

ACTA BIOLOGICA TURCICA

© 1950-1978 Biologi, Türk Biologi Dergisi, Türk Biyoloji Dergisi, Acta Biologica

E-ISSN: 2458-7893, http://www.actabiologicaturcica.info

Effect of TiO₂ nanoparticles application on photosynthetic pigment contents of duckweed (*Lemna minor* L.)Yeşim DAĞLIOĞLU^{*1}, Sevda TÜRKİŞ²¹Ordu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu, Turkey.²Ordu Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, Ordu, Turkey.

*Corresponding author: yozkan52@gmail.com

Abstract: Nanoparticles are a form of materials that have different properties as bulk and molecular. Despite their useful potential, nanoparticles have the ability to permeation animals and plants. For this reason, this use can pose a health hazard to the ecosystem, and it is necessary to perform toxic evaluation by using various organisms in the environment. In this study, effects on the amount of pigment after exposure to the TiO₂ nanoparticle of duckweed (*Lemna minor*) Which the indicator organism of the aquatic environment have investigated. At the end of the 96-h exposure period, C_a and C_b levels were found significant differences between 50-200 mg⁻¹ concentrations at $P < 0.001$ level. In addition, during the 96-hour exposure period, there is no measurable effect on the chlorophyll content at high concentration (200 mg⁻¹) of TiO₂ in duckweed.

Keywords: Aquatic toxicology, Chlorophyll, Nanotoxicology, Nanoparticles, TiO₂.

TiO₂ nanopartikül uygulamasının su mercimeğinin (*Lemna minor* L.) fotosentetik pigment içeriği üzerine etkisi

Özet: Nanopartiküller, bulk ve moleküler maddelerden farklı özelliklere sahip yeni materyal sınıfıdır. Faydalı potansiyellerine rağmen, hayvan ve bitkilere nüfus etme yeteneği nedeniyle kullanımı ekosistem sağlığı için tehlike oluşturabilir. Bu sebeple, çevredeki çeşitli organizmaların kullanılmasıyla toksik değerlendirilmesinin yapılması gerekmektedir. Bu çalışmada, sucul çevrenin indikatör organizması olan *Lemna minor* TiO₂ nanopartikülüne maruz kalması sonucu fotosentetik pigment miktarları üzerine etkisi araştırılmıştır. 96 saat maruz kalma süresi sonunda, Kl a ve Kl b miktarları, 50-200 mg⁻¹ konsantrasyonları arasında $P < 0.001$ düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Bununla birlikte, 96 saat maruz kalmada 200 mg⁻¹ konsantrasyonda su mercimeğinin klorofil miktarları üzerine ölçülebilir bir etkisi gözlenmemiştir.

Anahtar kelimeler: Akuatik toksikoloji, Klorofil, Nanopartikül, Nanotoksikoloji, TiO₂.

Giriş

Mühendislik nanomalzemeleri endüstriyel, akademik ve tüketici ürünlerinde giderek artan kullanımı ile materyallerin hızla büyüyen bir grubunu oluşturur (Rejeski, 2010). Nanomalzemeler genel olarak en az bir boyutunun 100 nanometre'den daha küçük boyutlu olması şeklinde tanımlanır (Kreyling ve ark., 2006). Kısaca, nanoteknoloji, nanometre (nm) ölçeğinde materyallerin kasıtlı ve kontrollü üretimi veya modellenmesidir (Fagan ve ark., 1991).

Mühendislik nanopartiküllerinin son yıllarda üretiminin ve çeşitliliğinin artmasından dolayı geniş bir ticari uygulama alanı oluşmuştur. Bunun sonucunda, nanopartiküller, potansiyel toksisitesini değerlendirmek

maksadıyla bilimsel çalışmalara konu olmuştur. Titanyum dioksit (TiO₂), anataz, rutil ve brokit olmak üzere üç ana kristalografik yapıda bulunmaktadır (Li ve ark., 2004; Arami ve ark., 2007). Genellikle en yaygın olarak, stabil rutil ve metastabil anataz fazları halinde bulunur ve bunlar çevrede en önemli fazlar olarak kabul edilir (Bailar ve ark., 1973). Bu fazların her birinin farklı özellikleri olması sebebiyle farklı uygulamaları ve çevresel etkileri vardır. Faza özgü çevresel etkiler saf-faz nanopartikül üretilmesindeki güçlükler nedeniyle fazla çalışılmamıştır. Ayrıca, yüksek yüzey alanı ve iyi kristallik özellikleri ile rutil TiO₂ nanopartiküllerini elde etmek anataz kristal fazdan daha zor olup bu zorluğun sebebinin boyuta bağlı termodinamik istikrarının göstergesi olduğu düşünülmek-

tedir. Gerçekte, 14 nm altındaki parçacık çaplarında rutil faz daha stabildir (Banfield ve Navrotsky, 2002). TiO₂ rutin uygulamalarının dışında, katalizör desteği (Matsuda ve Kato, 1986; Djenadic ve ark., 2007), yarı iletken fotokatalist (Gratzel, 2001), sensörler (Ruiz ve ark., 2003), güneş enerjisi dönüşümü, fotovoltaik cihazlar ve metalik nanopartikül taşıyıcısı gibi potansiyel uygulamaları vardır. Bu uygulamalarda kullanılmak üzere, nanofiberler, nanoteller, nanorodlar ve nanotüpler gibi yüksek morfolojik özgüllüğe sahip TiO₂ nanopartiküllerinin elde edilmesi için sentetik yöntemlerin geliştirilmesine bilim dünyası büyük bir ilgi göstermiştir (Zhu ve ark., 2005).

