



YÜKSEK DOZLARDA CD VE CU'NUN *LEMNA MINOR* ÜZERİNDEKİ KOMBİNE TOKSİK ETKİLERİNİN MODELLENMESİ

Dilek USTAOĞLU^{1,a}, Kader TERZİOĞLU^{1,b}, Esra ÜÇÜNCÜ TUNCA^{1,c}, Hasan TÜRE^{1,d},
Ebru YILMAZ^{1,e}, Evren TUNCA^{1,f,*}

¹ Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi
^adilekustaoglu@gmail.com, ORCID:0000-0002-6947-3741
^bkaderterzioglu@hotmail.com
^cesra.ucuncu@gmail.com, ORCID: 0000-0002-9024-8477
^dhasanture@odu.edu.tr, ORCID: 0000-0003-4883-0751
^eebruyilmaz73@gmail.com, ORCID: 0000-0002-4090-558X
^fevren_tunca@yahoo.com, ORCID: 0000-0002-2842-2411

ÖZET

Gerçekleştirilen bu çalışma ile kadmiyum (Cd) ve bakırın (Cu), *Lemna minor* üzerinde göstermiş olduğu toksik etkiler belirlenmeye çalışılmıştır. Ağır metal seçimi, kirlenmiş ortamlarda sıklıkla ayrı ayrı ve beraber olarak görülen, toksik etkisi yüksek, metabolik açıdan esansiyel ve esansiyel olmama durumuna göre seçilmiştir. *Lemna minor* ise toksisite çalışmalarında sık kullanılan, doğada oldukça yaygın olarak bulunan, çevre şartlarına karşı toleransı yüksek biyoindikatör özelliği olan model bir organizmadır. Çalışma, özellikle konsantrasyonların yüksek olduğu ortamları simüle edecek şekilde tasarlanmıştır. Test grupları sadece Cd, sadece Cu ve Cd+Cu içerecek şekilde oluşturulmuş olup, bu metallerin test organizması üzerinde kombine toksik etkileri de belirlenmeye çalışılmıştır. 7 gün sürdürülen deney, Cd ve Cu'nun 4 farklı konsantrasyonu (0.2, 0.8, 1.6 ve 3.2 mg L⁻¹) ile yürütülmüştür. Modellemeler için regresyon tahmin analizi kullanılmış olup; lineer, kübik ve kuadratik olmak üzere üç farklı denklem kullanılmıştır. Tüm test gruplarının modelleri incelendiğinde, genel bir inhibisyon eğiliminden bahsetmek (Cd' nin 0.2 ve 1.6 mg L'lik konsantrasyonları hariç) mümkündür. Oluşturulan modellerin R² değerleri incelendiğinde;

*Sorumlu Yazar (Corresponding Author)

Atrf (Citation): Ustaoğlu, D., Terzioğlu, K., Üçüncü Tunca, E., Türe, H., Yılmaz, E., Tunca, E., "Yüksek Dozlarda Cd Ve Cu'nun Lemna Minor Üzerindeki Kombine Toksik Etkilerinin Modellenmesi", UMÜFED Uluslararası Batı Karadeniz Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi, 3(2): 18-32, 2021.

Geliş (Received): 13/04/2021

Kabul (Accepted): 12/10/2021

Yayın (Published): 31/12/2021

kübik modellerin, lineer ve kuadratik modellere göre daha iyi sonuçlar verdiği ve genel olarak gerçek inhibisyon değerlerine en yakın modelleri oluşturduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: kontaminant, regresyon, makrofit

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the toxic effects of cadmium (Cd) and copper (Cu) on *Lemna minor*. The heavy metal selection was chosen according to the toxic effect, and metabolically essential and non-essential status. These heavy metals are also often seen separately and together in polluted environments. In addition, *Lemna minor* is a model organism that is frequently used in toxicity studies, is widely found in nature, and has a high tolerance to environmental conditions. The study was specifically designed to simulate high environments heavy metal concentrations. Test groups were formed to contain only Cd, only Cu and Cd + Cu, and the combined toxic effects of these metals on the test organism were also tried to be determined. The experiment, which lasted for 7 days, was carried out with 4 different concentrations of Cd and Cu (0.2, 0.8, 1.6 and 3.2 mg L⁻¹). Regression estimation analysis was used for modeling; three different equations were used as linear, cubic and quadratic. When the models of all test groups were examined, it is possible to say about a general inhibition trend (except for Cd concentrations of 0.2 and 1.6 mg L⁻¹). When the R² values of the created models were examined; It has been determined that cubic models give better results than linear and quadratic models and generally form the models closest to the actual inhibition values

Keywords: contaminant, regression, macrophyte

1. GİRİŞ

Sanayinin gelişmesi ve nüfusun hızlı artışı pek çok çevresel degradasyona ve kirliliğe sebebiyet vermektedir [1,2]. Özellikle madencilik, akü imalatı, metal kaplama gibi pek çok endüstriden, çevreye yüksek oranlarda ağır metal iyonu salınmakta [3] ve bu kirleticilerin çevredeki konsantrasyonları hızlı bir şekilde artmaktadır. Ayrıca, gübre uygulaması, fungusit gibi pek çok tarımsal faaliyet sonucu da sucul sistemlerde ve toprakta ağır metal kirliliği oluşabilmektedir [4].

