıyasla daha verimli hale gelmiş olabilir.

Sonuç olarak; farklı LED ışıklar altında *C. demersum* tarafından As ve Hg'nin uzaklaştırılması çalışmaları başarıyla tamamlanmıştır. Arıtım sisteminde LED ışıkların önemi ortaya çıkmıştır. As ve Hg'nin su ortamından uzaklaştırılmasında en etkili ışık kırmızı LED olarak bulunmuştur. Ardından ise mavi LED olarak tespit edilmiştir. Yine As ve Hg maruziyetine bırakılan bitkilerin biyokimyasal parametreleri incelendiğinde, kırmızı ve mavi LED ışık altındaki bitkilerin diğer ışık uygulamalarına kıyasla çok daha iyi sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bize kırmızı ve mavi LED ışık sistemlerinin fitoremediasyon çalışmalarında faydalı olabileceğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

- Afaj, A. H., Jassim, A. J., Noori, M. M. ve Schüth, C. (2017). Effects of lead toxicity on the total chlorophyll content and growth changes of the aquatic plant *Ceratophyllum demersum* L. *International Journal of Environmental Studies*, 74(1), 119-128. doi: 10.1080/00207233.2016.1220723
- Ahmed, Z. F., Ameer, Q. A. A. ve Abbas, R. F. (2018). Release cumulative power between *Ceratophyllum demersum* L. and *Hydrilla verticillata* plant to phytoremediation lead in the polluted water aquatic ecosystem. *Journal of The College of Basic Education*, 24, (101/ع).
- Ali, H., Khan, E. ve Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere*, 91, 869-881. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.01.075
- Anonim, (2021). *Ceratophyllum demersum* L. coon's tail. <https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=CEDE4> - (Erişim Tarihi: 10.04.2021).
- Aydın, M. (2012). Toprak fiziğinin kısa bir tarihçesi. *Toprak Bilimi ve Bitki Beslenme Dergisi*, 1(1), 1-3.
- Babaoğlu, M., Yorgancılar, M. ve Akbudak, M. A. (2001). Doku Kültürleri: Tarihçe ve Temel Teknikleri. Bitki Biyoteknolojisi I-Doku Kültürü ve Uygulamaları, Editörler: Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya.
- Bakacak, A. (2010). İstanbul Üniversitesi, Alfred Heilbronn Botanik Bahçesinin Su Bitkileri Üzerinde Sistemantik Araştırmalar. *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.
- Batista, B. L., Nigar, M., Mestrot, A., Rocha, B. A., Barbosa, F. Jr. ve Price, A. H. (2014). Identification and quantification of phytochelatins in roots of rice to long-term exposure: evidence of individual role on arsenic accumulation and translocation. *Journal of Experimental Botany*, 65(6), 1467-1479. doi:10.1093/jxb/eru018
- Bayazit H. A. (2006). Çevre kirliliğinin önemszenmesinde ailenin yeri ve önemi. *Ahi Evran Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 7(2), 359-376.
- Bian, Z. H., Cheng, R. F., Yang, Q. C., Wang, J. ve Lu, C. (2016). Continuous light from red, blue, and green light-emitting diodes reduces nitrate content and enhances phytochemical concentrations and antioxidant capacity in lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 141(2), 186-195. doi:10.21273/JASHS.141.2.186
- Boğa, A. (2007). Ağır metallerin özellikleri ve etki yolları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 16 (3), 218-230.

- Chen, J., Shiyab, S., Han, F. X., Monts, D. L., Waggoner, C. A., Yang, Z. ve Su, Y. (2009). Bioaccumulation and physiological effects of mercury in *Pteris vittata* and *Nephrolepis exaltata*. *Ecotoxicology*, 18(1), 110-121. doi: 10.1007/s10646-008-0264-3
- Cinar, G., Doğan, M. ve Sevindik, M. (2020). Bioaccumulation of chromium and nickel applied to single and binary for a short time in *Ceratophyllum demersum*, A rootless aquatic macrophyte. *AgroLife Scientific Journal*, 9 (2), 77-81.
