

## CD VE PB'NİN DOĞAL ORTAMDA, *Lemna minor* ÜZERİNDEKİ KOMBİNE TOKSİK ETKİSİ

Ufuk Burak<sup>1</sup>, Evren Tunca<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Ordu üniversitesi Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi

(Geliş Tarihi: 21.02.2017; Kabul Tarihi: 20.04.2017)

### Özet

Gerçekleştirilen bu çalışmanın amacı doğal ortamdan elde edilen midyumda kültüre alınan *Lemna minor* üzerinde Cd ve Pb'nin kombine toksik etkilerini saptamaktır. Çalışma 1 hafta sürdürülmüştür. Deney süresince bitkiler 0.1, 0.5, 1, 2, 4 mg L-1Cd ve Pb konsantrasyonuna ayrı ayrı maruz bırakılmıştır. Ayrıca bu metal ve dozların kendi aralarındaki tüm kombinasyonları da antagonistik ve sinerjistik etkiyi gözlemlemek için çalışılmıştır. Çalışmanın sonucunda ağır metallerin teker teker uygulandığında görülen etki ile beraber uygulandıklarında görülen etkinin farkı (kombine toksik etki) Mann Whitney U analizi kullanılarak ortaya konmuştur. Sonuç olarak tekli doz denemelerinde Pb'nin Cd'ye göre büyüme üzerinde daha yoğun bir inhibisyon oluşturduğu gözlenmiştir. Pb için 0.1 ile 0.5 mg/L'lik doz geçişinde büyüme stimüle edilmiş daha sonra doz artışıyla büyümede inhibisyon görülerek hormesis fenomeni oluşmuştur. 0.1 mg/L'lik Cd konsantrasyonunda etkiler tüm kombinasyonlar için additive olarak bulunmuştur. Ancak artan konsantrasyonla beraber sinerjistik etkiler de görülmeye başlanır. 0.5, 1 ve 2 mg/L konsantrasyonlarda, konsantrasyon artışlarına bağlı olarak sinerjistik etki sayısında azalma görülürken, 4 mg/L'lik maksimum konsantrasyonda sinerjistik etki sayısında tekrar artış görülmüştür. Pb için ise Cd'den farklı olarak kombine toksik etki en az konsantrasyon olan 0.1 mg/L de maksimum sinerjistik etki yakalanırken artan dozla beraber dalgalanmalar gözlenmiş, oluşan trend Cd'ye benzerlik göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kurşun; Kadmiyum; Kombine toksik etki; *Lemna minor*

## COMBINE TOXIC EFFECT OF CD AND PB ON *Lemna minor* AT NATURAL ENVIRONMENT

### Abstract

The aim of this study was to determine the combined toxic effects of Cd and Pb on *Lemna minor* which cultured in the midyum obtained from natural environment. The study was continued for 1 week. During the experiment, the plants were individually exposed to 0.1, 0.5, 1, 2, 4 mg L-1Cd and Pb concentrations. It was also attempted to observe the antagonistic and synergistic effect for all combinations of metals and doses among themselves. As a result of the study, the effect of applying heavy metals one by one and the difference in efficacy observed (combined toxic effect) was demonstrated using Mann Whitney U analysis. As a result, in the single dose trials, it was observed that Pb gave a more intensive inhibition on growth than Cd. Growth was stimulated at a dose

of 0.1 to 0.5mg/L for Pb, then hormesis phenomine was formed by inhibition of growth by dose increase. The effects at Cd concentration of 0.1mg/L were found as additive for all combinations. However, synergistic effects are started observing with increasing concentration. At concentrations of 0.5, 1 and 2mg/L, there was a decrease in the number of synergistic effects, while a rise in the number of synergistic effects was observed at the maximum concentration of 4mg/L. For Pb, unlike Cd, the combined toxic effect showed a maximum synergistic effect at 0.1mg/L, which was the lowest concentration, while fluctuations were observed with increasing dose, showing similar trend to Cd.