Ekosistemlerde konsantrasyonları hızla artan ağır metaller, potansiyel toksik etkileri [2], parçalanamıyor olmaları, varlıklarını uzun süre devam ettirebilmeleri [1], canlılar tarafından biriktirilebiliyor olmaları gibi [5] sebeplerden ötürü endişeye sebebiyet vermekte ve bu konuyla ilgili yapılan çalışmaların önemini artırmaktadır. Metaller ve metalloidler canlılar üzerinde akut ve kronik etkiler oluşturabilen kirleticilerdir [6]. Düşük dozlarda bile yüksek oranda toksik etki oluşturabilen ve önemli bir çevresel kirletici olan kadmiyum (Cd); bitkilerde büyüme inhibisyonu, klorozis ve ölüme sebep olabilmektedir [4]. Cd, Hg ve Cr gibi ağır metallerin, canlı hücrelerinin yapısını ve şeklini direkt olarak etkilediği de bilinmektedir [7]. Ayrıca, Cd'un insanlarda böbrek ve akciğer rahatsızlıkları, hepatoksisite ve karsinogenisiteye sebep olduğu tespit edilmiştir [8].

Esansiyel bir metal olan Cu, insanlarda pek çok akut ve kronik rahatsızlıklara sebep olabilmektedir [9]. Cu, bitkiler için yapısal ve enzimatik fonksiyonları yerine getiren bir mikronutrient olmasına rağmen, yüksek konsantrasyonlarda toksik etkiler gösterebilmektedir [10]. Ekosistemlerdeki bu kirleticilerin bu sebeple, canlılar üzerindeki pozitif ya da negatif etkilerinin belirlenmeleri ve değerlendirilmeleri büyük önem taşımaktadır.

Literatürde, ağır metallerin farklı organizmalar üzerindeki toksik etkilerinin belirlendiği çok sayıda çalışma mevcuttur [8,11-14]. Fakat, metallerin herhangi bir canlı üzerindeki kombine etkilerinin belirlendiği ve kıyaslandığı çalışmalar yetersiz sayıda olup, geliştirilmeye gerek duymaktadır. Metaller doğada çoğu zaman tekli halde değil, pek çok metal ile birlikte bulunurlar [15]. Bu sebeple, metallerin kombine etkilerinin değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

Literatüre bakıldığında bu çalışmada olduğu gibi farklı test organizmaları üzerinde birden fazla ağır metalin tek tek ve beraber olacak şekilde toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalara rastlanılmaktadır. Pb ve Cd'nin bitki türleri olan *Brassica oleracea* ve *Trifolium repens* üzerinde ayrı ayrı ve beraber toksik etkileri [16] Ni ve Cd'nin *E.coli* üzerinde ayrı ayrı ve beraber toksik etkileri [17], Se ve Hg'nin bir bitki türü olan *Suaeda salsa* üzerindeki etkileri [18]. Bunlarla beraber 2 den daha fazla metalin yer aldığı çalışmalara da rastlanılmaktadır. As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, ve Zn'nin ayrı ayrı ve beraber olarak bir rotifer türü olan *Proales similis* üzerindeki etkisi gibi [19]. Ayrıca farklı kirleticilerin bir arada yer aldığı çalışmalarda görülmektedir. Mikroplastikler ve metaller [20] ve ya ağır metaller ve pestisitler gibi [21].

Ağır metal toksisite çalışmalarında, bitkiler [10, 22-23] deniz kestanesi [24], makrofit [25, 26] plankton [23, 27] gibi çok farklı organizmalar kullanılmaktadır. Makrofitler, oksijen üretimi ve besin döngüsündeki rolleri, bazı akuatik canlılar için sığınak olmaları gibi pek çok yönden önem taşımaktadır [28]. Sucul ekosistemler için oldukça önem taşıyan makrofitler ağır metal toksisite çalışmalarında sıklıkla tercih edilmektedir. Bunun pek çok sebebi olmasına karşın; yaygın olarak bulunmaları [28], hasatlarının kolay olması, hızlı büyüme ve çoğalmaları [29] en önemli tercih sebeplerindedir. Ayrıca; farklı koşul ve farklı türlerdeki atık sulara uyum sağlamada iyi olmaları, ağır metallerin biriktirilmesinde verimli olmaları sebebiyle de ideal bir test organizması olarak kabul edilmektedir [30].

Yapılan bu çalışmada toksik olduğu bilinen Cd ve Cu'nun sucul bir makrofit olan *L.minor* üzerindeki ayrı ayrı ve kombine toksik etkilerinin belirlenmesi ve inhibisyon modellemelerinin oluşturulması hedeflenmiştir. Modellemeler için regresyon analizinin kullanıldığı çalışmada, inhibisyon oranlarının lineer, kübik ve kuadratik olmak üzere üç farklı denklem kullanılarak modelleri oluşturulmuş ve kıyaslanmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1 Deneyin Kuruluşu

Çalışma, Ordu Üniversitesi Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma için tercih edilen test organizması *L. minor*, Ankara Üniversitesi seralarından temin edilmiştir. Ortam değişikliği kaynaklı stresin, büyümede inhibisyon yaratmaması için, Ankara Üniversitesi'nden getirilen lemnalar deneyin gerçekleştirileceği ortam şartlarına alıştırmak üzere 3 ay süresince kültüre alınmıştır.

Deney 100 mL 'lik test kaplarında gerçekleştirilmiş, her grup için 3'er yapraklı 10 bitki (toplam 30 yaprak) olacak şekilde test grupları oluşturulmuştur [31]. Testler; doğal aydınlatma ve sıcaklık şartlarında gerçekleştirilmiştir. 7 gün boyunca sürdürülen deneyde, *L.minor*' lerin temin edildiği sera suyu kullanılmıştır.