- Dănilă, E. ve Lucache, D. D. (2013). Cost effectiveness of growing plant lighting system. *Journal of Electrical Engineering*, 13(4), 224-229.
- Dixit, G., Singh, A. P., Kumar, A., Mishra, S., Dwivedi, S., Kumar, S., ... Tripathi, R. D. (2016). Reduced arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) shoot involves sulfur mediated improved thiol metabolism, antioxidant system and altered arsenic transporters. *Plant Physiology and Biochemistry*, 99, 86-96. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.11.005
- Dogan, M. (2013). *In vitro* koşullarda tilki kuyruğu (*Ceratophyllum demersum* L.)'nun çoğaltımı. *Yüksek Lisans Tezi*, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman.
- Dogan, M., Karatas M. ve Aasim, M. (2018). Cadmium and lead bioaccumulation potentials of an aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* L.: a laboratory study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, 431-440. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.10.058
- Dogan, M. (2020a). Effect of salt stress on *in vitro* organogenesis from nodal explant of *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr. and *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. and their physio-morphological and biochemical responses. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26(4), 803-816.
- Dogan, M. (2020b). The effectiveness of light emitting diodes on *in vitro* shoot regeneration from shoot tip tissues of *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr. and *Rotala Rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb) Koehne. *Biotechnic ve Histochemistry*, 95(3), 225-232. doi: 10.1080/10520295.2019.1670359
- Dogan, M., Akgul, H., Inan, O. G. ve Zeren, H. (2015). Determination of cadmium accumulation capabilities of aquatic macrophytes *Ceratophyllum demersum*, *Bacopa monnieri* and *Rotala rotundifolia*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14(4), 1010-1017. doi :10.22092/ijfs.2018.114500.
- Duong, T. N., Hong, L. T. A., Watanabe, H., Goi, M. ve Tanaka, M. (2003). Efficiency of a novel culture system by using light-emitting diode (led) on *in vitro* and subsequent growth of micropropagated banana plantlets. *Acta Horticulturae*, 616, 121-127. doi: 10.17660/ActaHortic.2003.616.10
- EPA, (2000). Introduction to phytoremediation. *National Risk Management Research Laboratory*. (EPA/600/R-99/107).
- Favas, P. J. C., Pratas, J., Varun, M., D'Souza, R. ve Paul, M. S. (2014). Phytoremediation of soils contaminated with metals and metalloids at mining areas: potential of native flora. *Environmental Risk Assessment of Soil Contamination*, Editör: Hernandez-Soriano M. C. *InTech Press*, 485-517.
- Finnegan, P. ve Chen, W. (2012). Arsenic toxicity: the effects on plant metabolism. *Frontiers in Physiology*, 3, 182. doi: 10.3389/fphys.2012.00182

- Flora, S. J. (2011). Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility. *Free Radical Biology and Medicine*, 51, 257–281. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.008
- Galán-Ávila, A., García-Forte, E., Prohens, J. ve Herraiz, F. J. (2020). Development of a direct *in vitro* plant regeneration protocol from *Cannabis sativa* L. seedling explants: Developmental morphology of shoot regeneration and ploidy level of regenerated plants. *Frontiers in Plant Science*, 11, 645. doi: 10.3389/fpls.2020.00645
- Gallego, S., Benavides, M. ve Tomarow, A. (2002). Involvement of an antioxidant defense system in the adaptive response to heavy metal ions in *Helianthus annuus* L. cells. *Plant Growth Regulation*, 36, 267–273. doi:10.1023/A:1016536319908
