

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Özge FIRAT

**CIVA, CIVA-SELENYUM VE CIVA-ZEOLİT KARIŞIMLARINA
BIRAKILAN *Oreochromis niloticus*'TA CIVANIN, DOKULARDAKİ
BİRİKİMİ VE GSH İLE İLİŞKİLİ ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİSİ**

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2016

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**CIVA, CIVA-SELENYUM VE CIVA-ZEOLİT KARIŞIMLARINA
BIRAKILAN *Oreochromis niloticus*'TA CIVANIN, DOKULARDAKİ
BİRİKİMİ VE GSH İLE İLİŞKİLİ ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİSİ**

Özge FIRAT

DOKTORA TEZİ

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez/...../2016 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Ferit KARGIN
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Bedii CİCİK
ÜYE

.....
Doç. Dr. Özcan AY
ÜYE

.....
Doç. Dr. Fatma ÇEVİK
ÜYE

.....
Yrd. Doç. Dr. Mehmet SULANÇ
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.
Proje No: FEF2012D1**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

**CİVA, CİVA-SELENYUM VE CİVA-ZEOLİT KARIŞIMLARINA
BIRAKILAN *Oreochromis niloticus*'TA CİVANIN, DOKULARDAKİ
BİRİKİMİ VE GSH İLE İLİŞKİLİ ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİSİ**

Özge FIRAT

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Ferit KARGIN

Yıl: 2016, Sayfa 101

Jüri : Prof. Dr. Ferit KARGIN

: Prof. Dr. Bedii CİCİK

: Doç. Dr. Özcan AY

: Doç. Dr. Fatma ÇEVİK

: Yrd. Doç. Dr. Mehmet SULANÇ

Sunulan çalışmada *Oreochromis niloticus*'un dokularındaki cıva birikimi ve glutatyon ile ilişkili enzim sistemleri üzerine cıva toksisitesi ve bu toksisite üzerine selenyum ve zeolit olası koruyucu etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla balıklar 0.01 ve 0.1 mg/L Hg; 0.01 mg/L Hg+0.1 mg/L Se, 0.1 mg/L Hg +1.0 mg/L Se ve 0.01 mg/L Hg + 0.1 g/L zeolit, 0.1 mg/L Hg+1.0 g/L zeolit derişimlerinin etkisine 7 ve 21 gün süreler ile bırakılmış ve solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki cıva birikimi, glutatyon (GSH) düzeyi ve glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR) enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

İncelenen tüm dokularındaki Hg birikiminin hem cıvanın tek başına hem de cıva+ selenyum ve cıva+ zeolit karışımlarının etkisinde ortam derişiminin artışı ve sürenin uzamasına bağlı olarak arttığı saptanmıştır. Dokulardaki cıva birikiminin Hg+Se ve Hg+zeolit karışımlarında cıvanın tek başına etkisine oranla önemli bir şekilde azaldığı saptanmıştır. Araştırmamız selenyum ve zeolit cıva toksisitesi üzerine koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Cıvanın tek başına ve cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde GSH düzeyleri ve GSH ile ilişkili enzimlerin aktivitelerinde dokulara, ortam derişimlerine ve etki süresine bağlı olarak önemli değişimlerin meydana geldiği belirlenmiştir. Solungaç ve karaciğerde GSH düzeyi ve GR aktivitesi azalma, GPx ve GST aktiviteleri ise artış göstermiştir. Kasta ise GST dışındaki parametrelerde önemli bir değişim gözlenmemiştir. İncelenen tüm parametreler üzerine tek başına cıva etkisinin selenyum ve zeolit ile birlikte etkisine göre daha yüksek ve kimyasalların etkilerinin Hg>Hg+Zeolit>Hg+Se şeklinde olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Oreochromis niloticus*, Cıva, Selenyum, Zeolit, Glutatyon, Glutatyonla İlişkili Enzimler

ABSTRACT

PhD THESIS

MERCURY ACCUMULATION AND ITS EFFECTS ON GSH-RELATED ENZYME ACTIVITIES IN TISSUES OF *Oreochromis niloticus* EXPOSED TO MERCURY, MERCURY-SELENIUM AND MERCURY-ZEOLITE MIXTURES

Özge FIRAT

**ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOLOGY**

Supervisor : Prof. Dr. Ferit KARGIN
Year: 2016, Pages: 101
Jury : Prof. Dr.Ferit KARGIN
: Prof. Dr. Bedii CİCİK
: Assoc. Prof. Dr. Özcan AY
: Assoc. Prof. Dr. Fatma ÇEVİK
: Asst. Prof. Dr. Mehmet SULANÇ

In present study, it was investigated mercury (Hg) toxicity on glutathione-related enzyme systems and Hg accumulation in tissues of *Oreochromis niloticus* and possible protective effects of selenium (Se) and zeolite on this toxicity. For this purpose fish were exposed to 0.01 and 0.1 mg/L Hg; 0.01 mg/L Hg+0.1 mg/L Se, 0.1 mg/L Hg +1.0 mg/L Se and 0.01 mg/L Hg + 0.1 g/L zeolite, 0.1 mg/L Hg+1.0 g/L zeolite for 7 and 21 days and Hg accumulation, glutathione (GSH) level and activities of glutathione peroxidase (GPx), glutathione -S-transferase (GST) and glutathione reductase in gill, liver and muscle tissues were determined.

Hg accumulation in tested all tissues elevated with increasing exposure periods with increasing medium concentrations of Hg alone, Hg+Se and Hg+zeolite mixtures. Hg accumulation in tissues significantly reduced in Hg+Se and Hg+zeolite mixtures than in exposure of Hg alone.

Significant alterations in GSH level and GSH-related enzymes activities in exposure of Hg alone, Hg+Se and Hg+zeolite mixtures were observed due to tissues, medium concentrations and exposure periyod. In gill and liver tissues GSH level and GR activity reduced while GPx and GST activities increased. In muscle it was not observed a significant change in other parameters except for the GST. The effect of Hg alone on analyzed all parameters were always higher than in combination with Se and zeolite and the order of their effects found Hg > Hg+zeolite > Hg+Se.

Our study showed that selenium and zeolite have a protective effect against toxicity induced by Hg.

Keywords: *Oreochromis niloticus*, Mercury, Selenium, Zeolite, Glutathione, Antioxidan Enzymes

TEŞEKKÜR

Sadece Doktora Tez çalışmalarım esnasında değil her zaman büyük destek ve ilgisini gördüğüm, bilimselliğini ve çalışma azmini örnek aldığım ve kendileriyle çalışmaktan onur duyduğum değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ferit KARGIN'a içtenlikle teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarında bana yardımcı olan Sayın Doç.Dr. Hikmet Y. ÇOĞUN, Yrd.Doç.Dr. Hasan KARADAĞ, Öğr.Gör.Dr. Tüzün AYTEKİN, Uzman Biyolog Hazal S. VARKAL ve Uzman Biyolog Burcu YEŞİLBUDAK'a çok teşekkür ederim.

Şuanda yanımda olmayan ama her zaman yanımda hissettiğim ve kendisini her an çok özlediğim canım babam Hüseyin ÖZDİŞ'e ve benden sevgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen canım annem Ayten ÖZDİŞ'e, ablam Özlem YILDIZ'a, kardeşim Hasan ÖZDİŞ'e ve sevimli yeğenim Ekin YILDIZ'a çok teşekkür ederim.

Tanıştığımız ilk günden beri yaşamımı renklendiren, hayatıma anlam katan, eşsiz sevgisi ve desteğiyle beni onurlandıran sevgili eşim Özgür FIRAT'a ve yeryüzündeki en değerli varlığım biricik oğlum Deniz Mert FIRAT'a sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonuna da tez çalışmamızı maddi olarak desteklediği için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGE DİZİNİ.....	VI
ŞEKİL DİZİNİ.....	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Materyal.....	21
3.1.1. DeneYlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	21
3.1.2. DeneYlerde Kullanılan Cihazlar.....	22
3.2. Yöntem.....	22
3.2.1. Doku Örneklerinin Alınması ve Biyokimyasal Analizler..	22
3.2.1.1. Homojenatların Hazırlanması.....	24
3.2.1.2. GPx Yöntemi.....	24
3.2.1.3. GST Yöntemi.....	26
3.2.1.4. GR Yöntemi.....	27
3.2.1.5. GSH Yöntemi.....	29
3.2.1.6. Protein Yöntemi.....	31
3.3. İstatistik.....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Cıva Birikimi.....	33
4.2. GSH Düzeyi.....	41
4.3. GSH ile İlişkili Enzim Aktiviteleri.....	47
4.3.1. GPx Aktivitesi.....	47
4.3.2. GST Aktivitesi.....	53
4.3.3. GR Aktivitesi.....	59

5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	67
KAYNAKLAR.....	83
ÖZGEÇMİŞ.....	101