Bunun yanı sıra, TiO₂'in pratik ve ticari uygulamalarda kullanılmasıyla ilişkili bazı dezavantajların getirdiği sorunlarda vardır. Bu sorunların üstesinden gelmek adına fotokatalitik etkinliği arttırmak için son zamanlarda saf olmayan katkıyı (Elahifard ve ark., 2007), metalizasyonu (Sunada ve ark., 2003) ve duyarlılaşmayı içeren çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Hu ve ark., 2006; Liu ve ark., 2002a). Ayrıca, mikroorganizmalar, ışık varlığında reaktif oksijen türlerini (ROT) üretmesinden dolayı TiO₂ nanopartiküllerinden olumsuz bir şekilde etkilenirler. Bu durumu Federici ve ark. (2007) ve Reijnders (2009) çalışmalarında, TiO₂'ye maruz kalan gökkuşağı alabalıklarında enflamatuar yaralanma ve solunum sıkıntısının görülmesiyle doğrulamışlardır. Bununla birlikte, nanopartiküllerin yaygın kullanımı nedeniyle, akuatik, karasal ve atmosferik çevrelerde bulunması öngörülmektedir (Nowack ve Bucheli, 2007). TiO₂ nanopartikülü tüketici ürünleri ve medikal uygulamalarında oldukça yaygın olarak üretilir ve kullanılır. Bu sebeple, TiO₂ nanopartikülü çevreyle alakalı toksisite testlerinde sıklıkla kullanılmıştır.

Pek çok bilim insanı çalışmalarında TiO₂ nanopartiküllerinin farklı yollarla sağlık üzerine olumsuz/toksik etkileri olduğunu göstermiş ve böylece TiO₂ nanopartikül toksisite mekanizmalarını bir dereceye kadar açıklanabilmiştir. TiO₂ nanopartiküllerinin hücre zarı hasarı, protein oksidasyonu ve muhtemel DNA hasarına yol açan ROT üretimine neden olduğu gösterilmiştir (Kim ve ark., 2005; Neal, 2008; Cherchi ve Gu, 2010). Ayrıca, küçük boyutu ve geniş yüzey alanı özellikleri ile TiO₂ nanopartiküllerinin oksidatif strese neden olduğu Xia ve ark. (2006)'da akciğer hedefi olan fagositik hücre hattında (RAW 264.7) spontan ROT oluşumunda hücresel komponentler ile partikül

etkileşimleri sonucu oksidatif stres oluşturabileceğini kaydetmiştir. Buna ek olarak, oksidatif stres, TiO₂ nanopartikülüne maruz kalan balıklar üzerindeki etkilerin başlıca nedeni olmuştur (Federici ve ark., 2007; Xiong ve ark., 2011). Federici ve ark. (2007) TiO₂ nanopartiküllerinin, gökkuşağı alabalıklarında bazı eser elementlerin metabolizmasını bozduğu ve solunum sıkıntısına neden olduğunu kaydetmiştir. Ayrıca, Huang ve ark. (2005) yeşil alg *Pseudokirchneriella subcapitata*'nın hücre yüzeyinde TiO₂ nanopartiküllerini adsorbe ettiğini göstermiştir. Wang ve ark. (2008), burun yoluyla alınan TiO₂ nanopartiküllerinin merkezi sinir sistemine taşınabileceği ve beyinde potansiyel lezyonlara neden olabileceği ayrıca beyindeki hipokampusun ana hedef olabileceğini kaydetmişlerdir. Zhu ve ark. (2011) deniz kulağı (*Haliotis diversicolor supertexta*) embriyolarında TiO₂'nin 2 mg/L konsantrasyonunda gelişimsel etkilerinin olmadığı, ancak ≥ 10 mg/L konsantrasyonlarda kuluçka engellemesi ve malformasyonlara neden olduğunu kaydetmişlerdir. Aruoja ve ark. (2009), alg hücrelerinin TiO₂ nanopartikül agregatlarını hapsedebilmesi ve tutabilmesinden dolayı alg büyümesinin engellenmesine sebep olabileceğini kaydetmiştir. Zhu ve ark. (2010), *Daphnia magna*, test ortamından önemli bir miktarda TiO₂ nanopartikülünü biriktirdiğini ve sonuçta büyüme ve çoğalmayı etkileyen anormal gıda alımını gösterdiğini kaydetmiştir.