- Gao, S., Ou-yang, C., Tang, L., Zhu, J. Q., Xu, Y., Wang, S. H. ve Chen, F. (2010). Growth and antioxidant responses in *Jatropha curcas* seedling exposed to mercury toxicity. *Journal of Hazardous Materials*, 182(1-3), 591–597. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.06.073
- Gerovac, J. R., Craver, J. K., Boldt J. K. ve Lopez, R. G. (2016). Light intensity and quality from sole-source light-emitting diodes impact growth, morphology, and nutrient content of brassica microgreens. *HortScience*, 51, 497–503. doi: 10.21273/HORTSCI.51.5.497
- Gupta, D. K., Srivastava, S., Huang, H. G., Romero-Puertas, M. C. ve Sandalio, L. M. (2011). Arsenic Tolerance and Detoxification Mechanisms in Plants. In *Detoxification of Heavy Metals* (pp. 169–179). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Gupta, S. D. ve Jatothu, B. (2013). Fundamentals and applications of light-emitting diodes (leds) in *in vitro* plant growth and morphogenesis. *Plant Biotechnology Report*, 7(3), 211–220. doi: 10.1007/s11816-013-0277-0
- Hak, K., Ritchie, R. J. ve Dummee, V. (2020). Bioaccumulation and physiological responses of the Coontail, *Ceratophyllum demersum* exposed to copper, zinc and in combination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189, 110049. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.110049
- Heath, R. L. ve Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts 1. kinetic and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189–198. doi: 10.1016/0003-9861(68)90654-1
- Hoagland, D. R. ve Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station, Circular*. 347, 1–32.
- Hogewoning, S. W., Trouwborst, G., Maljaars, H., Poorter, H., Van Ieperen, W. ve Harbinson, J. (2010). Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *Journal of Experimental Botany*, 61, 3107–3117. doi: 10.1093/jxb/erq132
- Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q. ve Chang, C. C. (2007). Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted water body restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 62–69. doi: 10.1016/j.plaphy.2006.12.005

- Hu, R., Sunc, K., Suc, X., Pana, Y. ve Zhang, Y. (2012). Physiological responses and tolerance mechanisms to Pb in two xerophils: *Salsola passerina* Bunge and *Chenopodium album* L. *Journal of Hazardous Materials*, 205, 131-138. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.12.051
- Hu, P., Li, Z., Yuan, C., Ouyang, Y., Zhou, L., Huang, J., ... ve Wu, L. (2013). Effect of water management on cadmium and arsenic accumulation by rice (*Oryza sativa* L.) with different metal accumulation capacities. *Journal of Soils and Sediments*, 13(5), 916-924. Doi: 10.1007/s11368-013-0658-6.
- Islam, E., Khan, M. T. ve Irem, S. (2015). Biochemical mechanisms of signaling: perspectives in plants under arsenic stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 114, 126–133. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.01.017
- Istanbulluoğlu, H., Ogur, R., Tekbas, Ö. F. ve Bakir, B. (2013). Süt ve süt ürünlerinde ağır metal kirliliği. *Türkiye Klinikleri, Tıp Bilimleri Dergisi*, 33(2), 410.
- İbadullayeva, J., Jumaniyazova, K., Azimzadeh, S., Canıgür, S. ve Esen, F. (2019). Çevre kirliliğinin insan sağlığı üzerindeki etkileri. *Türk Tıp Öğrencileri Araştırma Dergisi*, 1(3), 52-58.
- Jozefczak, M., Remans, T., Vangronsveld, J. ve Cuypers, A. (2012). Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(3), 3145-3175. doi:10.3390/ijms13033145
- Karaca A, Turgay O. C (2012). Toprak kirliliği. *Toprak Bilimi ve Bitki Beslenme Dergisi*, 1(1) 13-20.