ÇİZELGE DİZİNİ	SAYFA
Çizelge 3.1	Glutasyon Peroksidaz Yöntemi..... 25
Çizelge 3.2	Glutasyon S-Transferaz Yöntemi..... 27
Çizelge 3.3	Glutasyon Redüktaz Yöntemi..... 28
Çizelge 3.4	Glutasyon Yöntemi..... 30
Çizelge 3.5	Protein Yöntemi..... 31
Çizelge 4.1	7 gün süreyle cıva etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g k.a.}$)..... 34
Çizelge 4.2	21 gün süreyle cıva etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g k.a.}$)..... 34
Çizelge 4.3	7 gün süreyle cıva ve cıva + selenyum karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g k.a.}$)..... 35
Çizelge 4.4	21 gün süreyle cıva ve cıva + selenyum karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g k.a.}$)..... 35
Çizelge 4.5	7 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g k.a.}$)..... 38
Çizelge 4.6	21 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g k.a.}$)..... 39
Çizelge 4.7	7 gün süreyle cıva ve cıva + selenyum karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GSH düzeyi ($\mu\text{mol/g protein}$)..... 42
Çizelge 4.8	21 gün süreyle cıva ve cıva + selenyum karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GSH düzeyi ($\mu\text{mol/g protein}$)..... 42

Çizelge 4.9	7 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GSH düzeyi (µmol/g protein).....	45
Çizelge 4.10	21 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GSH düzeyi (µmol/g protein).....	45
Çizelge 4.11	7 gün süreyle cıva ve cıva + selenyum karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GPx aktivitesi (U/mg protein).....	48
Çizelge 4.12	21 gün süreyle cıva ve cıva + selenyum karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GPx aktivitesi (U/mg protein).....	48
Çizelge 4.13	7 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GPx aktivitesi (U/mg protein).....	51
Çizelge 4.14	21 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GPx aktivitesi (U/mg protein).....	51
Çizelge 4.15	7 gün süreyle cıva ve cıva + selenyum karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GST aktivitesi (U/mg protein).....	54
Çizelge 4.16	21 gün süreyle cıva ve cıva + selenyum karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GST aktivitesi (U/mg protein).....	54
Çizelge 4.17	7 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GST aktivitesi (U/mg protein).....	57
Çizelge 4.18	21 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GST düzeyi (U/mg protein).....	57

Çizelge 4.19	7 gün süreyle cıva ve cıva + selenyum karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GR aktivitesi (U/mg protein).....	60
Çizelge 4.20	21 gün süreyle cıva ve cıva + selenyum karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GR aktivitesi (U/mg protein).....	60
Çizelge 4.21	7 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GR aktivitesi (U/mg protein).....	63
Çizelge 4.22	21 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki GR aktivitesi (U/mg protein).....	63

ŞEKİL DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1	Zeolit molekülünde kation değişimi.....	5
Şekil 3.1	Standart protein grafiği.....	32
Şekil 4.1	Cıva ve cıva + selenyum ortam derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki cıva birikimi üzerine sürenin etkisi.....	37
Şekil 4.2	Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) ortam derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki cıva birikimi üzerine sürenin etkisi	40
Şekil 4.3	Cıva ve cıva + selenyum ortam derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GSH düzeyi üzerine sürenin etkisi	43
Şekil 4.4	Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) ortam derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GSH düzeyi üzerine sürenin etkisi.....	46
Şekil 4.5	Cıva ve cıva + selenyum ortam derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GPx aktivitesi üzerine sürenin etkisi.....	49
Şekil 4.6	Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) ortam derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GPx aktivitesi üzerine sürenin etkisi.....	52
Şekil 4.7	Cıva ve cıva + selenyum ortam derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GST aktivitesi üzerine sürenin etkisi.	55
Şekil 4.8	Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) ortam derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GST aktivitesi üzerine sürenin etkisi.....	58
Şekil 4.9	Cıva ve cıva + selenyum ortam derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GR aktivitesi üzerine sürenin etkisi.....	61

Şekil 4.10 Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GR aktivitesi üzerine sürenin etkisi..... 64

SİMGELER VE KISALTMALAR

g	: Gram
L	: Litre
µg	: Mikrogram
Hg	: Cıva
Se	: Selenyum
GSH	: Redükte Glutasyon
GSSG	: Okside Glutasyon
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GST	: Glutasyon S-Transferaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
CAT	: Katalaz
SOD	: Süperoksit Dismutaz
MT	: Metallothionein
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetikasit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit

1. GİRİŞ

Çeşitli kirleticiler tarafından tatlı su ortamlarının kirletilmesi, sadece içme suyunun kalitesinin bozulmasına değil aynı zamanda akuatik yaşamın da zarar görmesine neden olmaktadır. Günümüzde sucul ekosistemleri ve buralarda yaşayan organizmaları tehdit eden en büyük sorunlardan biri gerek doğal gerekse antropojenik kaynaklardan su ortamlarına giren ve her geçen gün derişimi artan ağır metallerdir. Yeryüzünde belirlenmiş olan en toksik 20 maddeden beşini Hg, Cd, Cr, Pb ve As gibi ağır metaller oluşturmaktadır (ATSDR, 2006). Ağır metaller için son alıcı ortamlar olan sucul ekosistemlerdeki kirlilik, yalnız bu ortamların değil besin zinciri yoluyla insana kadar birçok canlının etkilenmesine neden olacağından akuatik ekosistemlerin kontrolü oldukça önemlidir.

Akuatik organizmalar sucul habitatlardaki ekolojik çeşitlilikleri ve ekonomik önemleri nedeniyle çevresel kirliliğin değerlendirilmesinde geniş çapta kullanılmaktadırlar. Bu organizmaların toksisite testlerinde kullanımı sucul ekosistemlerin korunmasında da yararlıdır. Sucul organizmalar arasında balıklar ağır metal kirliliğinden en çok etkilenen canlı grubudur. Balıklar akuatik ortamın kalitesinin değerlendirilmesinde ve çevresel kirliliğin belirlenmesinde biyoindikatör türler olarak geniş çapta kullanılmaktadırlar (Dautremepuits ve ark., 2004). Metaller ekosistemin önemli bir bileşeni olan balıkların hücresel mekanizmalarını hasara uğratabilmektedir (Basha ve Rani, 2003).

Balıklar su ortamlarının kirlenmesine çok duyarlı canlılardır. Bu nedenle kirleticiler balıklar tarafından alındığında birçok fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmalarında hasarlara neden olabilmektedirler (Storm ve ark., 2000). Balık dokularındaki ağır metal birikimleri birincil dereceden besin kaynaklarını oluşturdukları insanlar içinde tehlikelidir. Ağır metallerin etkisindeki balıklarda biyokimyasal parametrelerin analizi hem organizmanın genel sağlık durumu hem de hedef organda oluşturabileceği toksik etkinin belirlenmesinde yararlı olmaktadır (Agrahari ve ark., 2007). Bu aynı zamanda stres altındaki organizmalarda erken uyarıcı sistemler olarak da rol oynamaktadır (Folmar, 1993).

Ağır metaller organizmadaki biyolojik rollerine göre genel olarak 3 gruba ayrılabilir; organizma için düşük düzeyde gerekli elementler (Cu, Fe, Zn, Co gibi), organizma için gerekli olabilen elementler (Ni, Si, Sn gibi), organizma için çok düşük düzeylerde bile toksik olan elementler (Hg, Pb, Cd, As gibi). Ağır metaller sucul ortamdaki en önemli kirleticilerden olup balıklar tarafından solungaç, bağırsak ve deri yoluyla alınmakta, metabolik olarak aktif doku veya organlarda birikmekte, moleküler ve hücresel düzeyde önemli hasarlara hatta ölümlere neden olabilmektedirler.

Balıklarda solungaçlar solunum, osmoregülasyon, asit-baz dengesi ve azotlu atıkların atılması gibi önemli fonksiyonları yerine getiren çok fonksiyonlu bir organdır (Pandey ve ark., 2008). Solungaçların suda az olan oksijeni almak için geniş bir yüzey alanı oluşturması ve ters akım prensibi gibi adaptasyon mekanizmaları aynı zamanda kirleticilerin de alımını kolaylaştırmaktadır. Vücuda giren metaller kan yoluyla metabolik olarak aktif olan dokulara yönlendirilmekte ve burada birikmektedirler. Önemli bir detoksifikasyon merkezi olan karaciğer dokusu metallothioneinler aracılığıyla metallerin yüksek konsantrasyonlarda birikim gösterdiği bir dokudur. Balık kası metal birikimi yönünden aktif bir doku olmamakla birlikte insanların besinini oluşturması bakımından önemlidir.