Deneyin başında seçilen toksik maddeler bir kez verilmiş ve deneyin sonuna kadar yaprak sayıları her 24 saatte bir sayılarak gözlenmiştir. Yaprak sayımları; tam yaprak 1 baz alınmak üzere; 0.25, 0.5, 0.75 ve 1 değerleri verilerek gerçekleştirilmiştir. Deneyler 3 tekrarlı olacak şekilde yürütülmüştür.

2.2 Kullanılan kimyasallar

Çalışma kapsamında kullanılan toksik maddelerden Cu, bakır sülfat pentahidratın ($\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), Cd ise kadmiyum klorürün ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) suda çözülmesi ile elde edilmiştir. Bileşiklerden ayrı ayrı, içerisinde 1 g Cd ve 1 g Pb olacak şekilde 1'er L'lik stok solüsyon hazırlanmış ve test grupları bu stok solüsyonun seyreltilerek verilmesi suretiyle oluşturulmuştur. Çalışma kapsamında her iki metal için 4 farklı doz (0.2 mg L^{-1} , 0.8 mg L^{-1} , 1.6 mg L^{-1} ve 3.2 mg L^{-1}) kullanılmıştır. Bu dozlar ile sadece Cu, sadece Cd ve Cu+Cd'nin bütün kombinasyonları halinde test grupları oluşturulmuştur. Kombinasyonlar Tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1. Çalışma kapsamında test gruplarına uygulanan dozlar

Cu (mg/L)	Pb (mg/L)
X	X
0.2	X
0.8	X
1.6	X
3.2	X
X	0.2
X	0.8
X	1.6
X	3.2
	0.2
0.2	0.8
	1.6
	3.2
	0.2
0.8	0.8
	1.6
	3.2
	0.2
1.6	0.8
	1.6
	3.2
	0.2
3.2	0.8
	1.6
	3.2

X: kontrol

2.3 İstatistiksel Yöntemler

Çalışma kapsamında oluşturulan modeller SPSS v21 ile verilere regresyon analizi uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Eğri tahmini (curve estimation) yöntemi kullanılmıştır [28]. Regresyon analizi yaygın olarak kullanılan bir tahmin analiz yöntemidir [31]. Bu çalışmada bu analiz yöntemi; *L.minor*'un büyüme inhibisyonun, seçilen toksik madde konsantrasyonlarına bağlı olarak modellenmesi için kullanılmıştır.

Tüm gruplara hem lineer, hem kübik, hem de kuadratik yöntem uygulanmıştır. İnhibisyon değerleri aşağıdaki formülün yardımıyla hesaplanmıştır [31].

$$\%I_b = \frac{(b_c - b_T)}{b_c} \times 100$$

(1)