- Karimi, N., Ghaderian, S. M., Raab, A., Feldmann, J. ve Meharg, A. A. (2009). An arsenic accumulating, hyper-tolerant *Brassica*, *Isatis Cappadocica*. *The New Phytologist*, 184, 41–47. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.02982.x
- Khalid, S., Shahid, M., Niazi, N. K., Rafiq, M., Bakhat, H. F., Imran, M., ... ve Dumat, C. (2017). Arsenic behaviour in soil-plant system: Biogeochemical reactions and chemical speciation influences. In *Enhancing Cleanup of Environmental Pollutants* (pp. 97-140). Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-55423-5_4
- Kopsell, D. A. ve Sams, C. E. (2015). Blue wavelengths from LED lighting increase nutritionally important metabolites in specialty crops. *HortScience*, 50, 1285-1288. doi: 10.21273/HORTSCI.50.9.1285
- Kopsell, D. A., Sams, C. E., Barickman, T. C. (2014). Sprouting broccoli accumulate higher concentrations of nutritionally important metabolites under narrow-band light emitting diode lighting. *HortScience*, 139, 469-477. doi: 10.21273/JASHS.139.4.469.
- Kose, M. S. H., Dogan, M. ve Sadi, G. (2021). Enhanced *in vitro* shoot proliferation through nodal explants of *Staurogyne repens* (Nees) Kuntze. *Biologia*, 76(3), 1053-1061. doi: 10.2478/s11756-020-00658-w
- Krupa, Z., Baranowska, M. ve Orzol, D. (1996). Can anthocyanins be considered as heavy metal stress indicator in higher plants?. *Acta Physiologiae Plantarum*, 18 (2), 147–151.
- Kwon, H. K., Oh, S. J., Yang, H. S. ve Kim, P. J. (2015). Phytoremediation by benthic microalgae (BMA) and light emitting diode (LED) in eutrophic coastal sediments. *Ocean Science Journal*, 50, 87-96. doi: 10.1007/s12601-015-0007-3

- Kwon, H. K., Jeon, Y. J. ve Oh, S. J. (2017). Potential for heavy metal (copper and zinc) removal from contaminated marine sediments using microalgae and light emitting diodes. *Ocean Science Journal*, 52(1), 57-66. doi: 10.1007/s12601-017-0001-z
- Kwon, H. K., Oh, S. J., Yang, H. S., Kim, D. M., Kang, I. J. ve Oshima, Y. (2013). laboratory study for the phytoremediation of eutrophic coastal sediment using benthic microalgae and light emitting diode (LED). *Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University*, 58, 417-425. doi: 10.5109/27374
- Li, H., Tang, C., Xu, Z., Liu, X. ve Han, X. (2012). Effects of different light sources on the growth of non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* L.). *Journal of Agricultural Science*, 4, 262-273.
- Lichtenthaler, H. K. ve Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 591-592. doi: 10.1042/bst0110591
- Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. ve Randall, R. J., (1951). Protein measurement with folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275. PMID: 14907713.
- Mahmoud, K., Mahmoud, H. A. ve Sayed, S. S. (2018). Potential role of *Ceratophyllum demersum* in bioaccumulation and tolerance of some heavy metals. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 22(4), 1-12. doi: 10.21608/ejabf.2018.9738
- Malar, S., Sahi, S. V., Favas, P. J. C. ve Venkatachalam, P. (2015). Assessment of mercury heavy metal toxicity-induced physiochemical and molecular changes in *Sesbania grandiflora* L. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(10), 3273-3282. doi: 10.1007/s13762-014-0699-4
- Maleva, M., Borisova, G., Chukina, N. ve Kumar, A. (2018). Urea increased nickel and copper accumulation in the leaves of *Egeria densa* (Planch.) Casp. and *Ceratophyllum demersum* L. during short-term exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, 152-159. doi : 10.1016/j.ecoenv.2017.10.012
- Manikandan, R. ve Venkatachalam, P. (2011). Risk assessment of mercury ion heavy metal exposure on physiological and biochemical changes and DNA damage using RAPD analysis in *Mentha arvensis* seedlings. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 12, 41-50. doi: 10.1155/2015/715217
- Marmioli, M., Pietrini, F., Maestri, E., Zacchini, M., Marmioli, N. ve Massacci, A. (2011). Growth, physiological and molecular traits in Salicaceae trees investigated for phytoremediation of heavy metals and organics. *Tree Physiology*, 31(12), 1319-1334. doi: 10.1093/treephys/tpq090
- Marmioli, M., Pigoni, V., Savo-Sardaro, M. L., ve Marmioli, N. (2014). The effect of silicon on the uptake and translocation of arsenic in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 99, 9-17.