Sucul çevrede nanopartikül maruziyetinin etkileri üzerine araştırmalar oldukça önemlidir. Çünkü, nanopartiküller doğrudan çevreye salınır ve akan suyuyla birlikte tatlı su ekosistemlerine girebilir. Toksik stres sonucunda, sucul komünite tür kompozisyonunda meydana gelen değişiklikler ile tüm ekosistemin yapı ve işleyişini etkileyebileceği düşünülür (Ma ve ark., 2006; Wei ve ark., 2009). Çevre, atmosferdeki tozlar (Ammann ve ark., 1990), toprak erozyonundan gelen tozlar (Akata ve ark., 2007) nanometre ölçekli parçacıklar ile tatlı su kolloidleri (Lead ve Wilkinson, 2006) gibi nanometre ölçeğinde birçok doğal parçacığıda içerir. Doğal sular, nanopartiküllerin sediment veya topraklar gibi çevresel matrislerdeki davranışları (Handy ve ark., 2008) ekotoksisiteyi etkileyebilen birçok işlem içermesi sonucu oldukça karmaşıktır. Bu toksisiteyi etkileyen belli başlı özelliklerden bazıları ise şunlardır; su gibi sıvılarda kararlı dağılımlar oluşturma kabiliyeti, agregasyon kimyası, partikülün şekli ve büyüklüğü, yüzey alanı ve yüzey yükünün agregasyon kimyası ve ekotoksisite

üzerine etkileri, üretilen nanopartiküllerin organizmaların dış yüzeylerinde dahil olmak üzere yüzeylere adsorpsiyonu, pH'sı, tuzluluk (veya iyonik güç), su sertliği ve doğal organik maddenin varlığı gibi değişken çevresel etkilerde dahil olmak üzere, yukarıdaki tüm abiyotik faktörlerdir (Handy ve ark., 2008).

Toksikoloji deneylerinde maruziyeti gerçekleştirmek veya doz uygulamaları için, çoğu zaman test materyalleri sıvı veya solüsyon fazda kullanılır. Nanopartiküller çözeltide çözünmez, ancak bir kolloid dağılımı oluşturabilir. "Kolloid" 1 nm^{-1} - $1 \text{ }\mu\text{m}$ boyut aralığında malzemenin partikül boyutları veya süspansiyonları için kullanılan ifadedir (Handy ve ark., 2008; Lead ve Wilkinson, 2006). Kolloid kimyasında, parçacıklar dağınık kalabilir, veya agregasyon işlemleri ile malzemeyi sıvı fazdan uzaklaştırabilir. Kararlı dispersiyonlar bile zamanla (birkaç gün içinde) sulu fazdan yavaş yavaş agregasyon formuna geçer. Sulu bir ortamdaki partiküllerin agregasyon hızı kısmen partikül-partikül çarpışma frekansına (örneğin, brown hareketi ve ortamdaki partikül sayısı konsantrasyonu), çarpışma enerjisi ve partiküllerin çekici-itici özelliklerine bağlıdır. Bunun yanı sıra ortamda bulunan doğal organik maddeler gibi diğer koloidal materyallerle benzer şekilde etkileşir (Handy ve ark., 2008). Agregasyon, sucul ortamdaki organizmalar üzerinde nanopartiküllerin birikmesiyle sonuçlanabilir. Bir diğer seçenek olarak, önceden ekotoksikologların kullandığı gibi yüzeye etki eden toksinler/toksikantlar kavramı olup, nanopartiküllerin organizmaların dış yüzeyine adsorbe edilmesidir (Handy ve Eddy, 1991). Sucul ekosistemin en önemli bileşenlerinden biride sucul bitkilerdir.

Nanopartiküller çevreleriyle yakından etkileşim halindedir ve bitkiler, tüm ekosistemlerin temel bir bileşenidir. Bitkiler, absorpsiyon ve akümülyasyon yoluyla nanopartiküllerin çevredeki akıbeti ve taşınmasında kritik bir rol oynamaktadır (Monica ve Cremonini, 2009). Bitkilerin ağır metal birikimi ve detoksifikasyonunda büyük bir potansiyel gösterdiği bir çok çalışmada kanıtlanmıştır (Yang ve ark., 2005). Milner ve Kochian (2008) ve Hall (2002) *Arabidopsis halleri* ve *Thlaspi caerulescens* bitkilerinde toksik metallerin aşırı birikimi ve detoksifikasyonundan bahsetmiştir. Bitki hücre duvarı, nanopartiküllerde dahil olmak üzere herhangi bir harici maddenin bitki hücrelerine kolayca girişini önlemek için bariyer görevi görür. Bitkilerdeki hücre çeperinin eleme