Cıva (Hg) yeryüzünde doğal olarak bulunan toksik bir metaldir. Erozyon ve volkanik patlamalar gibi doğal ve/veya endüstriyel ve tarımsal kullanımına bağlı olarak antropojenik kaynaklarla akuatik ekosistemlere girmektedir (Tchounwou ve ark., 2003). Hg'nin, midye gibi sucul organizmaların gemilerin tekne kısmına zarar vermelerini önlemek için gemi boyama işleminde, fungusit olarak tarımda, ilaç endüstrisinde, kağıt hamurunda ve boyacılık gibi birçok yaygın kullanım alanları vardır. Hg tüm canlılar üzerine oldukça zararlı etkileri olan küresel bir kirletici olarak kabul edilmektedir. Küresel bir sorun olmasının ana nedenleri biyolojik bulunurluğu ve biyobirikiminin yüksek, lipofilik karakterli, hücresel toksiteye sahip, vücutta parçalanamaması ve uzaklaştırılmasının zor olmasından kaynaklanmaktadır (Yang ve ark., 2010).

Hg, özellikle de organik Hg (metilcıva), insanlarda iyi bilinen bir nörotoksindir. Hg'nin neden olduğu en önemli sağlık sorunları; nörolojik problemler,

kalp krizi riski, otizm, alzheimer, böbrek hasarları, gastrointestinal hastalıklar ve ülserdir (Tchounwou ve ark., 2003). Organik cıva, beyin kan bariyerini geçerek beyne, plasentadan da geçerek fetüse ciddi zararlar verebilen bir metaldir. Bu nedenle geçmişten günümüze kadar üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Organizmada herhangi bir biyolojik rolü bulunmayan Hg çok düşük düzeylerde bile toksik etkisini gösterebilmektedir.

Hg'nin balıkları da içeren sucul organizmalar için tehlikeli bir çevresel kirletici olduğu çok iyi bir şekilde bilinmektedir. Hg birçok balık türünde birikim göstererek böbrek ve karaciğer lezyonlarına, endokrin bozukluklarına ve merkezi sinir sistemindeki hücrelerin membranlarında değişikliklere neden olmaktadır (Lliopoulou-Georgudaki ve Kotsanis, 2001). Akuatik ortamlardaki Hg'nin artan düzeyleri bu metalin balıkların dokularında ve üst trofik düzeylerdeki tüketicilerde birikiminin artmasına neden olmaktadır (Gilbertson ve Carpenter, 2004) Balıklar Hg'yi doğrudan su ve besin yoluyla almakta ve metabolik olarak aktif organlarında biriktirmektedirler. Kaynağı genellikle inorganik cıva olmakla birlikte balıklardaki Hg birikimi metilcıva şeklinde daha yaygın olmaktadır. Genel olarak karnivor beslenen organizmalar karnivor olmayanlara göre daha fazla Hg biriktirmektedirler (Watras ve Huckabee, 1994).

Hg'nin aksine selenyum (Se) canlılar için gerekli bir iz elementtir. Se'nin önemli fonksiyonları, hücre büyümesi ve tiroid hormon metabolizmasındaki rollerine ve antioksidan özelliklerine atfedilmektedir (Rayman 2002; Kryukov ve ark., 2003). Selenyum selenite, selenate, selenomethionin ve selenosistein gibi çeşitli biçimlerde bulunmakta ve glutatyon peroksidaz, iodothyronin 5'-deiosinaz ve thioredoksin reduktaz gibi çeşitli enzimlerin yapısında yer aldığından başta insan olmak üzere birçok canlı organizma için önemli bir element olarak düşünülmektedir (Su ve ark., 2008). Selenyum insanlarda ve diğer hayvan türlerinde birçok biyolojik fonksiyona sahiptir. Se'nin bazı önemli biyolojik aktiviteleri şunlardır: organizmaların normal büyüme ve gelişimleri için bu elementin iz derişimlerine gereksinim duyulmaktadır(1), homeostatik işlevlerin korunmasında ve sürdürülebilirliğinde görevlidir(2), güçlü bir antioksidan ve antikanser özelliğe sahiptir(3), immün sistem için gereklidir(4) (Combs ve Lu, 2001; Hamilton, 2004).

Se canlı vücudunda birkaç element ile etkileşime girebilmektedir. Bu etkileşimler antogonistik ve sinerjik etkiler şeklinde oluşmaktadır (Hamilton, 2004). Se, Hg'i de içeren çeşitli ağır metallerin toksik etkilerine karşı detoksifiye edici bir etkiye sahiptir (Diplock ve ark., 1986). Se ile Hg arasındaki etkileşimler belki de çevresel kirleticiler arasında en iyi çalışılan ve mekanizmanın aydınlatılması için üzerinde birçok çalışmanın yapıldığı bir metal etkileşimidir (Heinz ve Hoffman, 1998). Se'nin Hg'nin toksik etkilerini azaltıcı etkisi balık, kuş ve memeliler gibi birçok canlı gruplarında gösterilmiştir (Beijer ve Jernelov, 1978; Culvin-Aralar ve Furness, 1991). Se'nin Hg'ye olan yüksek ilgisi bu elementlerin seçici olarak birbirine bağlanmasını ve Hg'nin bu şekilde hareketsiz formda tutulmasıyla dokularda yapacağı zararlı etkilerini önlemektedir (Moller-Madsen ve Danscher, 1991). Se ve Hg arasındaki etkileşimler biyokimyasal ve toksikolojik süreçlerin çeşitli aşamalarında olabilmektedir. Se'nin balıklarda ve diğer canlılarda, Hg'ye bağlanarak, biyolojik bulunurluğunu azaltarak, toksik etkilerini önleyerek yada iyileştirerek koruyucu etkisini gösterdiği birçok araştırmacı tarafından belirtilmektedir (El-Demerdash, 2001; Cogun ve ark., 2012).

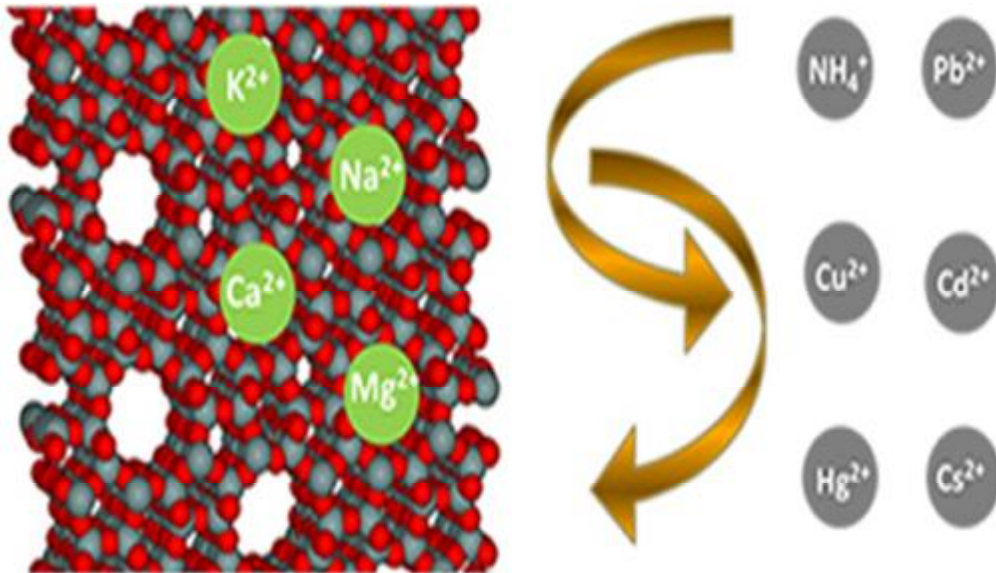
Su ortamlarından ağır metal katyonlarının uzaklaştırılmasında, kimyasal presipitasyon, adsorpsiyon, solvent ekstraksiyonu, ters ozmoz, ultrafiltrasyon yada iyon değiştirme gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Fergusson, 1990). Zeolitler iyon değiştirme yöntemlerinde en sık kullanılan minerallerdir (Keane, 1998). Zeolitler moleküler elek olarak bilinen mikro gözenekli katı madde ailesinin alümina silikat üyesi olarak ifade edilmektedir (Mishra ve Jain, 2011).

Zeolitler çevrede düzenleyici etkisi olan minerallerdir. Bunlar evsel ve endüstriyel atık suların arıtılmasında, nükleer atık arıtımında ve diğer bazı uygulamalarda geniş çapta kullanılmaktadır (Mishra ve Jain, 2011). Zeolitler 1954 yılından itibaren endüstride ayırma ve arıtma işlemlerinde adsorbant olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu özelliklerinden dolayı da günümüzde birçok alanda çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Zeolitler, kağıt dolgu maddesi, çimento üretimi, gübre, hayvan yemi katkı maddesi, antimikrobiyal malzeme, baca gazı temizlenmesi, petrol ürünlerinin üretimi, petrol sızıntılarının temizlenmesi, güneş enerjisinin depolanması, iyon değişim uygulamaları, radyoaktif atıkların ve atık

suların temizlenmesi, akuakültür uygulamaları gibi bir çok alanlarda kullanılmaktadır (Mumpton, 1999; Aybal, 2001; Kibaroğlu, 2008).