**Keywords:** Lead, Cadmium, Combine toxic effect, *Lemna minor*

---

\*[evren\\_tunca@yahoo.com](mailto:evren_tunca@yahoo.com)

## 1. Giriş

Birçok canlıya ev sahipliği yapan yerküre, çeşitli kirletici unsurların tehdidi altında bulunmakta olup bu kirletici unsurların en tehlikeli sınıflarından birini ağır metaller oluşturmaktadır. Artan dünya nüfusunun ihtiyaçlarını karşılamaya yönelik gelişen sanayi sektörü yasal düzenlemenin olmaması ve yaptırımların yetersiz kalmasından faydalanarak kirletici maddeleri kontrolsüz olarak doğaya bırakılmaktadırlar. Söz konusu kirletici maddeler içerisinde yer alan ağır metaller farklı ekosistemlerde tüm canlılar için son derece önemli bir problemdir. Kayaların ve maden cevherlerinin bünyesinde doğal olarak bulunan ağır metaller toprakta, suda, sedimentte ve yaşayan organizmalarında da bulunabilmektedir (Alloway & Ayres, 1993). Su, toprak ve sedimentte bulunan metaller, çeşitli yollarla canlıların bünyesine yerleşerek birikme özelliği gösterir ve belli bir eşik değerin üstünde esansiyel olsun ya da olmasın toksik etki göstererek hasara yol açabilirler (Antón et al 2000).

Pek çok laboratuvar çalışmasının aksine doğada metaller tek tek bulunmazlar. Çoğu zaman tek bir kirletici kaynak aynı anda birden fazla metalin doğaya karışmasından sorumludur. Bu durum doğadaki pek çok canlının aslında tek bir metale değil de aynı anda birden fazla metale maruz kalmasına yol açar. Buna paralel olarak da canlılarda ağır metallerin kombine toksik etkileri görülür. Canlılarda ayrı ayrı ağır metallere maruz kaldıkları zaman görülen etki ile birden fazla ağır metale aynı anda maruz kaldıkları zaman görülen etki çoğu zaman birbirlerinden farklıdır. Bu durum kombine toksik etki olarak adlandırılır.

Metallerin bitkiler üzerinde ve sudaki karışımlarının toksik etkileşimlerini açıklamak güç olduğundan, karışım ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır (Horvat et al 2007). Bu sebeple *Lemna minor* ile yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğunu tek metal kullanılarak yapılan çalışmalar oluşturmaktadır (Basile et al 2012; Demim 2013; Megateli 2009). Ancak iki veya daha fazla metalin kullanıldığı çalışmalar da az da olsa mevcuttur (Khellaf et al 2010).

Çalışma için tercih edilen su mercimekleri dünyada yayılış alanı son derece geniş kozmopolit bir tür olmakla beraber ülkemizin de çoğu coğrafi bölgesinde; göllerde, havuzlarda, bataklıklarda, kanallarda bulunmaktadır (Üçüncü, 2011). *L. minor*, toksisite çalışmalarında sıklıkla kullanılan son derece önemli bir biyoindikatör türüdür. Farklı toksik çalışmalar metallerde (Antunes et al 2010; ), nanopartiküllerde (Üçüncü et al 2014; Oukorroum et al 2015), pestisitlerde (Megateli et al 2013; Obermeier et al 2015) sıklıkla kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan metallere biri olan Cd bükülüp şekil verilen, mavimsi beyaz renklere sahip ve nadir bulunan bir geçiş metalidir (Ercal et al 2001). Yer kabuğunda doğal olarak bulunan kadmiyum, genellikle oksijen (kadmiyum oksit), klorin (kadmiyum klorit) veya sülfür (kadmiyum sülfat) gibi elementlerle bileşik halde bulunmaktadır Anonim (2016). Kimyasal olarak çinko ve kalsiyuma benzerlik gösterir. Toksikolojik yönden problem yaratabileceği düşünülmeyen kadmiyum, sanayi sektöründeki kullanımının artması neticesinde kurşun ve cıva gibi ekotoksikolojik olarak önem kazanmıştır (Conti et al 2003). Geniş bir yelpazede yayılım gösteren kadmiyum çevresel bir kirletici olup farklı organlardaki toksisitesi ile karakterize olan bir metaldir (Gunnarson et al 2003). Endüstriyel kirlenme ile doğaya karıştıktan sonra çeşitli yollarla insan bünyesine giren kadmiyum çeşitli kanserler başta olmak üzere, boşaltım sistemi, sindirim sistemi hastalıklarına sebebiyet verebilmektedir (Benaduce et al 2006). Sigara bağımlılarının kanında içmeyenlere nazaran 4-5 kat fazla, böbreklerinde ise 2-3 kat fazla kadmiyum birikebilmektedir (Mudgal et al 2010).