özellikleri, 5-20 nm aralığında olan hücre çeperinin gözenek çapı ile ilgilidir (Fleischer ve ark., 1999). Bu nedenle, sadece hücre çeperinin gözenek çapından daha az küçük çapa sahip olan nanopartikül veya nanopartikül agregatları çeperi kolayca geçebilir ve plazma zarına erişebilirler (Navarro, 2008; Moore, 2006). Ayrıca, gözeneklerin genişlemesi veya nanopartiküllerle etkileşimiyle yeni hücre duvarı gözeneklerinin indüklenme olasılığında vardır ki buda nanopartikül alımını artırır. Nanopartiküllerin daha fazla içselleştirilmesi, nanopartiküllerin etrafında plazma membran oluşturan oyuk benzeri bir yapı yardımıyla endositoz sırasında gerçekleşir. İyon kanalları vasıtasıyla veya gömülü ileten taşıyıcı proteinleri kullanan membranı da geçebilirler. Sitoplazmada, nanopartiküller farklı sitoplazmik organellerle bağlanabilir ve o bölgedeki metabolik süreçleri etkileyebilir (Jia ve ark., 2005).

Nanopartiküllerin, özellikle bitki tarafından alımı ve birikimi üzerine yapılan deneysel bilimsel araştırmalar hala yetersiz sayıdadır. Nanopartikül toksikolojisi ve bitkiler tarafından alımı alanında yeni gelişmeleri gösteren bazı yeni yayınlar son birkaç yılda literatüre eklenmiştir. Bu çalışmada, bunlara ek olarak sucul ekosistemin indikatör organizması olan su mercimeği (*Lemna minor*) kullanılarak TiO_2 nanopartikülünün fitotoksitesininin araştırılması sağlanmıştır. Bu çalışmanın, bitki ekotoksitesite üzerine araştırmalara öncü olması ve aydınlatılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bitki örnekleri: Denemede kullanılan bitki örnekleri (*Lemna minor*), Muğla ili doğal alanından toplanmıştır. *Lemna minor* (su mercimeği), sucul çevrenin toksisite değerlendirmesinde biyoindikatör olarak kullanılan en önemli organizmalardan birisidir. *Lemna minor*, Arales takımının Lemnaceae familyasının su üstünde serbest yüzen yada su içine batık durumda olan, çok küçük, basit yapılı sucul bitkileridir (Haslara ve ark., 1975; Güner, 1985). Ülkemizde yayılış gösteren cinsi *Lemna* (Davis, 1984) olup, dünyanın her yerine yayılmış monoik bitkilerdir nadiren dioik olarak bulunurlar. Farklılaşmamış tallusa sahiptirler. Kökleri basittir. Esas görevi bitkinin üst kısmını yukarıda tutmaktır. Çiçek durumları bir dişi ve iki erkek çiçekten ibaret olup, çıplak ya da bir kın ile çevrilir (Haslara, 1975; Davis, 1984). Vegetatif üremeleri tomurcuklanmadır ve yaprakçıkların köke bağlandığı yere yakın olan en dar kısmının iki

Çizelge 1. Hoagland's Besin solüsyonu.

Bileşim	Stok Solüsyon	Konsantrasyon
MgSO ₄ . 7H ₂ O	24.6 g/100 mL	2 mL ⁻¹
Ca(NO ₃) ₂ . 4H ₂ O	23.6 g/100 mL	1 mL ⁻¹
KH ₂ PO ₄	13.6 g/100 mL	5 mL ⁻¹
KNO ₃	10.1 g/100 mL	1 mL ⁻¹
H ₃ BO ₃	2.86 g/L	1 mL ⁻¹
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1.82 g/L	1 mL ⁻¹
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.22 g/L	1 mL ⁻¹
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.09 g/L	1 mL ⁻¹
Fe-DTPA		50 mL ⁻¹

Çizelge 2. Farklı konsantrasyonlardaki TiO₂ nanopartikülünün klorofil a, b, total ve a/b oranlarının ANOVA sonuçları.

Klorofil	P değeri	Tukey Testi
Kl a/b	0.122	
Kl a	0.000***	0.15 ^d ,5.75 ^c ,6.10 ^b ,11.03 ^a
Kl b	0.000***	0.27 ^d , 2.57 ^c ,2.84 ^b ,4.47 ^a
Kl a+b	0.111	

*** Korelasyon 0.001 düzeyinde anlamlıdır

yanında bulunan, iki cepten yapılıdır. Her yaprakçık çok sayıda dişi tomurcuk üretebilir. Bir cepte bulunan dişi tomurcuk diğerinden daha çabuk gelişir. Dişi tomurcuklar annelerine bağlı yeni birey oluştururlar. Tomurcuğun daha geç geliştiği keseye minus denir. Çiçeklenme olduğunda çiçek bu cepte açığa çıkar (Martin, 1978).

Su mercimeği deneysel çalışmalar için, laboratuvar koşullarında [23C sıcaklık ve 14/10 (aydınlık/karanlık) fotoperiyotta] tutulmuştur. Makro besin elementleri; 1M kalsiyum nitrat, 1M Potasyum nitrat, 1M magnezyum sülfat, 1M potasyum dihidrojen fosfattır. Mikro besin elementleri; 1M sodyum nitrat, 1M magnezyum klorür, 1M sodyum dihidrojen fosfat, 1M kalsiyum klorür, 1M potasyum klorür] altında yetiştirilmiştir (To, 2011).