Ağ şeklindeki kristal kafes yapısıyla geniş bir alana sahip olan zeolitler, çeşitli gazları, ağır metalleri, petrokimyasalları, düşük düzeyli radyoaktif elementleri absorblayıcı yada adsorplayıcı özelliği olan bir maddedir (Mishra ve Jain, 2011). Doğal bir mineral olup volkanik küller ve deniz suyu kombinasyonunda binlerce yılda oluşmaktadır (Mishra ve Jain, 2011). Doğal ve yapay olmak üzere birçok çeşidi vardır. Klinoptilolit, kabazit, analsim ve heulandit doğal zeolitler iken sentetik olanlardan önemlileri Zeolit A, X, Y ve ZMS-5'tir (Virta, 2006).

Isıtıldığında patlayarak dağılması nedeniyle "kaynayan taş" da denen zeolitler ilk defa İsveçli araştırmacı Frederic Cronstedt tarafından 18. yy'da mineral olarak tanımlanmıştır. Genel formülü $M_{2/n}O \cdot Al_2O_3 \cdot xSiO_2 \cdot yH_2O$ olmasına rağmen yapılarındaki Si/Al oranları ve kation türleri ve miktarları farklılık gösterebilmektedir (Mumpton ve Fishman, 1977). Burada M genellikle Na, K, Ca, Mg'dir. Zeolit yapısındaki Na^+ , K^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonları değişebilir iyonlar olarak bilinmektedir. Bu iyonlar, aluminosilika yapısını bozmadan, sulu solüsyonlardaki diğer kationlar ile kolayca yer değiştirebilmektedir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Zeolit molekülünde kation değişimi (<http://www.gordeszeolite.com/zeolit>)

Zeolitler üç boyutlu mikro gözenekli yapısı sayesinde oluşan boşluk hacmi toplam hacmin yaklaşık %50'sine kadar tekabül edebilmekte ve boşluğun yapısına ve büyüklüğüne bağlı olarak Cs^+ , Rb^+ , NH_4^+ , Sr^+ , Mg^{+2} , Na^+ , Al^{+3} , Ca^{+2} , Fe^{+2} , Hg^{+2} , Cd^{+2} , Pb^{+2} gibi element ve molekülleri seçici şekilde boşluklarında tutabilmektedirler. Bu özellikleri nedeniyle moleküler elek olarak ifade edilen zeolitler ticari adsorbant ve absorbant olarak kullanılmaktadırlar (Mumpton, 1999).

Zeolitler yüksek iyon-değiştirme kapasitelerinden dolayı sucul organizmalarda ağır metal toksisitesini önlemek için geniş bir şekilde kullanılmaktadırlar (Papaioannou ve ark., 2005). Zeolitler tarafından metal iyonlarının su ortamından uzaklaştırılmasını etkileyen faktörler arasında sıcaklık, pH, yarışmacı katyon yada kompleks yapıcı ajanların varlığı, zeolitin kanal hacmi yada yüzey alanını etkileyen etmenler sayılabilir (Colella, 2007).

Yapılan bir çok çalışmada zeolitlerin atık sulardan sezyum ve stronyum radio-izotopları (Hafez ve ark., 1978), amonyumu (Kesraoui-Ouki ve ark., 1994) ve ağır metalleri (Cerjan-Stefanovi ve ark., 1992) uzaklaştırdığı belirtilmiştir. En çok çalışılan doğal zeolit olan klinoptilolitin Hg^{+2} , Cu^{+2} , Cd^{+2} , Zn^{+2} ve Pb^{+2} gibi metal iyonlarına karşı yüksek seçicilik ve ilgiye sahip olduğu belirtilmiştir (Curkovic ve ark., 1997).

Zeolitler, maliyeti düşük olmasından ve katyon değiştirme yeteneklerinden dolayı özellikle sulardaki ağır metallerin giderilmesinde kullanılmaktadır (Orihuela ve ark., 2005). Ağır metaller ve zeolitler arasındaki etkileşimler genel olarak iyon değiştirme ve metal iyonlarını adsorplama şeklinde olmaktadır (Tepe ve ark., 2004). Bu etkileşimler nedeniyle zeolitler serbest metal bulunabilirliğini azaltarak metallerin balıklara yapacağı olumsuz etkiyi engellemektedir. Zeolitler yüksek iyon değiştirme kapasiteleri nedeniyle sulardaki metalleri (Hg^{+2} , Cu^{+2} , Cd^{+2} , Pb^{+2}), amonyumu (NH_4^+) ve radyoaktif iyonları (Cs^{+2} , Sr^{+2}) uzaklaştırabilmektedir.

Biyolojik sistemlerdeki toksikantların neden olduğu değişiklikleri gösteren biyomarkırlar, çevresel kirlilik ile etkileri arasındaki ilişkiyi göstermekte ve böylece ekosistemin sağlıklı bir durumda olup olmadığı durumuyla ilgili önemli bilgilere ulaşmamızı sağlayabilmektedir (Maria ve ark., 2009). Çoğu çevresel kirleticiler ve onların metabolitleri akuatik organizmalarda oksidatif stres oluşturma

yeteneğindedir. Metaller, balıklarda hidrojen peroksit, hidroksil ve süperoksit radikalleri gibi serbest oksijen türlerini (ROT) oluşturarak oksidatif strese neden olabilmektedirler (Dautremepuits ve ark., 2002). Oksidatif stres, oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki denge bozulduğunda ortaya çıkmaktadır. Balıklarda kirleticilere karşı oluşan antioksidan sistemler önemli savunma mekanizmalarıdır. Antioksidanlar hücrel homeostazinin korunmasında hayati bir rol oynamakta ve bu savunma sisteminin engellenmesi durumunda DNA hasarı, proteinlerin oksidasyonu, enzimlerin inhibisyonu ve lipid peroksidasyonu gibi hücrel hasarlara neden olan oksidatif stres oluşmaktadır. ROT'ların neden olduğu hasarı önlemek için balıklar genellikle glutatyon (GSH) gibi enzimatik olmayan serbest radikal temizleyicileri yada glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-tranferaz (GST), glutatyon reduktaz (GR), süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin düzeylerini artırarak bunlarla mücadele etmektedirler (Guilherme ve ark., 2008). Bu nedenle antioksidan savunma mekanizmalarındaki değişiklikler kirleticilerin etkisini ve/veya toksitesini gösterdiğinden akuatik ekosistemlerin izlenmesinde yararlı biyomarkırlar olarak ifade edilmektedir (Gül ve ark., 2004; Yıldırım ve ark., 2011). Antioksidanlar deniz ve tatlı su organizmalarındaki mevsimsel olarak oluşan oksidatif stresin yada kirleticilerin biyomarkırları olarak önerilmekte ve bu sistemin aktivasyonun kirleticilere karşı bir tepki sonucu oluştuğu belirtilmiştir (Borkovic ve ark., 2005).

Glutatyon, balıklardaki en önemli antioksidan sistemlerden biridir (Zirong ve Shijun, 2007). Bu sistemde, GSH bir kofaktör olarak GST yada Se bağlı GPx yoluyla peroksitleri uzaklaştırarak (Hayes ve Mclellan, 1999), serbest radikallerin enzimatik olmayan redüksiyonu (Potter ve Hinson, 1987) ya non-enzimatik olarak yada GST aracılığıyla ksenobiyotiklerin konjugasyonu (Ketterer ve Meyer, 1989) gibi çeşitli yollarla balıkları oksidatif hasara karşı korumaktadır (Zirong ve Shijun, 2007). GSH düzeyleri, çeşitli enzimler tarafından regüle edilmektedir fakat esas olarak, GSH sentez oranı (glutamat;sistein lipaz, γ -glutamilsistein sentetaz enzimi), konjugasyon oranı (GST ile), oksidasyon oranı (non enzimatik olarak yada GPx ile) ve GSSG'nin GSH'a indirgenmesi (GR ile) arasındaki dengeye bağlıdır (Peña-Llopis ve ark., 2003).

GSH ve onunla ilişkili enzimler (GPx, GR, GST gibi) hücre içinde koruyucu bir rol oynamaktadır (Elia ve ark., 2003). Gerçektende kendiliğinden yada GST'nin katalizlediği reaksiyonla bir ksenobiyotiğe GSH'ın konjugasyonu ksenobiyotiğin aksiyonunu azaltabilmekte bu moleküllerin suda daha çok çözünmesini sağlayarak hızlı bir şekilde vücuttan atılmasına neden olabilmektedir (Boyland ve Chasseaud, 1969). GR, GSH'ın rejenarasyonunda GPx ile işbirliği halindedir. Hücrelerde GSH'ın antioksidan rolü konsantrasyonuna, dönüşümüne ve sentezlenme oranına bağlıdır (Potter ve Tran, 1993). GSH'ın dönüşümü GSH'ın redoks döngüsü ile olmaktadır. Bu süreçte GPx ve GR gibi enzimler önemli rol oynamaktadır (Zirong ve Shijun, 2007).