Çalışmadaki bir diğer metal ise Pb'dir. Oksitlenme sonucu gümüş-mat renge sahip olan Pb, ilk işlendiğinde mavi-beyaz renge sahiptir ve yumuşak bir yapısı olup kolay dövülen yeraltı mineralidir (Doğru 2007). Yapısal özelliklerinden dolayı akülerde, boyalarda, metal içerikli borularda, benzinde ve birçok sanayi ürünüde katkı maddesi olarak bulunabilmektedir (Benaduce et al 2008). Geniş kullanım alanına sahip olan kurşun,

kullanımının artmasıyla doğaya verdiği zararı da kademeli olarak arttırmıştır. Dünya hükümetlerinin yasal çalışmaları neticesinde kurşun içerikli boyaların kullanımı sınırlandırılmıştır (Kime 1998). Kansorejendir (Alcorlo et al 2006).

Gerçekleştirilen bu çalışmanın amacı iki farklı metalin değişik dozlarda, *lemna minor* üzerindeki kombine toksik etkisini araştırmaktır.

## **2. Materyal ve Yöntem**

Bu çalışma, Ordu Üniversitesi Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

### **2.1. Kültür Şartları**

Ankara Üniversitesi bünyesindeki seralardan temin edilen *Lemna minor*, doğal ortamdan getirilen mediumda kültüre alınmıştır. Doğal ortamdan getirilen medium, daha önce yapılan çalışmalarda bitkilerin sağlıklı büyüme göstermesinden dolayı Gaga Gölü'nden temin edilmiştir. *Lemna minor* kültür şartları, OECD prosedürlerine uygun olarak hazırlanmıştır (Anonymous 2002). Çalışmada 3 yapraklı olan bitkiler seçilerek, her bir test grubunda 5 bitki kullanılmıştır.

### **2.2. Kullanılan Ekipmanlar**

Çalışmada kullanılan ekipmanların, tepkimeye girmeyen kimyasal materyalden veya camdan olmasına özen gösterilmiştir.

### **2.3. Deney Yöntemi**

Deney 3 tekrarlı olacak şekilde kontrol grubu hariç 5 farklı doz için kurulmuştur. Toksin ajan olarak kurşun nitrat  $Pb(NO_3)_2$  ve kadmiyum klorid  $CdCl_2.H_2O$  kullanılmıştır. %62,56'sı Pb olan  $Pb(NO_3)_2$  bileşiğinden 1,60 gr alınarak 1 lt saf suda çözülmüş ve 1 gr/l' lik Pb stok solüsyonu hazırlanmıştır. Aynı şekilde %55,83'ü Cd olan  $CdCl_2.H_2O$  bileşiğinden 1,79 gr alınarak 1 lt saf suda çözülmüş ve 1 gr/l' lik Cd stok solüsyonu hazırlanmıştır.

Deney süresince bitkiler 0.1, 0.5, 1, 2, 4 mg L<sup>-1</sup>Cd ve Pb konsantrasyonuna ayrı ayrı maruz bırakılmıştır. Ayrıca bu metal ve dozların kendi aralarındaki tüm kombinasyonları da antagonistik ve sinerjistik etkiyi gözlemek için çalışılmıştır.