Klorofil analizi: Maruz kalma süresi sonunda taze örneklerde klorofil analizi yapmak için, TiO₂ uygulanan su mercimeği üzerine % 80'lik aseton çözeltisi ve kuvarz kumu ilave edildi ve ezildi (Odabaş, 1981). Elde edilen ekstrakt santrifüj tüpüne alındı ve üzerine 4 ml %80'lik aseton ilave edildi. Santrifüjden sonra ekstrakt Whatman siyah band fitre kağıdından süzüldükten sonra, son hacim 10 ml ye tamamlandı. Elde edilen sıvı, spektrofotometrede 663 ve 645 nm'lerde okundu. Deneysel hataları önlemek için her örnek için ikişerli gruplar halinde çalışılmıştır. Klorofil miktarları aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplandı.

$$\text{mg kl a/g doku} = [12.7 (D663) - 2.69 (D645)] * (V/1000.A)$$

$\text{mg kl b/g doku} = [22.9 (D645) - 4.68 (D663)] * (V/1000.A)$
(D: dalga boyu, V:% 100 lük aseton son hacmi, A: kullanılan yaprak dokusunun gram cinsinden ağırlığı (Odabaş, 1981).

Maruz bırakma deneyi: Laboratuvar şartlarında bir hafta yetiştirilen su mercimekleri 500 ml polietilen şişeler kullanılarak TiO₂ (45 nm) nanopartikülüne 96 saat maruz bırakılmıştır. Nanopartiküller, hareketsiz ortamda agregat (kümeleşme) oluşturma eğiliminde olması ayrıca su mercimeğin doğal koşullarının sağlanması için deneylerin hareketli sistemde yürütülmesi gerekmektedir. Bu sebeplerden dolayı, deney süresince devamlı hareketli ortamın sağlanması gerekmektedir. Bu çalışmada, maruz kalma deneyinde karışımı sağlamak için akvaryum hava motoru kullanılmıştır. Bitki örneklerinin mineral beslenme ortamlarında deneme süresince uygulanmak üzere modifiye edilmiş Çizelge 1'de belirtilen içeriklerde Hoagland besin çözeltisi hazırlanmıştır (Hothem ve ark., 2003). Su mercimekleri, Hoagland besin çözeltisi ile hazırlanmış TiO₂ nanopartikülünün 50, 100 ve 200 mg⁻¹ konsantrasyonlarında maruz bırakıldı.

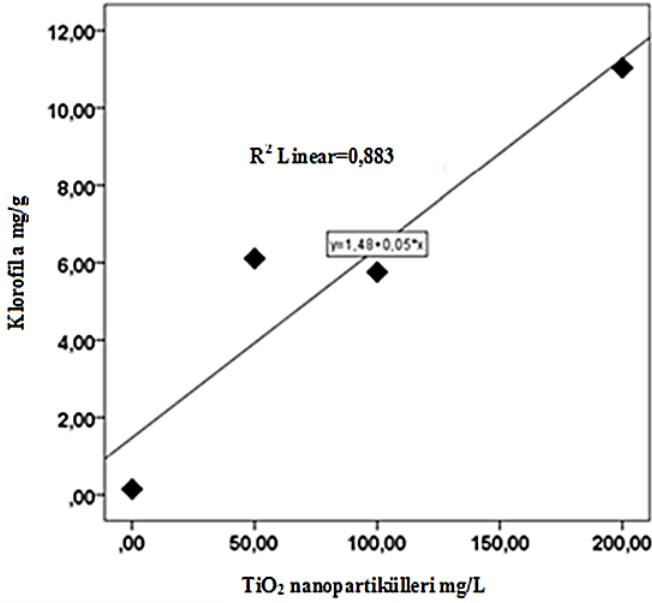
Bulgular ve Tartışma

Su mercimeğinin, TiO₂ (45 nm) nanopartikülüne 96 saat maruz kalma süresi sonunda Kl a ve Kl b miktarları, 50, 100 ve 200 mg⁻¹ konsantrasyonlarında $P < 0.001$ düzeyinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir (Çizelge 2). Klorofil a,

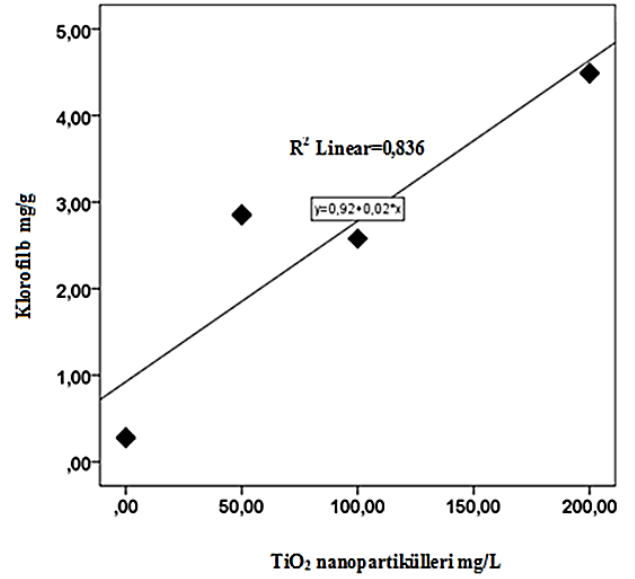
Çizelge 3. Klorofil a, b, total ve a/b oranlarının pearson korelasyon sonuçları.