- Meng, B., Feng, X., Qiu, G., Cai, Y. ve Wang, D. (2010). Distribution patterns of inorganic mercury and methylmercury in tissues of Rice (*Oryza sativa* L.) plants and possible bioaccumulation pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4951-4958. doi: 10.1021/jf904557x.

- Mishra, S., Wellenreuther, G., Mattusch, J., Stärk, H. J. ve Küpper, H. (2013). Speciation and distribution of arsenic in the nonhyperaccumulator macrophyte *Ceratophyllum demersum*. *Plant Physiology*, 163(3), 1396-1408.
- Miteva, E. ve Merakchiyska, M. (2002). Response of chloroplasts and photosynthetic mechanism of bean plants to excess arsenic in soil. *Bulgarian Journal of Agricultural Sciences*, 8, 151–156.
- Mizuno, T., Amaki, W. ve Watanabe, H. (2011). Effects of monochromatic light irradiation by LED on the growth and anthocyanin contents in leaves of cabbage seedlings. *Acta Horticulturae*, 907, 179-184. doi: 10.17660/ActaHortic.2011.907.25
- Murashige, T. ve Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, 15, 473-497. doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Naznin, M. T., Lefsrud, M., Gravel, V. ve Hao, X. (2016). Different ratios of red and blue LED light effects on coriander productivity and antioxidant properties. *Acta Horticulturae*, 1134, 223-229. doi:10.17660/ActaHortic.2016.1134.30
- Nelson, J. A. ve Bugbee, B. (2014). Economic analysis of greenhouse lighting: light emitting diodes vs. high intensity discharge fixtures. *Plos ONE*, 9(6), e99010. doi: 10.1371/journal.pone.0099010
- Okatan, Y., Kahanak, G. M. ve Noodén, L. D. (1981). Characterization and kinetics of soybean maturation and monocarpic senescence. *Physiologia Plantarum*, 52(2), 330-338.
- Okcu, M., Tozlu, E., Kumlay, A. ve Pehlivan, M. (2012). Ağır metallerin bitkiler üzerine etkileri. *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 17 (2), 14-26.
- Olle, M. ve Viršilė, A. (2013). The effects of light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. *Agricultural and Food Science*, 22, 223-234. doi: 10.23986/afsci.7897
- Oram, B., Halsor, S. ve Redmond, B. (2010). Water quality. *Wilkes University Center for Environmental Quality Environmental Engineering and Earth Sciences, USA*.
- Orłowska, E., Godzik, B. ve Turnau, K. (2012). Effect of different arbuscular mycorrhizal fungal isolates on growth and arsenic accumulation in *Plantago lanceolata* L. *Environmental Pollution*, 168, 121-130.
- Ouzounis, T., Razi, Parjikolaie, B., Fretté, X., Rosenqvist, E. ve Ottosen, C. O. (2015). Predawn and high intensity application of supplemental blue light decreases the quantum yield of PSII and enhances the amount of phenolic acids, flavonoids, and pigments in *Lactuca sativa*. *Frontiers in Plant Science*, 6, 19. doi: 10.3389/fpls.2015.00019
- Örgeç, M., Verma, S. K., Şahin, G., Zencirci, N. ve Gürel, E. (2021). In vitro tissue culture protocol of ancient einkorn (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum*) wheat via indirect shoot regeneration. *In Vitro Cellular ve Developmental Biology-Plant*, 57(1), 143-151. doi: 10.1007/s11627-020-10122-8
- Özbolat, G. ve Tuli, A. (2016). Ağır metal toksisitesinin insan sağlığına etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(4), 502-521.