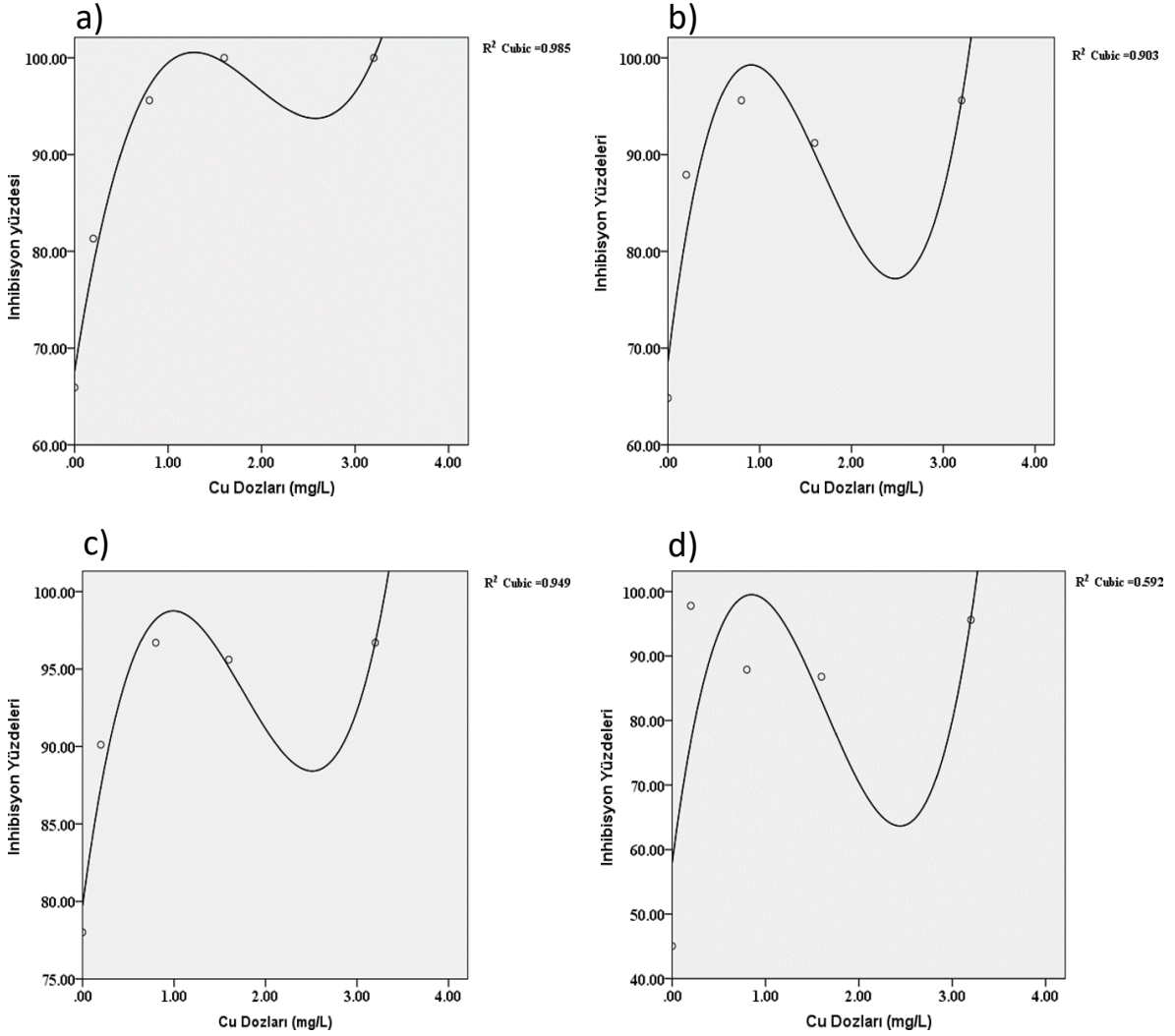
% I_b: İnhibisyon yüzdesi

b_c: Kontrol grubu yaprak sayısı artış ortalaması

b_T: Test grubu yaprak sayısı artış ortalaması

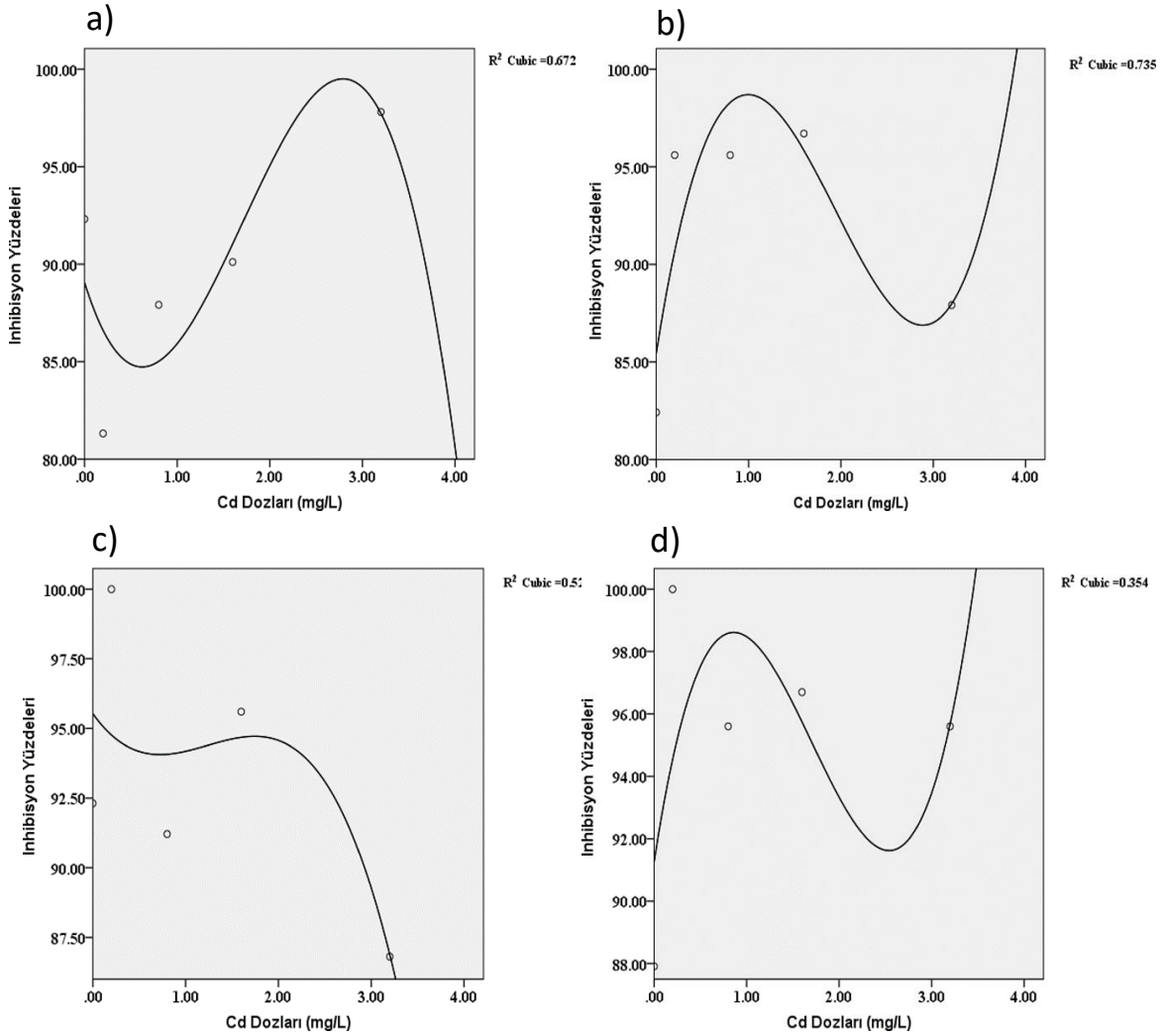
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışma kapsamında büyüme inhibisyon modelleri; lineer, kübik ve kuadratik olacak şekilde 3 farklı denklem üzerinden modellenmiştir. Elde edilen sonuçlar göstermektedir ki R² değerlerine göre, tüm modellerde en yüksek doğruluk oranları kübik modellere aittir. *L.minor* üzerinde gerçekleştirilen ve toksisitenin modellendiği çalışmalarda 3. dereceden denklem ile oluşturulan kübik modelin literatürde de kullanıldığı görülmektedir [32]. Gerçekleştirilen bu çalışmada özellikle sabit Cd konsantrasyonunda değişen Cu dozlarına göre inhibisyon modellemelerinde kübik modelin yüksek doğruluk oranları ile tahmin modelleri oluşturduğu görülmektedir (Şekil 1). 0.2 mg L⁻¹, 0.8 mg L⁻¹ ve 1.6 mg L⁻¹lik sabit Cu konsantrasyonlarında R² değerleri sırasıyla 0.985, 0.903, 0.949 olarak bulunmuştur. 3.2 mg L⁻¹lik Cu konsantrasyonunda ise yine en başarılı model kübik olmasına karşın, R² değeri nispeten daha düşük olarak bulunmuş, modelin güvenilirliği göreceli olarak daha az olacak şekilde saptanmıştır.