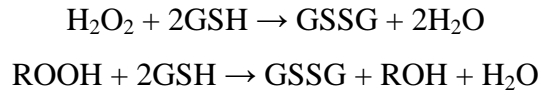
GSH, tüm hayvan hücrelerinde sentezlenen bir tripeptid olup, önemli hücreyel indirgeyici ajan olarak ifade edilmektedir. Hücrede glutatyon %98'i, indirgenmiş formda (GSH) bulunur (Orihuela ve ark., 2005). GSH doğrudan yada dolaylı olarak birçok önemli fizyolojik fonksiyonlarda rol almaktadır. Bunların arasında protein ve DNA sentezi, amino asit transportu, tiyol- disülfid durumunun korunması, serbest radikal temizleyicisi, sinyal iletimi, çeşitli enzimlerin kofaktörü olarak, sisteyinin toksik olmayan depo formu olarak, okside edici moleküllere ve potansiyel olarak tehlikeli ksenobiyotiklere karşı savunma görevi görmesi gibi görevler sayılabilir (Sen ve Packer, 1996; Cooper ve Kristal, 1997).

Organizma için gerekli yada toksik metallerin hücre içi kaderi güçlü bir şekilde GSH gibi tiyol içeren moleküllere bağlıdır (Foulkes, 1993). GSH ksenobiyotikler, oksiradikaller ve metal katyonlarının toksik etkilerine karşı hücreyel savunmada önemli rol oynamaktadır (Segner ve Braunbeck, 1998) Sülfidril bakımından zengin bir tripeptid olan GSH metal alınımları ve atılımları oranlarını değiştirerek, hücre içi metal şelatörü gibi davranarak, metallerin neden olduğu reaktif oksijen türlerini temizleyerek toksik metal iyonlarının etkilerini engelleyebilmektedir (Sugiyama, 1994; Fırat ve ark., 2009).

Antioksidan savunma sistemleri arasında GSH ile ilişkili enzimler önemli bir yer tutmaktadır (Cnubben ve ark., 2001). Bu enzimlerden en önemlileri GPx, GR ve GST olup prooksidan durumlarda çeşitli çevresel kirleticiler tarafından indüklenmektedirler. Başlangıçta oksidatif stresle başa çıkmak için aktiviteleri

artarken süreye bağlı olarak aktiviteleri düşmektedir ve bu da temel biyolojik moleküllerde oksidatif hasara yol açmaktadır (Bebianno ve ark., 2005). Birçok çalışma bu antioksidan enzim aktivitesindeki değişikliklerin çeşitli akuatik organizmalarda kirleticilerin etkilerini belirlemek için yararlı biyokimyasal belirteçler olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Orbea ve ark., 2002; Regoli ve ark., 2004). Dokulardaki GSH düzeylerinin regülasyonundan sorumlu GSH ile ilişkili enzimler, başta balıklar olmak üzere ağır metal etkisindeki birçok canlı gruplarında incelenmiştir (Canesi ve ark., 1999; Elia ve ark., 2003). Bu çalışmalarda GSH'ın redüktaz ve peroksidaz enzim aktiviteleri için önemli olduğu belirtilmiştir.

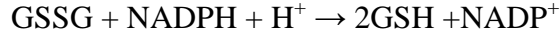
Bu enzimlerden biri olan glutatyon peroksidaz (GPx), antioksidan savunma ve redoks regülasyonuna katılan selenyum-bağlı bir enzimdir. GPx yapısında 4 selenyum atomu içeren tetramerik yapıda sitozolik bir enzim olup hem hidrojen peroksitleri hem de hidroperoksitleri indirgeyerek serbest radikaller ve oksidatif hasara karşı etkin bir koruma sağlamaktadır (Regoli ve Principato, 1995). Katalizlediği reaksiyonlar aşağıda verilmiştir.



Yukarıdaki reaksiyonlarda da görüleceği gibi GPx aktivitesindeki bir azalma, hidrojen peroksit birikimine ve lipid peroksidasyonuna yol açarak membran bütünlüğünün bozulmasına ve hücre hasarına yol açabilmektedir (Ralston ve Raymond, 2010). Bu nedenle GPx, hem lipid peroksidasyonun oluşumunu önlemede hemde lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksitlerin metabolizmasında önemli roller oynamaktadır.

Glutatyon redüktaz (GR), bir flavoprotein olup GSH düzeylerinin korunmasında rol oynayan bir antioksidan enzimdir (Pena-Llopis ve ark., 2001). Glutatyonun indirgenmiş halde kalması GPx ve katalaz gibi birçok antioksidan enzim aktivitesi için önemlidir. GR, GPx tarafından hidroperoksitlerin indirgenmesi ile ortaya çıkan okside glutatyondan (GSSG) yeniden indirgenmiş glutatyon (GSH)

oluşumunu katalizler. Katalizlediği reaksiyon aşağıda olup GSSG'nin indirgenmesi için pentoz yolunda oluşan NADPH'ı kullanmaktadır:



GSH ile ilişkili başka bir enzim grubu olan glutatyon-S-transferazlar (GST), ksenobiyotiklerin GSH ile konjugasyonunu sağlayarak detoksifikasyon işlemlerinde rol alan bir multienzim ailesidir (Pena-Llopis ve ark., 2001). Bu enzim özellikle lineolat ve araşidonik hidroperoksitleri asit başta olmak üzere lipit peroksitlere karşı Se-bağlı olmayan GPx aktivitesi ile antioksidan savunma yanıtı oluşturur. Katalizlediği reaksiyon aşağıdaki gibidir:



Organizmaya dışarıdan alınan yada biyotransformasyon reaksiyonlarıyla ortaya çıkan zararlı bileşikler, ya GSH ile konjuge olarak yada GST tarafından katalizlenen reaksiyonlar sonucunda suda çözünen merkaptürik asit türevlerine dönüştürülerek vücuttan uzaklaştırılır (Sherratt ve Hayes, 2002). Böylelikle GST konjugasyon mekanizmasıyla, ksenobiyotiklerin hücrede yapacağı zararlı etkileri önlemektedir (Regoli ve Principato, 1995). Hücre içi GSH düzeyleri GST tarafından GSH'ın ksenobiyotiklere konjugasyonu yada hücrelerden GSH metabolitlerin çıkması sonucu azalabilmektedir (Camera ve Picardo, 2002).

Her geçen gün artan endüstriyel ve tarımsal aktivitelere bağlı olarak sucül ekosistemlerdeki Hg'yı da içeren ağır metal düzeyleri artış göstermektedir. Akuatik organizmalar arasında sucül ekosistemlerin önemli canlı grubu olan ve insanların birinci dereceden besinini oluşturan balıklar Hg kontaminasyonunun önemli hedef organizmalarındandır. Hg'nin balıklardaki birikimi ve toksik etkileri hem bu organizmaları hem de besin zinciri aracılığıyla diğer canlıların sağlığını olumsuz etkileyeceğinden bu metalin toksik etkilerini azaltacak/önleyecek mekanizmalar, ekosistemin sağlıklı işleyişi ve geleceği açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle sunulan bu çalışmada, sudaki metal katyonlarını kafes şeklindeki yapılarında tutarak

serbest metal bulunurluğunu azaltan zeolit ve özellikle de organizmada cıvaya bağlanarak metali hareketsiz formda tutma özelliğinden dolayı Se'nin *O. niloticus*'un dokularındaki Hg birikimi ve bu metalin oksidatif toksitesi üzerine koruyucu etkilerinin saptanması ile cıvanın GSH ve bununla ilişkili enzim aktiviteleri üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Regoli ve Principato (1995) *Mytilus galloprovincialis* türü midyelerin solungaç ve bağırsak dokularındaki glutatyon ve glutatyonla ilişkili enzim aktiviteleri üzerine ağır metallerin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında GSH düzeyinin ve GR ile GPx aktivitelerinin azaldığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, GSH ve onunla ilişkili enzimlerin ağır metallerin etkilerinin biyokimyasal belirteçleri olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Bainy ve ark. (1996) yaptıkları bir alan çalışmalarında kirli ve temiz bölgeden alınan *O. niloticus*'un kan, solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki oksidatif stres parametrelerini araştırmışlardır. Araştırmacılar genel olarak dokularda GSH düzeyinde ve GR aktivitesinde azalış, GPx aktivitesinde ise artış belirlemişlerdir.