#### **2.4. İstatistiksel Analiz**

Çalışmada 105 grup test ve 3 kontrol grubu incelenmiştir. 7 gün devam eden çalışmada, her 24 saatte bir yaprak sayıları 0.25, 0.50, 0.75 ve 1 tam yaprak olacak şekilde sayılarak not edilmiştir (Üçüncü et al 2014). Ayrıca çalışma kapsamında antagonistik ve sinerjistik etkilerin tespitinde Mann Whitney-U analizinden yararlanılmıştır (Tunca et al 2016). Analiz veri sayısının yoğun olmaması sebebiyle normal dağılıma bakılmaksızın uygulanmıştır. Tüm sonuçlar %95 lik (p<0.05) anlamlılık seviyesindedir. Testler SPSS v 21(IBM USA) ile gerçekleştirilmiştir.

### **3. Bulgular ve Tartışma**

Kurmuş olduğumuz çalışma ortamının inceleme verilerine baktığımız zaman, iki metalin *lemna minor* üzerindeki toksik etkisi karşılaştırıldığında, uygulanan tüm konsantrasyonlarda Pb' nin Cd'ye göre daha toksik olduğu gözlenmiştir. Pb toksisitesinin Cd toksisitesinden farklı olarak 0,5 mg/L konsantrasyonundan sonra artış gösterdiği gözlemlenirken Cd toksisitesi verilen dozlarda dalgalanma göstermiştir (Çizelge 1.). Uysal & Taner (2009) sucul bitki *Lemna minor*' un çözünür Pb' nin farklı laboratuvar koşullarında uzaklaştırma yeteneğinin incelenmesi için bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. *Lemna minor*, farklı Ph değerlerine ve sıcaklığa maruz bırakılmıştır. 168 saat boyunca kuru ağırlık bazında elde edilen biyomas miktarı, Pb'nin ortamındaki ve *Lemna minor* tarafından tutulan net miktarı her koşulda çalışma periyodu boyunca ölçülmüştür. Ortamda bulunan Pb konsantrasyonunun artışıyla Pb akümüülasyonunun da arttığı gözlenmiştir. Pb konsantrasyonunun artışı ile birikim miktarındaki artış yapmış olduğumuz çalışmada Pb' nin artan konsantrasyonlarda toksik etkisinin neden arttığını açıklamaktadır. Piston et al (1999) yapmış oldukları çalışmada Se' nin *Lemna minor* üzerindeki büyüme etkileri araştırılmış ve şu sonuçlara ulaşılmıştır: 50 mg/L Se' nin 1 hafta süresinde, bitkilerin renginde solma meydana getirmiştir. Se' nin düşük konsantrasyonlarında bitkilerde önemli bir değişiklik kaydedilmemiş ve bitkilerin kümelenerek bir arada yüzdüğü gözlemlenmiştir. Konsantrasyon arttıkça bitkilerde

ayrılmalar ve tek başına yüzmeler görülmüştür. Yapmış olduğumuz çalışmada, düşük konsantrasyonlarda aynı şekilde kümelenme görülürken artan konsantrasyonlarda kümelenmenin dağılıp yapraklarda solmalar olduğu tarafımızca gözlenmiştir. Prasad et al (2001) yapmış oldukları çalışmada, *Lemna trisulca L.* üzerinde Cu ve Cd' un etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucuna göre Cu' nun Cd' ye oranla 1000 kat daha düşük konsantrasyonlarda toksik etki gösterdiği gözlenmiştir.