	Kl a/b	Kl a	Kl b
Kl a/b	1		
Kl a	0.116	1	
Kl b	0.147	0.997**	1
Kl a+b	0.249	-0.661	-0.653

**Korelasyon 0.001 düzeyinde anlamlıdır



Şekil 1. Farklı konsantrasyonlardaki TiO₂ nanopartikülünün *Lemna minor* klorofil a miktarları.



Şekil 2. Farklı konsantrasyonlardaki TiO₂ nanopartikülünün *Lemna minor* klorofil b miktarları.

b, a/b ve a+b miktarları arasında korelasyon sonuçlarına göre sadece kl a ve kl b miktarları arasında yüksek oranda pozitif korelasyon gözlemlendi (Çizelge 3). Yapılan Tukey testi sonuçlarına göre, farklılıklara neden olan faktör ise uygulanan TiO₂ konsantrasyonlarıdır. TiO₂ nanopartikülünün uygulanmasında, TiO₂ konsantrasyon artışının klorofil a ve b üretimini stimüle ettiği gözlemlenmiştir (Şekil 1 ve 2).

Sonuç

Daha önceki çalışmalarda TiO₂ nanopartiküllerinin, yosun, su piresi ve zebra balığı için toksik olduğu belirtilmiştir (Velzeboer ve ark., 2008; Wiench ve ark., 2009; Sadiq ve ark., 2011). Bununla birlikte, Li ve ark. (2013) TiO₂ nanopartikülünü 0.01-5 mgL⁻¹ konsantrasyon aralığında 14 gün maruz bıraktıkları *L. minor*'un büyüme oranı veya klorofil içeriği üzerinde ölçülebilir bir etkisi olmadığını kaydetmişlerdir. Benzer şekilde, TiO₂ nanopartiküllerine maruz bırakılan deniz fitoplankterleri, bakteriler ve

kabuklu hayvan türleri üzerine hiçbir etkisi gözlenmemiştir (Miller ve ark., 2010). Bunun aksine, Cherchi ve Gu (2010), nano-TiO₂ nanopartiküllerin siyanobakteriler üzerinde toksisitesinin konsantrasyona ve zamana bağlı olduğunu kaydetmiştir. TiO₂ nanopartiküllerinin farklı organizmalar üzerinde hatta aynı organizma üzerinde bile etkilerinin değiştiği görülür. Bu çalışmada, diğer çalışmalardan farklı olarak *L. minor*'un yüksek konsantrasyonda 96 saat maruz kalmada klorofil miktarı yönünden ölçülebilir bir etkisi bulunmamıştır. TiO₂ nanopartiküllerinin *L. minor* büyümesi üzerinde hiçbir toksik etki göstermediği halde, yüksek birikimi sonucu partiküllerin besin zincirlerinde taşınmasına ve dolayısıyla su ekosistemlerinde ekolojik etkilere neden olabileceği düşünülür. Ayrıca, fitoremediasyon teknolojisinin laboratuvar ortamından çıkarak, doğal ekosistemlerin temizlenmesi için doğal ortamlarda kurulacak teknolojilerde kullanılmak üzere *L. minor* en güçlü aday türlerden birisidir (Ustaoglu ve

ark., 2015). Bu durum *L. minor*'un diğer türlere göre özellikle sucul ekosistemlerde bulunan toksisiteye daha dayanıksız olan türlerin yaşam alanlarının korunmasında etkinliğini daha da arttırmaktadır. Bunların yanında bu türlerle beslenen canlılarda toksik madde birikimide döngü içinde yer alan türler açısından önemli olmaktadır. *L. minor* gibi indikatör özellikli türlerin çalışılmasında farklı doz uygulamaları toksisite tolerans aralıklarının belirlenmesi açısından önemli olmaktadır.

Teşekkür

Canım babam M. Özkan emeklerinden dolayı teşekkür ederim. Allahın rahmeti üzerinde olsun, nurlar içinde uyu güzel babam.

Kaynaklar

Ammann M., Burtscher H., Siegmann H.C. 1990. Monitoring volcanic activity by characterization of ultrafine aerosol emissions. *J Aerosol Sci*, 21: 275-278.

Arami H., Mazloumi M., Khalifehzadeh R., Sadrnezhad S.K. 2007. Sonochemical preparation of TiO₂ nanoparticles. *Materials Letters*, 61: 4559-4561.

Aruoja V., Dubourguier H., Kasemets K., Kahru A. 2009. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Sci. Total Environ*, 407: 1461-1468.