Cossu ve ark. (1997) evsel ve endüstriyel atıklarla kirlenen nehirde toplanan *Unio tumidus* türü midyelerin solungaç ve bağırsak dokularındaki GR, GPx aktivitelerini ve GSH düzeylerini saptadıkları çalışmalarında her iki dokuda GR ve GPx aktivitesinin sırasıyla %60 ve %80, GSH düzeyinin ise %70 azaldığını belirlemişlerdir.

Ahmed ve ark. (1998) akuatik ortamlardan ağır metallerin uzaklaştırılmasında zeolitin etkisini araştırdıkları çalışmalarında nikel, bakır, kadmiyum ve kurşunun önemli ölçüde uzaklaştırıldığını ve sıralamanın $Ni > Cu^{+2} > Cd > Pb$ şeklinde olduğunu belirlemişlerdir.

Canesi ve ark. (1999) *M. galloprovincialis* türü midyelerde glutatyon metabolizması üzerine ağır metallerin etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada 1, 4 ve 7 günlük sürelerle Cu ve Hg'nin subletal konsantrasyonların etkisine bırakılan midyelerin solungaç ve bağırsak dokularında glutatyon metabolizmasında önemli değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar metallerin etkisindeki midyelerde azalan GSH sentezine bağlı olarak doku glutatyon düzeylerinin azaldığını bununla birlikte GST aktivitesinde önemli artışların olduğunu gözlemlemişlerdir.

James (2000) *O. mossambicus*'ta hematolojik parametreler üzerine Cd'nin neden olduğu toksik etkileri üzerine zeolitin koruyucu etkilerini araştırdığı çalışmada 45 gün boyunca farklı Cd ve Cd + Zeolit karışımlarının etkisine

bırakılan balıkların hematolojik parametrelerinde Cd'nin tek başına etkisinde meydana gelen olumsuz değişikliklerin zeolit varlığında düzeldiği belirlenmiştir.

El- Demerdash (2001) Hg ve Se'un tek başına ve Hg + Se karışımının 0.5 µmol/mL etkisine 5 gün süreyle bırakılan sığanların dokularındaki enzimatik aktiviteleri araştırmıştır. Hg'nin tek başına etkisinde kan ve karaciğer dokusundaki GST, ALP ve asetilkolin esterase aktiviteleri düşerken AST ve LDH aktivitelerinin arttığı belirlenmiştir. Hg'nin tek başına neden olduğu toksik etkiler, Se'un varlığında düzelme göstermiştir. Araştırmacı cıvanın toksik etkilerine karşı selenyumun antagonistik etkiye sahip olduğunu vurgulamıştır.

Basha ve Rani (2003) 5.0 ppm Cd derişiminin etkisine 30 gün süreyle bırakılan *O. mossambicus*'un karaciğer ve böbrek dokularındaki antioksidan savunma mekanizmalarının araştırıldığı çalışmalarında deney süresi sonunda böbrekte GPx, karaciğerde ise GST aktivitesi önemli düzeyde artış göstermiştir.

Elia ve ark. (2003) 35, 70 ve 140 µg/L Hg'nin etkisine bırakılan *Ictalurus melas*'ın karaciğerinde antioksidan yanıtları ve biyobirikimi araştırdıkları çalışmalarında Hg birikiminde, GPx ve GST aktivitelerinde artış, GSH düzeylerinde azalış ve GR aktivitesinde ise önemli bir değişimin olmadığı belirlenmiştir.

Pandey ve ark. (2003) yaptıkları alan çalışmalarında Yamuna nehrinin (Hindistan) temiz ve kirli bölgelerinde toplanan tatlı su balığı *Wallago attu*'nun karaciğer, solungaç ve böbrek dokularında glutatyon ve glutatyonla ilişkili enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Araştırmacılar genel olarak dokularda GR aktivitesi ve GSH düzeyinde bir artış, karaciğer GPx aktivitesinde ise bir azalış belirlemişlerdir.

Pena-Llopis ve ark. (2003) Avrupa yılan balığı *Anguilla anguilla*'da glutatyon metabolizması üzerine organofosfor insektisit olan dichlorvos etkisini araştırdıkları çalışmalarında pestisit etkisinde karaciğerde GSH düzeyinde, GR ve GST aktivitelerinde azalış belirlemelerine rağmen N-asetilsistein ön muamelesine bırakılan balıklarda pestisit bu biyokimyasal parametreler üzerine etkisinin azaldığı belirlenmiştir.

Inglezakis ve ark. (2004) zeolitlerin katyonlara karşı olan ilgilerini araştırdıkları çalışmalarında kurşun, bakır, demir ve kromu incelemişlerdir. Çalışılan metaller içerisinde zeolitin en az kroma ilgisinin olduğu belirlenmiştir.

Tepe ve ark. (2004) doğal zeolitin, sazan balıklarında kurşun toksitesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; 35 gün boyunca kurşun nitratın subletal derişimlerine maruz kalan sazanlarda zeolitin balıklardaki Pb birikiminde ve zararlı etkilerinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Wang ve ark. (2004) Hg alınımı ve birikimi üzerine farklı Se türlerinin (selenite, selenate ve selenomethionin) etkilerini *Perna viridis* midyesinde araştırmışlar ve selenite ve selenate oranla selenomethionin önemli düzeyde Hg alınımını ve birikimini azaltmıştır. Araştırmacılar ayrıca Hg toksitesi üzerine Se'un koruyucu bir etkiye sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Zhang ve ark. (2004) tatlı su balığı *Carassius auratus*'un karaciğer dokusundaki antioksidan sistemler üzerine 2,4-diklorofenolün etkisini araştırmışlardır. Balıklar 40 gün süreyle farklı ortam derişimlerinin etkisine bırakıldıklarında GPx aktivitesi önemli ölçüde artarken GSH düzeyi azalmıştır. GR ise başlangıçta azalırken sürenin uzamasıyla kontrol düzeylerine gelmiştir. GST ise az bir artış göstermiştir.

Cabanero ve ark. (2005) yaptıkları bir laboratuvar çalışmalarında tek başına Hg ve Hg + Se karışımli yemlerle beslenen tavuklarda Hg birikiminin en fazla böbrek ve karaciğerde olduğunu ancak Se varlığında bu birikimin azaldığını belirlemişlerdir.

Orihuela ve ark. (2005) 7 gün süreyle 30, 60, 120 ve 200 mg/kg Al etkisine bırakılan sığanlarda yüksek derişimlerin etkisinde GSH düzeyinin azaldığını, GST aktivitesinin ise arttığını belirlemişlerdir.

Chaurasia ve Jain (2006) Hg, zeolit ve Hg + zeolit karışımlarının etkisine bırakılan kemikli balık *Heteropneustis fossilis*'in farklı dokularındaki protein düzeylerindeki değişimleri araştırmışlardır. Araştırmacılar Hg'nın protein metabolizması üzerine olan toksik etkilerinin zeolit varlığında önemli ölçüde azaldığını belirlemişlerdir.

Matos ve ark. (2007) 0.25 ve 0.50 mg/L karbarilin 21 gün süreyle etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki biyokimyasal parametreleri incelemişlerdir. Araştırmacılar, karbarilin GR ve GST aktivitelerini azalttığını, GSH düzeyinde ise artışa neden olduğunu belirlemişlerdir.

Türkmen ve ark. (2007) bakır ve bakır+zeolit karışımlarının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğerindeki bakır birikiminin, bakırın tek başına olan etkisine oranla Cu+zeolit etkisine bırakılan balıklarda önemli düzeylerde azaldığı gözlenmiştir. Araştırmacılar zeolitlerin iyon değiştirme yeteneklerinin bir sonucu olarak sudaki bakır derişimini azaltarak dokularda metal birikimini azalttığını vurgulamışlardır.

Zirong ve Shijun (2007) 1, 5, 10, 20 ve 40 günlük sürelerle 3 mg/L Cd etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda glutasyon metabolizmasını incelemişlerdir. Araştırmacılar, GSH düzeyinin önemli ölçüde azaldığını, GPx, GST ve G6PD enzim aktivitelerinin ise başlangıçta arttığını ve sürenin uzamasıyla azaldığını ve kontrol düzeylerine düştüğünü belirlemişlerdir.

Gök ve ark. (2008) *O. niloticus*'un karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki Cu ve Pb birikimleri üzerine EDTA'nın etkisini araştırmışlardır. Cu ve Pb'nin tek başına ve Cu+EDTA ve Pb+EDTA karışımlarının etkisinde dokulardaki metal düzeylerinin önemli olacak şekilde arttığı ancak bu artışların metallerin tek başına etkisinde daha fazla olduğu ve EDTA varlığında Cu ve Pb birikiminin azaldığı belirlenmiştir.