Karışım içerisinde bulunan metaller birbirlerinin etkilerini arttırıcı, azaltıcı veya ihmal edilebilir düzeyde etki gösterebilirler (Paustenbach 2000). Bu çalışmada Cd ve Pb' nin kombine toksik etkileri incelendiğinde en düşük doz olan 0,1 mg/L'de Cd' nin antagonistik ve sinerjistik etki göstermediği buna karşın 0,5 mg/L' de iki metalinde en yüksek sinerjistik etkiyi gösterdiği gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Artan konsantrasyonlarda sinerjistik etkinin azalma eğilimi maksimum konsantrasyona yaklaştıkça artma eğilimine döndüğü görülmektedir (Çizelge 2.).

**Çizelge 1. Cd ve Pb'nin *Lemna minor* üzerindeki etkileri**

*Table 1. The effect of Cd and Pb on Lemna minor*

	<b>Test Konsantrasyonu (mg/L)</b>	<b>Yaprak Büyüme Ortalamaları</b>
<b>Cd</b>	0,1	6,08
	0,5	7,5
	1	7,25
	2	7,5
	4	7,91
<b>Pb</b>	0,1	5,41
	0,5	6
	1	5,5
	2	5
	4	4,16

**Çizelge 2. Cd ve Pb'nin *Lemna minor* üzerindeki kombine toksik etkisi**Table 2. Combine toxic effects of Cd and Pb on *Lemna minor*

Kullanılan dozlar		Deney sonucu ortalaması	Hesaplanan değerler ortalaması	Fark	İstatistiksel Anlamlılık (p)	Etki
Cd	Pb					
0,1	4	6,58±3,26	5,08±1,66	-1,5	0,121	ADD
0,1	2	4,66±2,29	6,08±1,91	1,42	1,268	ADD
0,1	1	5,5±2,89	6,68±1,94	1,18	0,827	ADD
0,1	0,5	5,25±2,86	7,29±2,21	2,04	0,513	ADD
0,1	0,1	5,58±3,16	6,57±1	0,99	0,827	ADD
0,5	4	4,5±2,18	6,24±2,04	1,74	0,05	SIN
0,5	2	3,5±1,50	7,5±3,06	4	0,046	SIN
0,5	1	3,58±1,65	8,25±3,39	4,67	0,05	SIN
0,5	0,5	3,75±1,88	9±3,69	5,25	0,05	SIN
0,5	0,1	3,75±2	8,11±3,15	4,36	0,05	SIN
1	4	4,91±2,05	6,03±2,05	1,12	0,127	ADD
1	2	4,41±1,75	7,25±2,75	2,84	0,05	SIN
1	1	4,08±1,78	7,97±3,13	3,89	0,05	SIN
1	0,5	4,76±2,33	8,7±3,22	3,94	0,05	SIN
1	0,1	4,16±2,13	7,84±2,89	3,68	0,05	SIN
2	4	5,33±1,68	6,24±2,42	0,91	0,127	ADD
2	2	3±0,58	7,5±3,51	4,5	0,05	SIN
2	1	4,66±1,89	8,25±3,19	3,59	0,127	ADD
2	0,5	5,58±2,61	9±3,20	3,42	0,127	ADD
2	0,1	5,08±2,51	8,11±2,80	3,03	0,05	SIN
4	4	4,16±0,09	6,58±3,28	2,42	0,05	SIN
4	2	4,41±1,29	7,91±3,31	3,5	0,05	SIN
4	1	5,16±2,15	8,7±3,28	3,54	0,127	ADD
4	0,5	5±2,36	9,49±3,60	4,49	0,05	SIN
4	0,1	5,75±2,40	8,55±3,08	2,8	0,05	SIN