Bailar J.C., Elemeleus H.J., Nyholm R., Trotman- Dickenson A.F. 1973. *Comprehensive Inorganic Chemistry*. Pergamon Press, UK. 357 p.

Banfield F.J., Navrotsky A. 2002. Nanoparticles in the Environment. *Rev Mineralogy Geochemistry*, DOI:10.2138/rmg.2001.44.01.

Carla C., Gu A.Z. 2010. Impact of titanium dioxide nanomaterials on nitrogen fixation rate and intracellular nitrogen storage in *Anabaena variabilis*. *Environmental Science and Technology*, 44: 8302-8307.

Cherchi C., Gu A.Z. 2010. Impact of titanium dioxide nanomaterials on nitrogen fixation rate and intracellular nitrogen storage in *Anabaena variabilis*. *Environ. Sci. Technology*, 44: 8302-8307.

Davis P.H. 1984. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Volume 8, Edinburg University Press.

Djenadic R.R., Nikolic M.L., Giannakopoulos P.K., Stojanovic B., Vladimir V., Srdic V.V. 2007. One-dimensional titanate nanostructures: Synthesis and characterization. *Journal of the European Ceramic Society*, 27: 4339-4343.

Elahifard M.R., Rahimnejad S., Haghghi S., Gholami M.R. 2007. Apatite-coated Ag/ AgBr/TiO₂ visible-light photocatalyst for destruction of bacteria. *Journal of the American Chemical Society*, 129: 9552-9553.

Fagan P.J., Calabrese J.C., Malone B. 1991. The chemical nature of buckminster fullerene (C₆₀) and the characterization of a platinum derivative. *Science*, 252: 1160-1161.

Federici G., Shaw B.J., Handy R.D. 2007. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology*, 84: 415-430.

Fleischer M.A., O'Neill R., Ehwald. 1999. The pore size of non-graminaceous plant cell wall is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturon II, *Plant Physiology*, 121: 829-838.

Gratzel M. 2001. Photoelectrochemical cells. *Nature*, 414: 338-344.

Güner H. 1985. *Hidrobotanik*, Ege Univ. Fen Fak. Yayınlan, Seri No: 91, İzmir. 117 p.

Hall J.L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1-11.

Handy D.R., Kammer V.F., Lead R.J., Hassello M., Owen R., Crane M. 2008. The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*, 17: 287-314.

Hasewaga S., Wakamatsu S., Ohara T., Itano Y., Saitoh K., Hayasaki M., Kobayashi S. 2007. Vertical profiles of ultrafine to supermicron particles measured by aircraft over Osaka metropolitan area in japan. *Atmospheric Environment*, 41: 717-729.

Haslara M., Sinker C.A., Wolseley P.A. 1975. *British Water Plants Field Studies*. 4: 243-351 reprinted in 1982.

He Z.L., Yang X.E., Stoffella P.J. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Element in Medicine Biology*, 18: 339-353.

Hothem S.D., Marley K.A., Larson R.A. 2003. Photochemistry in Hoagland's nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition*, 26(4): 845-854.

Hu C., Lan Y., Qu J., Hu X., Wang A. 2006. Ag/AgBr/TiO₂ visible light photocatalyst for destruction of azodyes and bacteria. *The Journal of Physical. Chemistry, B* 110, 4066e4072.

Huang C.P., Cha D.K., Ismat S.S. 2005. Progress report: short-term chronic toxicity of photocatalytic nanoparticles to bacteria, algae, and zooplankton. EPA 2005, R831721.

Jia G., Wang H., Yan L., Wang X., Pei R., Yan T., Zhao Y., Guo X. 2005. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene. *Environmental Science and Technology*, 39: 1378-1383.

Kim S., Nishioka M., Hayashi S., Honda H., Kobayashi T., Taya M. 2005. The gene *yggE* functions in restoring physiological defects of *Escherichia coli* cultivated under oxidative stress conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 2762-2765.