Şekil 1. a) 0.2, b) 0.8, c) 1.6, d) 3.2 mg/L sabit Cd konsantrasyonunda değişen Cu dozlarına göre inhibisyon modellenmesi

Sabit Cu konsantrasyonunda değişen Cd dozlarına göre inhibisyon modelleri ise gerek R² değerleri olarak, gerekse oluşturulan modellerin biçimleri olarak, sabit Cd konsantrasyonu modellerine göre daha az güvenilirlik göstermektedir (Şekil 2).



Şekil 2. a) 0.2, b) 0.8, c) 1.6, d) 3.2 mg/L sabit Cu konsantrasyonunda değişen Cd dozlarına göre inhibisyon modellemesi

Sabit Cu konsantrasyonunda modellerin R^2 değerleri 0.2 mg L^{-1} için 0.672 (kübik) ve 0.587 (kuadratik), 0.8 mg L^{-1} için 0.735, 1.6 mg L^{-1} için 0.520 ve 3.2 mg L^{-1} için 0.354 olarak tespit edilmiştir. 0.2 mg L^{-1} ve 1.6 mg L^{-1} lik sabit Cd konsantrasyonu için en yüksek R^2 değeri kübik modellerde olması karşın modelin şekli gerçekleştirilen deney açısından problem teşkil edebilir. Modelin şekline göre artan konsantrasyon büyümedeki inhibisyonu azaltacaktır. Ancak gerçekte böyle bir durum söz konusu olamaz. Artan konsantrasyon büyümedeki inhibisyonda zaman zaman azalmalar görülecek şekilde dalgalanmalar oluştursa da [33] nihai olarak artan konsantrasyon ile inhibisyonda artış beklenilmektedir [34, 35]. 0.2 mg L^{-1} konsantrasyonda bu durum kuadratik modelin eklenmesiyle aşılmıştır. Ancak 1.6 mg L^{-1}

konsantrasyonda kuadratik modelde de aynı sıkıntı oluşmaktadır. Bu konsantrasyonda bu problemten kurtulmak için yapılması gereken deney sırasında daha yüksek konsantrasyonların kullanılmasıdır. Kullanılan konsantrasyon arttıkça büyümedeki inhibisyon da artacak ve bu durum modelin düzelmesi ile sonuçlanacaktır.

Sabit Cd konsantrasyonunda değişen Cu dozlarına göre inhibisyon modellemeleri incelendiğinde 0.2 mg L^{-1} sabit Cd konsantrasyonunda, inhibisyonun 0.8 mg L^{-1} Cu konsantrasyonuna kadar ani bir yükseliş yaptığı, daha sonra inhibisyonun çalışılan maksimum doz olan 3.2 mg L^{-1} 'ye kadar yükseliş eğiliminde olduğu ancak inhibisyondaki artış hızının azaldığı görülmektedir. Bu durum diğer sabit Cd konsantrasyonlarına göre değişkenlik göstermektedir. Diğer sabit Cd modellerinde 1.6 mg L^{-1} 'lik Cu konsantrasyonunda tüm modellerde inhibisyonda 0.8 mg L^{-1} 'lik Cu konsantrasyonuna göre göreceli bir azalma ve 3.2 mg L^{-1} Cu konsantrasyonunda tekrar yükselişe geçen bir inhibisyon eğilimi vardır.

Sabit Cu konsantrasyonunda değişen Cd dozlarına göre inhibisyon modellemeleri incelendiğinde ise genel bir eğilimden bahsetmek oldukça güçtür. Ancak burada dikkat çekici olan nokta 0.8 mg L^{-1} , 1.6 mg L^{-1} ve 3.2 mg L^{-1} 'lik sabit Cu konsantrasyonunda maksimum doz olan 3.2 mg L^{-1} Cd testinde inhibisyonda görülen göreceli düşüştür. Bu düşüş artan dozun etkisiyle mutlaka eğilimini artış yönünde çevirecektir. Ancak deneyde kullanılan doz aralığı bu artışı görmeyi engellemektedir.