ADD: Etkisiz, SIN: Arttırıcı yönde etki

Ghiani et al (2014) biyoindikatör olarak kullanılan *Trifolium repes L.* üzerinde Cd ve As' in kombine toksik ve genotoksik etkisini araştırmışlardır. Yapmış oldukları çalışmada iki farklı metal tarafından kirletilen toprakta, toksik etkinin bitki üzerinde daha yoğun olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Verilen dozlardan As 5 mg/L, Cd 60 mg/L - As 10 mg/L, Cd 60 mg/L - As 20 mg/L, Cd 60 mg/L konsantrasyonları kök ve sürgünlerdeki büyümeye etkileri sinerjistik olmuştur. Yapmış olduğumuz çalışma ile benzerlik gösteren bu sonuç metallerin karışım içerisinde birbirini etkilediği anlamını taşımaktadır. Üçüncü et al (2013) ise yapmış oldukları çalışmada farklı ağır metal karışımlarının *L. minor* üzerindeki büyümeye etkilerini gözlemlemiştir. Cr+Pb 20,8-02 (mg/L) konsantrasyonlu karışımın, kontrol grubundan daha yüksek büyüme oranı gösterdiği gözlenirken Cr+Pb+Cu 10,4-0,2-3 (mg/L) ve Pb+Cu 0,4-3 mg/L konsantrasyonlu karışımların kontrol grubu ile eşdeğer büyüme oranı gösterdiği gözlemlenmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki karışımların büyümeye etkisinin negatif yönlü olabileceği gibi pozitif yönlüde olacağı sonucu bizim kurmuş olduğumuz çalışmada da gözlemlediğimiz bir sonuç olmuştur. Dirilgen (2011) yapmış olduğu çalışmada Pb ve Hg etkileşiminin *L. minor* üzerindeki büyümeye etkisini istatistiki olarak anlamlı bulmuştur. Yapmış olduğumuz çalışmada Cd ve Pb etkileşiminin büyümeye etkisi değişkenlik göstermesi ile paralellik göstermektedir. Megateli et al (2009) yapmış oldukları çalışmada, *L. gibba'* da Cd, Cu, Zn toksisitesi ve akümülyasyonunu incelemişlerdir. Cd, Cu ve Zn için artan dozlarda bitkinin büyümesinde yavaşlama gözlenen çalışmada toksisite etkisi en fazla Cd' de görülmüş olup Cu ve Zn olarak takip etmiştir. Çalışmamızda toksik etki Pb>Cd olup Pb' nin artan dozları *L. minor* büyümesinde negatif etkiyi doğrusal olarak göstermekte iken Cd' nin artan dozlarında büyüme dalgalanma göstererek azalış göstermiştir.

Hou et al (2007) yapmış oldukları fitoremediasyon çalışmasında Cd ve Cu' nun *L. minor'* de toksik etkilerini incelemişlerdir. Yapmış oldukları çalışma sonucunda Cd, Cu' dan daha toksik bulunmuştur.

Naumann et al (2007) yapmış oldukları çalışmada *L. minor'* de on farklı ağır metalin büyümeye etkisini incelemişlerdir. Ağır metallerin bitkiye göstermiş olduğu toksik etkileri  $Ag^+ > Cd^{2+} > Hg^{2+} > TI^+ > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+} > Cr(VI) > As(III) > As(V)$  şeklinde sıralamışlardır.

Uysal et al (2007) yapmış oldukları çalışmada 0,005-20,5 ppm dozundaki Cd iyonunun *L. minor'* deki büyüme hızına olan etkisini çalışmışlardır. Yaptıkları çalışma neticesinde



Cd iyonunun *L. minor* için toksik etki gösterdiği ve büyüme hızını düşürdüğü sonucuna ulaşılmıştır. Yapmış olduğumuz çalışma bulunan sonuçları destekler niteliktedir.