- Pal, R. (2021). *Ricinus communis*: a potent lead (Pb) accumulator. In *Recent Advancements in Bioremediation of Metal Contaminants* (pp. 147-164). IGI Global. doi: 10.4018/978-1-7998-4888-2.ch00
- Piovene, C., Orsini, F., Bosi, S., Sanoubar, R., Bregola, V., Dinelli, G. ve Gianquinto, G. (2015). Optimal red:blue ratio in led lighting for nutraceutical indoor horticulture. *Scientia Horticulturae*, 193, 202-208.
- Polechońska, L., Klink, A., Dambiec, M. ve Rudecki, A. (2018). Evaluation of *Ceratophyllum demersum* as the accumulative bioindicator for trace metals. *Ecological Indicators*, 93, 274-281. Doi: 10.1016/j.ecolind.2018.05.020
- Poyraz, H. (2012). Endemik *Erodium somanum*'un bitki doku kültürü yöntemi ile mikroçoğaltımı. *Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Kütahya.
- Prata, J. C., Silva, A., da Costa, J. P., Mouneyrac, C., Walker, T. R., Duarte, A. C. ve Rocha-Santos, T. (2019). Solutions and integrated strategies for the control and mitigation of plastic and microplastic pollution. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(13), 2411.
- Rahman, M. A., Hasegawa, H. Rahman, M. M. Rahman, M. A. ve Miah. M. A. M. (2007). Accumulation of arsenic in tissues of rice plant (*Oryza sativa* L.) and its distribution in fractions of rice grain. *Chemosphere*, 69, 942-948.
- Rashtian, A., Monemi, N., Jafari, S. ve Azimzadeh, H. (2020). The effect of bauxite mining on soil and dominant plant pollution in arid rangelands of Taft in Yazd Province. *Desert*, 25(1), 101-108. doi: 10.22059/jdesert.2020.78170
- Rezaei-Zafarghandi M. ve Rahmati-Joneidabad, M. (2020). Effects of thidiazuron on in vitro shoot regeneration of *Morus alba*. *Biotechnologia*, 101(1), 55-61.
- Sandalcı, İ. ve Sandalcı, U. (2019). Teoriden pratiğe güncel vergi konuları. *Çevre sorunlarıyla Mücadele Aracı olarak poşet vergisi*. Ekim Yayınevi, 23-43.
- Shin, S. K., Murthy, N. H., Heo, W. J., Hahn, J. E. ve Paek, Y. K. (2008). The effect of light quality on the growth and development of in vitro cultured *Doritaenopsis* plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 339-343. doi: 10.1007/s11738-007-0128-0
- Siddiqui, F., Krishna, S. K., Tandon, P. K., ve Srivastava, S. (2013). Arsenic accumulation in *Ocimum spp.* and its effect on growth and oil constituents. *Acta Physiologiae Plantarum*. 35(4), 1071-1079.
- Song, W. Y., Park, J., Mendoza-Cózatl, D. G., Suter-Grotemeyer, M., Shim, D., Hörtensteiner, S., ... ve Martinoia, E. (2010). Arsenic tolerance in *Arabidopsis* is mediated by two ABCC-type phytochelatin transporters. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(49), 21187-21192. doi: 10.1073/pnas.1013964107
- Souri, Z., Karimi, N., ve Sandalio, L. M. (2017). Arsenic hyperaccumulation strategies: an overview. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 5, 67.
- Srivastava, S. ve Sharma. Y. K. 2013. Arsenic phytotoxicity in black gram (*Vigna mungo* L. Var. PU19) and its possible amelioration by phosphate application. *Journal of Plant Physiology and Pathology*, 1(3), 1-4.

- Srivastava, S., Sinha, P. ve Sharma, Y. K. (2017). Status of photosynthetic pigments, lipid peroxidation and anti-oxidative enzymes in *Vigna mungo* in presence of arsenic. *Journal of Plant Nutrition*, 40(3), 298-306.