Tüm testlere bakıldığında, modellemelerde genel bir eğilimden bahsetmek mümkündür. Ortak olan bu eğilime, sabit Cu test gruplarında 0.2 mg L^{-1} ve 1.6 mg L^{-1} 'lik test grupları uymamaktadır. Bu eğilime göre; değişken olan metalin 1 mg L^{-1} 'lik konsantrasyonuna kadar inhibisyonda ani bir zıplama olmakla birlikte, daha sonra bu sert yükseliş yerini 2 mg L^{-1} ile 3 mg L^{-1} arasına kadar düşüşe bırakmaktadır. Bu düşüş, büyümede inhibisyonun olmadığı anlamına gelmemekte sadece büyümeyi inhibe etme miktarında bir azalış görülmektedir. Daha sonra 2 mg L^{-1} ile 3 mg L^{-1} lik konsantrasyon aralığında düşüş dip yapmakta ve tekrar yükselişe geçmektedir. Çalışma aralığının maksimum konsantrasyonu olan 3.2 mg L^{-1} 'lik konsantrasyonda da yükseliş devam etmiştir.

Literatür incelendiğinde değişen konsantrasyonla beraber bu çalışmada olduğu gibi büyümede, dolayısıyla büyüme inhibisyonunda, dalgalanmalar olduğu görülmektedir [36]. Hatta düşük dozlarda bu dalgalanmalar inhibisyonun sıfır noktasının ötesine geçerek büyümeyi stimüle bile edebilmektedir [37-38]. Bununla beraber hem büyümeyi hem büyüme inhibisyonunu ve hatta metalin canlıda birikimini gösteren farklı modellere de literatürde

rastlanılır DEB ve TD modelin birleşimi olan DEBtox model [39], kinetic modeller; örneğin Langmuir izotermi [40], biotik ligand modelleri [41] gibi. Ayrıca yeni model denemelerine de literatürde rastlanılmaktadır [42]. Ancak bu çalışmada gerçekleştirilen lineer, kübik ve kuadratik modellerin karşılaştırılarak tahmin modelinin ortaya çıkartılması ve bu modellerin mevcut toksisiteyi açıklamak için ayrı ayrı sınanması bu çalışmayı literatürden ayırmış ve literatürde kendine yer edinmesini sağlamıştır.

Çalışma kapsamında lineer, kübik ve kuadratik modellerin denklemleri de oluşturulmuştur. Ancak sabit Cu konsantrasyonunda Cd'nin 0.2 mg L⁻¹ konsantrasyonunun kullanıldığı test grubu hariç, diğer tüm test gruplarında kübik modeller en yüksek R² değerini vermiş ve gerçek inhibisyon değerlerine en çok benzeyen şekli oluşturmuşlardır. Bu modellerin şekilleri çalışma kapsamında oluşturulmuş olmasına karşın, bu makalede bu şekillere yer verilmemiştir. Ancak Tablo 2'de denklemleri ve R² değerleri görülebilmektedir.

Tablo 2. Tahmin modellerinin denklemleri ve güvenilirlikleri

Sabit olan metal	Model	y=İnhibisyon yüzdesi (max.100) x= Cu dozu (mg/L)	R ²
0.2 mg/L Cd	Lineer	y= 78.43+8.74x	0.589
	Kübik	y= 67.62+61.78-36.16x ² +6.26x ³	0.985
	Kuadratik	y= 70.84+32.23x+-7.29x ²	0.919
0.8 mg/L Cd	Lineer	y= 79.97+6.09x	0.381
	Kübik	y= 68.61+77.05x-58.06x ² +11.45x ³	0.903
	Kuadratik	y= 74.51+23x-5.25x ²	0.609
1.6 mg/L Cd	Lineer	y= 86.7+4.07x	0.440
	Kübik	y= 79.72+44.16x-31.03x ² +5.9x ³	0.949
	Kuadratik	y= 82.76+16.28x-3.79x ²	0.747
3.2 mg/L Cd	Lineer	y= 73.11+8.21x	0.245
	Kübik	y= 58+1.11E2x-87.79x ² +17.79x ³	0.592
	Kuadratik	y= 67.16+26.62x-5.72x ²	0.341
y=İnhibisyon yüzdesi (max.100) x= Cd dozu (mg/L)			
0.2 mg/L Cu	Lineer	y= 86.05+3.31x	0.508
	Kübik	y= 89.05+-15.04x+14.81x ² -2.89x ³	0.672
	Kuadratik	y= 87.56-1.38x+1.46x ²	0.587
0.8 mg/L Cu	Lineer	X	
	Kübik	y= 85.45+30.09x-20.34x ² +3.5x ³	0.735
	Kuadratik	y= 87.25+13.58x-4.21x ²	0.619
1.6 mg/L Cu	Lineer	y= 96.07-2.48x	0.426
	Kübik	y= 95.53-4.7x+4.58x ² -1.24x ³	0.520
	Kuadratik	y= 94.89+1.15x-1.13x ²	0.497
3.2 mg/L Cu	Lineer	X	
	Kübik	y= 91.27+19.26x-14.99x ² +2.94x ³	0.354
	Kuadratik	X	