- Kreyling W.G., Semmler-Behnke M., Moller W. 2006. Health implications of nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 8(5): 543-562.
- Lead J.R., Wilkinson K.J. 2006. Aquatic colloids and nanoparticles: current knowledge and future trends. *Environmental Chemistry*, 3: 159-171.
- Li L., Sillanpaa M., Tuominen M., Lounatmaa K., Schultz E. 2013. Behavior of titanium dioxide nanoparticles in *Lemna minor* growth test conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 88: 89-94.
- Liu D.M., Yang Q., Troczynski T. 2002. Sol-gel hydroxyapatite coatings on stainless steel substrates, *Biomaterials*, 23: 691-698.
- Ma J.Y., Lu N.H., Qin W.D., Xu R.F., Wang Y.B., Chen X.N. 2006. Differential responses of eight cyanobacterial and green algal species, to carbamate insecticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63(2): 268-274.
- Martin J.F.L. (1978). *Lagunage en Traitement Tertiaire, Experimentation a partir de Plantes Aquatiques Superieures, La Technique De Le'eau et de L'assainissement No 376-Avril 23-24 3.*
- Matsuda S., Kato A. 1986. Titanium oxide based catalysts-a review. *Applied Catalysis*, 8: 149-165.
- Miller R.J., Lenihan H.S., Muller E.B., Tseng N., Hanna S.K., Keller A.A. 2010. Impacts of metal oxide nanoparticles on marine phytoplankton. *Environmental Science and Technology*, 44(19): 7329-7334.
- Milner M.J., Kochian L.V. 2008. Investigating heavy-metal hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* a model system. *Annals of Botany*, 102: 3-13.
- Monica C.R., Cremonini R. 2009. Nanoparticles and higher plants. *Caryologia*, 62(2): 161-165
- Moore M.N. 2006. Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment. *Environ. International*, 32: 967-976.
- Navarro E., Baun A., Behra R., Hartman N.B., Filser J. 2008. Environmental behaviour and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants and fungi. *Ecotoxicology*, 17: 372-386.
- Neal A.L. 2008. What can be inferred from bacterium-nanoparticle interactions about the potential consequences of environmental exposure to nanoparticles? *Ecotoxicology*, 17: 362-371.
- Nowack B., Bucheli T.D. 2007. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution*, 150(1): 5-22.
- Odabaş F. 1981. Bacchus Çeşidinde (*Vitis Vinifera* L.) Yaprakların klorofil miktarı üzerine azot gübrelemesinin etkisi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12(2): 39-50.
- Reijnders L. 2009. The release of TiO₂ and SiO₂ nanoparticles from nanocomposites. *Polymer Degradation and Stability*, 94(5): 873-876.
- Rejeski D. 2010. The Project on Emerging Nanotechnologies. Accessed on 1/ 20/2010: Available: <http://www.nano-techproject.org/>.
- Ruiz A.M., Sakai G., Cornet A., Shimano K., Morante J.R., Yamazoe N. 2003. Microstructure control of thermally stable TiO₂ obtained by hydrothermal process for gas sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 103: 312-317.
- Sadiq I.M., Dalai S., Chandrasekaran N., Mukherjee A. 2011. Ecotoxicity study of titania (TiO₂) NPs on two micro alga species: *Scenedesmus* sp. And *Chlorella* sp. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74: 1180-11.
- Sunada K., Kikuchi Y., Hashimoto K. 2003. Studies on photokilling of bacteria on TiO₂ thin film. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 56: 227-233.
- TO N. 2011. Influence of exposure duration and recovery on the toxicity of norflurazon to *L. minor*. SWS 6905 Project December 1, 2011.
- Ustaoğlu D., Terzioğlu K., Türe H., Yılmaz E., Tunca E. 2015. Sucul ortamlardaki bakırın (Cu), su mercimeği (*Lemna minor* Linnaeus 1753) ile fitoremediasyonu. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2).
- Wang J., Chen C., Liu Y., Jiao F., Li W., Lao F., Li Y., Li B., Ge C., Zhou G., Gao Y., Zhao Y., Chai Z. 2008. Potential neurological lesion after nasal instillation of TiO₂ nanoparticles in the anatase and rutile crystal phases. *Toxicology Letters*, 183(1-3): 72-80.
- Wei C., Zhang Y., Guo J., Han B., Yang X., Yuan J. 2009. Effects of silica nanoparticles on growth and photosynthetic pigment contents of *Scenedesmus obliquus*. *Journal of Environmental Sciences*, 22(1): 155-60.
- Wiench K., Wohlleben W., Hisgen V., Radke K., Salinas E., Zok S., Landsiedel R. 2009. Acute and chronic effects of nano- and non-nano-scale TiO₂ and ZnO particles on mobility and reproduction of the freshwater invertebrate *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 76: 1356-1365.
- Xia T., Kovochich M., Brant J., Hotze M., Sempf J., Oberley T., Sioutas C., Yeh I.J., Wiesner R.M., Nel E.A. 2006. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano Letters*, 6(8): 1794-1807.
- Xiong D., Fang T., Yu L., Sima X., Zhu W. 2011. Effects of nano-scale TiO₂, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: acute toxicity, oxidative stress and oxidative damage. *Science of the Total Environment*, 409: 1444-1452.
- Yang Xiao-E., Jin X-F., Feng Y., Islam E. 2005. Molecular

mechanisms and genetic basis of heavy metal tolerance/hyperaccumulation in plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47(9): 1025-1035.

Zhu H.Y., Lan Y., Gao X.P., Ringer S.P., Zheng Z.F., Song D.Y., Zhao J.C. 2005. Phase transition between nanostructures of titanate and titanium dioxide via simple wet-chemical reactions. *Journal of the American Chemical Society*, 127: 6730-67.

Zhu X., Zhou J., Cai Z. 2011. TiO₂ Nanoparticles in the Marine Environment: Impact on the Toxicity of Tributyltin to Abalone (*Haliotis diversicolor supertexta*) Embryos. *Environmental Science and Technology*, 45(8): 3753-3758.