- Sürmen, B., Kılıç, D. D., Kutbay, H. G., ve Tuna, E. E. (2019). Doğal olarak yayılış gösteren *Lepidium draba* L. türünün fitoremediasyon yönteminde kullanılabilirliğinin araştırılması. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (17), 491-499.
- Şekeroğlu A. ve Akmaz Y. (2009). Karayollarından uzaklığın yumurta ağır metal içeriğine etkisi. *Anadoluda Tarım Bilimleri Dergisi*, 24 (2), 103-107.
- Taulavuori, K., Hyöky, V., Oksanen, L., Taulavuori, E. ve Julkunen-Tiitto, R. (2016). Species-specific differences in synthesis of flavonoids and phenolic acids under increasing periods of enhanced blue light. *Environmental and Experimental Botany*, 121, 145-150. doi:10.1016/j.envexpbot.2015.04.002
- Vaštakaitė, V., Viršilė, A., Brazaitytė, A., Samuoliene, G., Jankauskiene, J., Sirtautas, R., Noviçkovas, A., Dabašinskas, L., Sakalauskienė, S., Miliauskienė, J., Duchovskis P. (2015). The effect of blue light dosage on growth and antioxidant properties of microgreens. *Sodininkystė ir daržininkystė*, 34(1-2), 5-35.
- Venkatachalam, P., Srivastava, A. K., Raghothama, K. G. ve Sahi, S. V. (2009). Genes induced in response to mercury-ion-exposure in heavy metal hyperaccumulator *Sesbania drummondii*. *Environmental Science and Technology*, 43, 843-850. doi: 10.1021/es801304n
- Viršilė, A., Olle, M., ve Duchovskis, P. (2017). LED lighting in horticulture. In *Light emitting diodes for agriculture*. 113-147. Springer, Singapore.
- Xin, J., Liu, H., Song, S., Chen, R. ve Sun, G. (2015) Growth and quality of Chinese kale grown under different LEDs. *Agricultural Science Technology*, 16, (68-69).
- Yazıcı, M. (2015). Kayseri kenti yer altı sularının arsenik kirliliği açısından değerlendirilmesi. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5 (1), 16-25.
- Yerli, C., Çakmakçı, T., Sahin, U. ve Tüfenkçi, Ş. (2020). Ağır metallerin toprak, bitki, su ve insan sağlığına etkileri. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*. 2020 Ekim TDFD Özel Sayısı, 103-114.
- Yıldırım, E. G. (2013). Çevre sorunlarına yönelik tutum ölçeğinin geliştirilmesi ve öğretmen adaylarının tutumlarının belirlenmesi. *Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 33 (2), 411 - 430.
- Yılmaz, A. ve Yanarateş, E. (2020). Öğretmen adaylarının “su kirliliği” kavramına yönelik metaforik algılarının veri çeşitlemesi yoluyla belirlenmesi. *Kastamonu Eğitim Dergisi*, 28 (3), 1500-1528.
- Zayed, A., Gowthaman, S. ve Terry, N. (1998). Phytoremediation of trace elements by Wetland plants: duckweed. *Journal of Environmental Quality*, 27, 715-721. doi: 10.2134/jeq1998.00472425002700030032x
- Zhang, F. Q., Wang, Y. S., Lou, Z. P. ve Dong, J. D. (2007). Effect of heavy metal stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of two mangrove plant seedlings (*Kandelia candel* and *Bruguiera gymnorhiza*). *Chemosphere*, 67, 44-50. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.10.007.

- Zhao, F. J., Ma, J. F., Meharg, A. A., ve McGrath, S. P. (2009). Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist*, 181, 777–794. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02716.x
- Zhou, Z. S., Huang, S. Q., Guo, K., Mehta, S. K., Zhang, P. C. ve Yang, Z. M. (2007). Metabolic adaptation to mercury-induced oxidative stress in roots of *Medicago sativa* L. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101, 1-9. doi:10.1016/j.jinorgbio.2006.05.011