#### 4. Sonuç

Çalışmada Pb ve Cd' un *Lemna minor* üzerindeki kombine toksik etkisi incelenmiş olup Pb' nin Cd' ye göre uygulanan deney şartları altında *Lemna minor* için daha toksik olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bununla beraber Cd artan dozlarda toksik etkisini dalgalanma şeklinde gösterirken Pb' de hormesis etkisi gözlenmiş ve ardından artan dozlara paralel artan bir büyüme inhibisyonu saptanmıştır. Kombine toksik etkilerde de her iki metal arasında da farklılıklar gözlendiği gibi benzer taraflarda saptanmıştır. Cd düşük dozlarda additif etki gösterirken artan dozlarla beraber etki sinerjistik olarak kendini gösterir. Pb de ise her doz için sinerjistik etki gözlenmektedir. Ancak gruplarda oluşan toplam sinerjistik etki sayısının gözlenen trendi, paralel dalgalanmalar göstererek Cd' de ve Pb için benzerlik ortaya koymaktadır. Ayrıca gerçekleştirilen çalışma kapsamında, bu iki metalin *Lemna minor* üzerinde antagonistik etkisi gözlenmemiştir.

#### Teşekkür

Bu çalışma Ordu Üniversitesi BAP birimi TF-1525 no'lu yüksek lisans tez projesi kapsamında desteklenmiştir.

#### Kaynaklar:

Alcorlo P, Otero M, Crehuet M, Baltanás A & Montes C (2006). The use of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*, Girard) as indicator of the bioavailability of heavy metals in environmental monitoring in the River Guadiamar (SW, Spain). *Science of the Total Environment*, **366**: 380–390.

Alloway B J & Ayres D C (1993). *Chemical principles of Environmental Pollution*. Blackie Academic, London ; New York : Blackie Academic & Professional 140-149.

Anonymous (2002). Guidelines for the testing of chemicals. *Lemna* sp. Growth Inhibition Test, Draft guideline 221.

Antunes P M C, Scornaienchi M L & Roshon H D (2012). Copper toxicity to *Lemna minor* modelled using humic acid as a surrogate for the plant root. *Chemosphere* **88**: 389-394

Antón A, Serrano T, Angulo E, Ferrero G & Rallo A (2000). The Use of Two Species of Crayfish as Environmental Quality Sentinels: The Relationship Between

Heavy Metal Content, Cell and Tissue Biomarkers and Physicochemical Characteristics of the Environment. *The Science of the Total Environment*. **247**:239-251.

Basile A, Sorbo S, Conte B, Cobianchi R C, Trinchella F, Capasso C & Carginale V (2012). Toxicity, accumulation, and removal of heavy metals by three aquatic macrophytes. *International Journal of Phytoremediation* **14**: 374-387

Benaduce A P S, Kochhann D, Flores E M M, Dressler V L & Baldisserotto B (2008). *Toxicity of Cadmium for Silver Catfish Rhamdia quelen (Heptapteridae) Embryos and Larvae at Different Alkalinities*, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **54**:274–282.

Conti E M & Cecchetti E M (2003). A biomonitoring study: Trace metals in algae and mollusks from Tyrrhenian coastal areas. *Environmental Research* **93** 99-112.

Demim S, Drouiche N, Aouabed A, Benayad T, Dendene-Badache O & Semsari S (2013). Cadmium and nickel: Assessment of the physiological effects and heavy metal removal using a response surface approach by *L. gibba*. *Ecological Engineering* **61**: 426-435

Dirilgen N (2011). Mercury and lead: assessing the toxic effects on growth and metal accumulation by *Lemna minor*. *Ecotoxicological and environmental Safety* **74**:48-54.

Doğru M G (2007). Ağır Metal ve Adrenomedullin Uygulamasının Bazı Sıçan Dokularında Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya,

Ercal N, Gurer-Orhan H & Aykin-Burns N(2001). Toxic metals and oxidative stress Part I:Mechanisms involved in metal induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. **1**:529-539.

Ghiani A, Fumagalli P, Nguyen Van T, Gentili R & Citterio S (2014). "The combined toxic and genotoxic effects of Cd and As to plant bioindicator *Trifolium repens* L", *Plos One*, **9**:e99239

Horvat T, Vidakovic-Cifrek Z, Orescanin V, Tkalec M & Pevalek-Kozlina B (2007). Toxicity Assessment of Heavy Metal Mixtures by *Lemna minor*. *Science of The Total Environment* **384**:229-238.