4. SONUÇ ve ÖNERİLER

Pek çok endüstriyel alanda kullanılan ve çevredeki konsantrasyonları hızla artan ağır metallerin, ekosistemler ve canlılar üzerindeki toksik etkilerinin belirlenmesi oldukça önem taşımaktadır. Yürütülen bu çalışmada, iki farklı kirleticinin (Cu ve Cd), *L.minor* üzerindeki kombine toksik etkilerinin belirlenmesi ve büyümede görülen inhibisyon oranlarının modellenmesi amaçlanmıştır. Üç farklı denklem kullanılarak yapılan regresyon analizi sonucunda, R^2 değerlerine göre, kübik modellerin lineer ve kuadratik modellere göre daha yüksek doğruluk oranlarına sahip olduğu tespit edilmiştir. Tüm modeller incelendiğinde (sabit Cu konsantrasyonunda değişen Cd grafiklerinden 0.2 ve 1.6 mg L'lik konsantrasyona sahip olanlar hariç) genel bir inhibisyon eğiliminin olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, tüm test grupları için (sabit Cu konsantrasyonunda Cd'nin 0.2 mg L⁻¹ konsantrasyonunun kullanıldığı test grubu hariç), en yüksek R^2 değerlerine ulaşılan kübik modellerin gerçek inhibisyon değerlerine en yakın modelleri oluşturduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Balık İ, Tunca E (2015) A Review of Sediment Contamination Assessment Methods. Journal of Maritime and Marine Sciences, 1, 32-42.
- [2] Bokhari SH, Ahmad I, Mahmood-Ul-Hassan M, Mohammad A (2016) Phytoremediation potential of Lemna minor L. for heavy metals. Int. J. Phyto. ,18, 25-32.
- [3] Zhou Y, Wang X, Zhang M, Jin Q, Gao B, Ma T (2014) Removal of Pb(II) and malachite green from aqueous solution by modified cellulose. Cellulose, 21, 2797-2809.
- [4] Pietrini F, Bianconi D, Massacci A, Iannelli MA (2016) Combined effects of elevated CO₂ and Cd-contaminated water on growth, photosynthetic response, Cd accumulation and thiolic components status in Lemna minor L. J. Hazard. Mater., 309, 77-86.
- [5] Mourato MP, Moreira IN, Leitão I, Pinto FR, Sales JR, Martins LL (2015) Effect of heavy metals in plants of the genus Brassica. International Journal of Molecular Sciences, 16, 17975-17998.

- [6] Ucuncu E, Tunca E, Fikirdesici S, Ozkan AD, Altindag A (2013) Phytoremediation of Cu, Cr and Pb Mixtures by Lemna minor. Bull Environ Contam Toxicol, 91, 600-604.
- [7] Varga M, Horvatić J, Čelić A (2013) Short term exposure of Lemna minor and Lemna gibba to mercury, cadmium and chromium. Cent Eur J Biol., 8, 1083-1093.
- [8] 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. Ecol Eng, 61, 426-435.
- [9] Wang F, Lu X, Li XY (2016) Selective removals of heavy metals (Pb²⁺, Cu²⁺, and Cd²⁺) from wastewater by gelation with alginate for effective metal recovery. J. Hazard. Mater., 308, 75-83.
- [10] Tiecher TL, Ceretta CA, Tiecher T, Ferreira PAA, Nicoloso FT, Soriani HH, Rossato LV, Mimmo T, Cesco S, Lourenzi CR, Giachini AJ, Brunetto G (2016) Effects of zinc addition to a copper-contaminated vineyard soil on sorption of Zn by soil and plant physiological responses. Ecotoxicol Environ Saf, 129, 109-119.
- [11] Jo HJ, Choi JW, Lee SH, Hong SW (2012) Acute toxicity of Ag and CuO nanoparticle suspensions against Daphnia magna: The importance of their dissolved fraction varying with preparation methods. J. Hazard. Mater., 301-308.
- [12] Rizwan M, Ali S, Adrees M, Rizvi H, Zia-ur-Rehman M, Hannan F, Qayyum MF, Hafeez F, Ok YS (2016) Cadmium stress in rice: toxic effects, tolerance mechanisms, and management: a critical review. Environ. Sci. Pollut. Res., 1-21.
- [13] Wali M, Fourati E, Hmaeid N, Ghabriche R, Poschenrieder C, Abdelly C, Ghnaya T (2015) NaCl alleviates Cd toxicity by changing its chemical forms of accumulation in the halophyte Sesuvium portulacastrum. Environ Sci Pollut Res Int., 22, 10769-77.
- [14] Yang J, Liu D, Dahms HU, Wang L (2015) Cadmium inhibits the vitellogenesis of freshwater crab Sinopotamon henanense. Environ Toxicol Chem., 34, 1609-1616.
- [15] Tunca E, Üçüncü E, Kurtuluş B, Ozkan AD, Atasagun S (2013) Accumulation trends of metals and a metalloid in the freshwater crayfish Astacus leptodactylus from Lake Yeniçağa (Turkey). Chem Ecol, 29, 754-769.
- [16] Lanier C, Bernard F, Dumez S, Leclercq-Dransart J, Lemièrre S, Vandebulcke F, Nessler F, Platel A, Devred I, Hayet A, Cuny D, Deram A (2019) Combined toxic effects and DNA damage to two plant species exposed to binary metal mixtures (Cd/Pb). Ecotoxicol Environ Saf 167, 278-287.