Pandey ve ark. (2008) tatlı su balığı *Channa punctata*'da solungaç dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine Cu + Cd + Ni karışımlarının 7, 15 ve 30 günlük sürelerle etkilerini araştırdıkları çalışmalarında GSH düzeyinin önemli ölçüde azaldığı, GST ve diğer antioksidan enzim aktivitelerinde önemli değişiklikler olduğunu ve buna bağlı olarak da lipid peroksidasyonunun arttığını belirlemişlerdir.

Su ve ark. (2008) sıçan dokularındaki Hg ve oksidatif stres üzerine Se etkisini araştırmışlar. Sıçanlar Hg'nin tek başına Hg + Se karışımının ağız yoluyla etkisine bıraktıklarında böbrek dokusunda Hg birikiminin Se varlığında önemli ölçüde azaldığı ve yine Hg'nin neden olduğu GSH düzeyindeki azalışların Se varlığında normale döndüğü belirlenmiştir.

Talas ve ark. (2008) *Oncorhynchus mykiss*'te Cd ve Cr'un tek başına ve Se ile birlikte etkilerinde karaciğer dokusundaki GPx, CAT ve SOD aktivitelerini araştırmışlardır. Araştırmacılar Cd ve Cr'un tek başına etkisinde enzim aktivitelerinin önemli olacak şekilde azaldığını, bununla birlikte ortamda Se bulunduğunda enzim

aktivitelerinin kontrol grubu değerlerine yakın olduğunu ve Se'un Cd ve Cr toksitesine karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Fırat ve ark. (2009) 0.5 ve 5.0 mg/L Zn , 0.1 ve 1.0 mg/L Cd ve 0.5 + 0.1 mg/L Zn + Cd ve 5.0 + 1.0 mg/L Zn + Cd etkisine 7 ve 28 günlük sürelerle bırakılan *O. niloticus* dokularındaki metal birikimi ve antioksidan yanıtları incelemişlerdir. Araştırmacılar ortam derişimi ve etkileşim süresi arttıkça solungaç ve karaciğer dokularındaki Zn ve Cd birikiminin ve GSH düzeylerinin arttığını bu artışların Zn+Cd karışımlarının etkisine oranla metallerin tek başına etkisinde daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Mishra ve Jain (2009) yaptıkları bir laboratuvar çalışmalarında Pb toksitesi üzerinde doğal bir iyon değiştirici olan zeolit türü olan chabazitenin koruyucu etkisini *H. fossilis*'te araştırmışlardır. Bu çalışmada balıklar 60, 90, 120 ve 180 günlük sürelerle kurşun nitrat, kurşun nitrat+chabazite ve yalnızca chabazitenin etkisine bırakılmış ve Pb nitratin tek başına etkisinde olumsuz etkilenen protein metabolizmasının chabazitenin varlığında normal düzeylerine geri döndüğü belirlenmiştir.

Fırat ve Kargın (2010) yaptıkları bir laboratuvar çalışmalarında Cu etkisinde *Cyprinus carpio*'da meydana gelen yanıt mekanizmalarının Cu birikimi ile ilişkisini incelemişlerdir. Bu amaçla balıklar 0.1 ve 1.0 ppm Cu etkisine 10 ve 20 günlük sürelerle bırakılmış ve hedef doku olarak seçilen solungaç dokusunda Cu düzeylerinin derişim ve etki süresine bağlı olarak arttığını ve bu birikimin bir sonucu olarak da GSH düzeyinin de arttığını belirlemişlerdir.

Hegazi ve ark. (2010) 5.0 ve 10 mg/L amonyumun etkisine 70 gün süreyle bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer ve kas dokusundaki oksidatif stres ve antioksidan enzim aktivitelerini çalışmışlardır. Araştırmacılar deney süresi sonunda amonyumun etkisinde dokulardaki GPx, GST ve GR aktivitelerinde önemli artışlar belirlemişlerdir.

Huang ve ark. (2010) akuatik ortamlarda amonyumun uzaklaştırılması üzerine zeolitin etkisini araştırdıkları çalışmalarında zeolitin önemli oranlarda amonyumu uzaklaştırdığı belirlenmiştir.

Radwan ve ark. (2010) Cu, Pb ve Zn'nun *Theba pisana*'da oksidatif stres parametreleri üzerine olan toksik etkilerini araştırmışlardır. Metallerin etkisinde GSH düzeyinde bir azalma, GPx ve GST aktivitelerinde ise önemli bir artış belirlenmiştir.

Cogun ve ark. (2012) Hg toksitesi üzerine Se'un koruyucu etkilerini saptamak için Hg ve Hg +Se karışımlarının farklı ortam derişimlerinin etkisine 7 ve 14 günlük sürelerle bırakılan *O. niloticus*'ta hematolojik ve serum biyokimyasal parametrelerindeki değişimleri incelemişlerdir. Hg'nın tek başına etkisinde alyuvar, akyuvar, hemoglobin ve hemotokrit düzeylerinin ve kolinesteraz aktivitesinin azaldığı; ALT, AST aktiviteleri ve kortizol ve glukoz düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. Se'un varlığında ise yukarıda belirtilen parametreler üzerine Hg'nın olumsuz etkisi tamamen yada kısmen ortadan kaldırılmıştır. Araştırmacılar Se'un Hg toksitesini azaltıcı bir etkiye sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Çogun ve Şahin (2012) *O. niloticus*'ta Pb toksitesi üzerine zeolitin etkisini araştırdıkları çalışmalarında balıkları kurşun ve kurşun+zeolit karışımlarının farklı ortam derişimlerinin etkisine bırakarak doku ve organlardaki Pb birikimini belirlemişlerdir. Karaciğer, solungaç, böbrek ve kas dokularındaki Pb birikimi ortam derişimi ve sürenin uzamasıyla artmışken, zeolit varlığında ise Pb birikiminin azaldığı saptanmıştır. Zeolitin özellikle de böbrek ve karaciğer dokularındaki Pb birikiminde önemli ölçüde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Balasubramanian ve Kumar (2013) farklı ortam derişimlerinde 15 gün süreyle arsenik ve arsenik + zeolit karışımlarının etkisine bırakılan *H. fossilis*'te lipid metabolizmasını araştırdıkları çalışmalarında biyokimyasal parametrelerde arsenik tek başına etkisinde gözlenen artışların zeolit varlığında normal düzeylere geldiği belirlenmiştir. Araştırmacılar akuatik canlılarda arsenik toksitesi üzerine zeolitin koruyucu bir etkisi olduğunu vurgulamışlardır.

Çimrin Reyhan (2014) *O. niloticus*'ta Cu ve Cd birikimi üzerine kalsiyum ve zeolitin etkilerini araştırdığı çalışmasında solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Cu ve Cd birikiminin metallerin tek başına etkisinde meydana gelen artışların kalsiyum ve zeolit varlığındaki etkilerinden daha fazla olduğunu ve zeolitin kalsiyuma oranla metal birikimlerini daha fazla azalttığını saptamıştır.

EL- Gazzar ve ark. (2014) *O. niloticus*'un karaciğer ve solungaç dokularında Cd'nin neden olduğu oksidatif stres ve biyokimyasal değişiklikler üzerine C vitaminin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar Cd'un tek başına etkisinde GST aktivitesinde ve GSH düzeyinde artış, GPx aktivitesinde ise azalış belirlemişlerdir. Cd'un neden olduğu oksidatif stres C vitaminin uygulandığı gruplarda ortadan kalkmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Sunulan çalışmada araştırma materyali olarak *Oreochromis niloticus* kullanılmıştır. Balıklar, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi balık yetiştirme havuzlarından alınarak laboratuvara getirilmiş ve içerisinde 120 L bekletilmiş çeşme suyu bulunan 40x140x40 cm ebatlarındaki stok cam akvaryumlarda üç ay süre ile bekletilerek ortam koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre içerisinde deneyde kullanılacak balıklar 12.07 ± 0.21 cm boy ve 32.81 ± 0.72 g ağırlığa ulaşmıştır.

Deneyler 25 ± 1 °C sıcaklıkta yürütülmüştür. Günde sekiz saat aydınlanma periyodu uygulanmış ve merkezi havalandırma sistemi ile akvaryumlar havalandırılmıştır. Balıklar, hazır balık yemiyle (Pınar Balık Yemi, Türkiye) beslenmiştir. Denemeler başlamadan iki gün önce yem kesilmiş, denemeler süresince balıklar vücut ağırlıklarının %2'si kadar yem ile günde iki defa beslenmiştir. Deney ortam suyunun kimyasal özellikleri; toplam sertlik 335.7 ± 2.3 ppm CaCO₃, çözülmüş oksijen 7.49 ± 0.15 , pH 8.21 ± 0.07 , akvaryum suyu sıcaklığı, 21.11 ± 0.20 °C olarak ölçülmüştür.