Hou W, Chen X, Song G, Wang Q & Chang C C (2007). Effects of Copper and Cadmium on Heavy Metal Pollut Waterbody Restoration by Duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiology and Biochemistry* **45**:62-69

Khellaf N, Zerdaoui M, Faure O & Leclerc J C (2010). Tolerance to Heavy Metals in the Duckweed, *Lemna minor*. *Ecotoxicology*. **19**:1363–1368.

Megateli S, Semsari S & Couderchet M (2009). Toxicity and removal of heavy metals cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*. *Ecotoxicological and Environmental Safety* **72**:1774-1780

Megateli S, Dosnon-Olette R, Trotel-Aziz P, Geffard A, Semsari S & Couderchet M (2013). Simultaneous effects of two fungicides (copper and dimethomorph) on their phytoremediation using *Lemna minor*. *Ecotoxicology* **22**: 683-692

Mudgal V, Madaan N, Mudgal A, Singh R B & Mishra S (2010). Effect of Toxic Metals on Human Health. *The Open Nutraceuticals Journal* **3**: 94-99.

Naumann B, Eberius M & Appenroth K J (2007) Growth rate based dose–response relationships and EC-values of ten heavy metals using the duckweed growth inhibition test (ISO 20079) with *Lemna minor* L. clone St. *Journal of Plant Physiology* **164**:1656–1664

Obermeier M, Schröder C A, Helmreich B & Schröder P (2015). The enzymatic and antioxidative stress response of *Lemna minor* to copper and a chloroacetamide herbicide. *Environmental Science and Pollution Research* **22**:18495-19507

Oukarroum A, Barhoumi L, Pirastru L, Dewez D (2013). Silver nanoparticle toxicity Effect on growth and cellular viability of the aquatic plant *Lemna gibba*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **32**: 902-907

Paustenbach D J (2000). The Practice of Exposure Assessment: A State-of-the-art Review. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part b* **3**:179-291

Piston G, Allinson G, Stagnitti F & Colville S (1999). Effect of Selenium on the Growth of *Lemna minor*. *Toxicological & Environmental Chemistry* **71**: 271 – 277.

Prasad M N V, Malec P, Waloszek A, Bojko M & Strzałka K (2001). Physiological Responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to Cadmium and Copper Bioaccumulation. *Plant Science* **161**:881-889

Tunca E Aydın M & Şahin Ü (2016) Interactions and accumulation differences of metal(loid)s in three sea cucumber species collected from the Northern Mediterranean Sea. *Environmental Science and Pollution Research* **23**:21020–21031

27-Uysal Y, Taner F (2007) The Effect of Cadmium Ions on the Growth Rate of the Freshwater Macrophyte Duckweed *Lemna minor*. *Ekoloji* 16 (62): 9-15.

Uysal Y & Taner F (2009) Effect of Ph, Temperature, and Lead Concentration on The Bioremoval of Lead From Water Using *Lemna Minor*. *International Journal of Phytoremediation* (11): 591–608

Üçüncü E (2011) Su mercimeği kullanarak farklı konsantrasyonlardaki ağır metal karışımlarının laboratuvar ortamında biyoremediasyonu. A.Ü. Fen Bilimleri Ens. Yüksek Lisans Tezi. Ankara.

Üçüncü E, Tunca E, Fikirdeşici S, Ozkan A D & Altındağ A (2013). Phytoremediation of Cu, Cr and Pb Mixtures by *Lemna minor*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **91**:600-604

Üçüncü E, Özkan A D, Kurşungöz C, Ülger Z E, Ölmez T T, Tekinay T, Ortaç B & Tunca E (2014). Effects of laser ablated silver nanoparticles on *Lemna minor*. *Chemosphere* 108:251-257

Varga M, Horvatić J & Čelić A (2013). Short term exposure of *Lemna minor* and *Lemna gibba* to mercury, cadmium and chromium. *Central European Journal of Biology* **8**:1083-1093