- [17] Mecozzi M (2018) Comment on the paper “Individual and combined toxic effect of nickel and chromium on biochemical constituents in *E. coli* using FTIR spectroscopy and principal component analysis” by Annika Durva Gupta and Karthikeyan Sivakumaran. *Ecotoxicol Environ Saf* 147, 610-611.
- [18] Liu T, Chen Q, Zhang L, Liu X, Liu C (2021) The toxicity of selenium and mercury in *Suaeda salsa* after 7-days exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology* 244.
- [19] Rebolledo UA, Pérez-Osuna F, Fernández R (2021) Single and mixture toxicity of As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, and Zn to the rotifer *Proales similis* under different salinities. *Environ Pollut* 271.
- [20] Cao Y, Zhao M, Ma X, Song Y, Zuo S, Li H, Deng W, (2021) A critical review on the interactions of microplastics with heavy metals: Mechanism and their combined effect on organisms and humans. *Sci Total Environ* 788.
- [21] Alengebawy A, Abdelkhalek ST, Qureshi SR, Wang MQ, (2021) Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications. *Toxics* 9, 1-34.
- [22] Shahid A, Ahmad N, Anis M, Alatar AA, Faisal M (2016) Morphogenic responses of *Rauvolfia tetraphylla* L. cultures to Cu, Zn and Cd ions. *Rendiconti Lincei*, 27, 369-374.
- [23] Upadhyay AK, Singh NK, Singh R, Rai UN (2016) Amelioration of arsenic toxicity in rice: Comparative effect of inoculation of *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis* sp. on growth, biochemical changes and arsenic uptake. *Ecotoxicol Environ Saf* ,124, 68-73.
- [24] Tellis MS, Lauer MM, Nadella S, Bianchini A, Wood CM (2014) Sublethal mechanisms of Pb and Zn toxicity to the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) during early development. *Aquatic Toxicology* ,146, 220-229.
- [25] Rofkar JR, Dwyer DF, Bobak DM (2014) Uptake And Toxicity Of Arsenic, Copper, And Silicon In *Azolla Caroliniana* And *Lemna Minor*. *International Journal of Phytoremediation*, 16, 155-166.
- [26] Üçüncü E, Tunca E, Fikirdeşici Ş, Altındağ A (2013) Decrease and Increase Profile of Cu, Cr and Pb during Stable Phase of Removal by Duckweed (*Lemna Minor*l.). *International Journal of Phytoremediation* ,15, 376-384.

- [27] Van de Perre D, Roessink I, Janssen CR, Smolders E, Van Regenmortel T, Van Wichelen J, Vyverman W, Van den Brink PJ, De Schamphelaere KAC (2016) The effects of zinc on the structure and functioning of a freshwater community: A microcosm experiment. *Environ Toxicol Chem.*, 35, 2698-2712.
- [28] Song U, Lee S (2016) Phytotoxicity and accumulation of zinc oxide nanoparticles on the aquatic plants *Hydrilla verticillata* and *Phragmites Australis*: leaf-type-dependent responses. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 1-7.
- [29] Kalčíková G, Zupančič M, Jemec A, Žgajnar Gotvajn A (2016) The impact of humic acid on chromium phytoextraction by aquatic macrophyte *Lemna minor*. *Chemosphere* ,147, 311-317.
- [30] Török A, Buta E, Indolean C, Tonk S, Silaghi-Dumitrescu L, Majdik C (2015) Biological removal of triphenylmethane dyes from aqueous solution by *Lemna minor*. *Acta Chimica Slovenica* ,62, 452-461.
- [31] OECD (2002) Organization for Economic Co-operation and Development Guidelines for the testing of chemicals *Lemna sp.* Growth inhibition test draft guideline ,OECD, 221.
- [32] Üçüncü E, Özkan AD, Kurşungöz C, Ülger ZE, Ölmez TT, Tekinay T, Ortaç B, Tunca E (2014) Effects of laser ablated silver nanoparticles on *Lemna minor*. *Chemosphere*, 108, 251-257.
- [33] Juhel G, Batisse E, Hugues Q, Daly D, van Pelt FN, O'Halloran J, Jansen MA (2011) Alumina nanoparticles enhance growth of *Lemna minor*. *Aquat Toxicol*, 105, 328-36.
- [34] Dirilgen N (2011) Mercury and lead: Assessing the toxic effects on growth and metal accumulation by *Lemna minor*. *Ecotoxicol Environ Saf* ,74, 48-54.
- [35] Üçüncü Tunca E, Ölmez TT, Özkan AD, Altındağ A, Tunca E, Tekinay T (2016) Correlations in metal release profiles following sorption by *Lemna minor*. *International Journal of Phytoremediation*, 18, 785-793.
- [36] Monteiro CM, Brandão TRS, Castro PML, Malcata FX (2012) Modelling growth of, and removal of Zn and Hg by a wild microalgal consortium. *Applied Microbiology and Biotechnology* 94, 91-100.
- [37] Carvalho MEA, Castro PRC, Azevedo RA (2020) Hormesis in plants under Cd exposure: From toxic to beneficial element? *J Hazard Mater* 384.

- [38] Fan D, Sun J, Liu C, Wang S, Han J, Agathokleous E, Zhu Y (2021) Measurement and modeling of hormesis in soil bacteria and fungi under single and combined treatments of Cd and Pb. *Sci Total Environ* 783.
- [39] Xie M, Sun Y, Feng J, Gao Y, Zhu L (2019) Predicting the toxic effects of Cu and Cd on *Chlamydomonas reinhardtii* with a DEBtox model. *Aquat. Toxicol.* 210, 106-116.
- [40] Nothstein AK, Eiche E, Riemann M, Nick P, Maier P, Tenspolde A, Neumann T (2019) Coupling langmuir with michaelis-menten-a practical alternative to estimate se content in rice? *PLoS ONE* 14.
- [41] Liu Y, Vijver MG, Peijnenburg WJGM (2014) Comparing three approaches in extending biotic ligand models to predict the toxicity of binary metal mixtures (Cu-Ni, Cu-Zn and Cu-Ag) to lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Chemosphere* 112, 282-288.
- [42] Jiang B, Ma Y, Zhu G, Li J (2019) A new model describing copper dose–toxicity to tomato and bok choy growth in a wide range of soils. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16.