3.1.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tris HCl (Sigma)

Tris Baz (sigma)

Etilendiamintetraasetikasit (EDTA, Sigma)

Redükte Glutasyon (GSH, Sigma)

Okside Glutasyon (GSSG, Sigma)

Glutasyon Redüktaz (GR, Sigma)

Nikotin Amid Adenininükleotit Fosfat (NADPH, Sigma)

tert-Butil Hidroperoksit (Sigma)

1-Chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB, Sigma)

Disodyum Fosfat (Na_2HPO_4 , Merck)
Monosodyum Fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Sigma)
Meta-Fosforik Asit (Sigma)
Sodyum Klorür (NaCl , Merck)
5,5'-Dithiobis 2-nitrobenzoikasit (DTNB, Sigma)
Sodyum Karbonat (Na_2CO_3 , Merck)
Bakır (II) Sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Sigma)
Dipotasyum hidrojen fosfat ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Merck)
Folin Ciocalteu Fenol Ayıracı (Merck)
Sığır Serum Albümini (Merck)
Sukroz ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$, Sigma)
Hidro Klorik Asit (HCl , Merck)
Sodyum Hidroksit (NaOH , Merck)

3.1.2. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar

Spektrofotometre : SHIMADZU UV-1800
Homojenizatör : WISETIS HG-15D
Santrifüj : Nüve NF400
Soğutmalı Santrifüj : Hettich Universal 320R
Derin Dondurucu (-80°C) : New Brunswick Scientific U410 Premium
Hassas Terazi : OHAUS Pioneer PA214C
Su Banyosu : Jeio Tech BS-11
pH metre : Thermo Scientific Orion 2 Star
Manyetik Karıştırıcı : VELP Scientifica ARE
Distile Su Cihazı : Millipore Rios 8
Vortex : Labort Multi-Mixer MVS-1

3.2. Yöntem

Deneylerde kullanılan cıva çözeltileri 1M cıva klorür [(HgCl)₂] (SIGMA) stok çözeltisinden, selenyum çözeltileri 1M sodyum selenit [(Na₂SeO₃)] (SIGMA) stok çözeltisinden ve zeolit çözeltileri (<75 mikron çapında, İstanbul Rota Madencilik AŞ) stok çözeltisinden seri seyreltmeler yöntemi ile hazırlanmıştır.

Deneyler cıva, cıva + selenyum ve cıva + zeolit karışımları dikkate alınarak üç seri olacak şekilde yürütülmüştür. Deneyler her bir seride içerisinde 12 adet balık bulunan üç cam akvaryumda yapılmıştır. Balıklar birinci seride cıvanın 0.01mg/L ve 0.1 mg/L; ikinci seride cıva + selenyumun 0.01 mg/L Hg + 0.1 mg/L Se ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se ve üçüncü seride ise cıva + zeolitin 0.01 mg/L Hg+0.1 g/L zeolit ve 0.1 mg/L Hg+1.0 g/L zeolit derişimlerinin etkisine 7 ve 21 gün sürelerle bırakılmıştır.

Deneylerde birinci seride bulunan 3 akvaryumun ikisine 120 L farklı Hg çözeltileri; ikinci serideki 3 akvaryumun ikisine Hg+Se karışımları; üçüncü serideki 3 akvaryumun ikisine ise Hg+zeolit karışımları konulmuş, her serideki üçüncü akvaryuma ise 120 litre dinlenmiş çeşme suyu konarak kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Deneyler altı tekrarlı olarak ve her tekrarda bir balık kullanılarak yürütülmüştür. Deney akvaryumlarında kullanılan kimyasal çözeltilerinin derişimlerinde buharlaşma, adsorbsiyon ve akümülyasyon gibi nedenlerle değişim olabileceği dikkate alınarak çözeltiler birer gün arayla taze hazırlanan stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiştir.

3.2.1. Doku Örneklerinin Alınması ve Biyokimyasal Analizler

Denenen süreler sonunda deney akvaryumlarından rastgele seçilen balıklar, çeşme suyuyla yıkanarak temizlenmiş, yüzeylerinde bulunan su damlacıkları kurutma kağıdıyla alınmış ve boy ve ağırlıkları saptanarak diseksiyona hazır hale getirilmiştir. Balıklar diseksiyondan önce spinal yapılarak öldürülmüştür. Steril aletlerle solungaç, karaciğer ve kas dokuları buz üzerinde disekte edilmiş ve bir

kısım dokular biyokimyasal analizler için % 0.59 NaCl ile yıkanarak ağırlıkları alındıktan sonra analize kadar -80'de muhafaza edilmişlerdir.

Dokuların bir kısmı ise cıva analizleri için petri kabına konularak etüvde 72 saat süreyle 150 °C sıcaklıkta kurumaya bırakılmıştır. Sürenin sonunda dokuların kuru ağırlıkları alınarak cam tüplere aktarılmış ve üzerlerine sırayla 2 mL nitrik asit (Merck, %65, d:1.40) ve 1 mL perklorik asit (Merck, %60, d:1.53) eklenerek üç saat süre ile çeker ocakta yakılmıştır. Yakım işleminden sonra örnekler polipropilen tüplere aktarılarak distile su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan örneklerdeki cıva düzeyi ICP yöntemiyle saptanmıştır.

3.2.1.1. Homojenatların Hazırlanması

Dokular 1/10 ağırlık/hacim (w/v) olacak şekilde içerisinde 0.25 M sükröz bulunan 0.05 M soğutulmuş Na-P tamponu (pH: 7.4) ile buz içerisinde ultra-turrax homojenizatörde 3 dakika süreyle 10.000 rpm'de homojenize edilmiştir. Homojenatlar +4 °C sıcaklıkta 30 dakika süreyle 10.000 rpm'de santrifüje edilmiş ve elde edilen süpernatantlarda GPx, GST ve GR aktivitesi ile GSH ve protein düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

3.2.1.2. GPx Yöntemi

Prensip: T-butil hidroperoksin varlığında GPx'in oluşturduğu okside glutatyon, glutatyon redüktaz ve NADPH'in NAD⁺'ya yükseltgenmesi esnasındaki absorbans farkının 37 °C'de 340 nm'de okunmasıyla saptanır (Beutler, 1984).

Ayıraçlar:

1- 1 M Tris Tamponu (pH: 8.0)

Tris HCl	8.80 g
Tris Baz	5.40 g
EDTA	0.14 g

alınır ve distile suyla 100 mL'ye tamamlanır.

2 - 0.1 M GSH:

0.0155 g GSH alınır ve 0.5 mL saf su eklenir.

3- 10 U/mL GR:

50 µL GR alınır ve 2450 mL saf su eklenir.

4- 2 mM NADPH:

0,0045 g NADPH tartılır ve 2500 ml saf su eklenir.

5- 7 mM T-butil Hidroperoksit:

5 µL T-butil hidroperoksit alınıp 5 mL saf su eklenir.

Yöntem: GPx aktivite tayini için iki küvet alınır ve çizelge 3.1'te belirtilen ayıraçlar konur.

Çizelge 3.1. Glutatyon Peroksidaz Yöntemi

Çözeltiler	Kör (µL)	Örnek (µL)
Distile Su	+	660
Tris Tamponu	-	100
GSH	-	20
GR	-	100
NADPH	-	100
Örnek	-	10
37 °C'de 10 dakika inkübe edilir		
t- butil hidroperoksit	-	10

Kör için distile su kullanılır. Tepkime 37 °C sıcaklıkta 340 nm dalga boyunda 0. , 2.5 ve 5. dakikalarda absorbans değeri ile izlenir.

Hesaplama:

$$\text{GPx Aktivitesi (U/mL)} = \frac{\text{DOD}}{t} \times \frac{V_t}{6.22 \times V_0}$$

ΔOD = Zamana bağlı olarak absorbans değişimi

V_t = Toplam hacim

t = Zaman

V_0 = Örnek hacim

6.22= 1 nmol NADPH'ın 1 cm'lik ışık yolundaki absorbans değeri

$$\text{GPx Spesifik Aktivitesi (U/mg protein)} = \frac{\text{GPxAktivite si}}{\text{Pr oteinMikta rı}}$$

3.2.1.3. GST Yöntemi

Prensip: Enzim aktivitesi CDNB'nin glutatyonla konjugasyonu esnasındaki absorbans farkınının 340 nm'de okunmasıyla saptanmaktadır (Habig ve ark., 1974).

Ayırıklar:**1- 100 mM Tris Tamponu (pH=7.4)**

Tris HCl 3.2846 g

Tris Baz 0.5036 g

Alınır ve distile suyla 250 mL'ye tamamlanır.

2- 20 mM CDNB (%95'lik 10 mL alkolde çözülür.)

0.0405 g CDNB tartılır üzerine 9.52 mL mutlak alkol konur. 0.44 mL su eklenir.

3- Redükte Glutatyon (taze hazırlanır)

0.0030 g GSH alınır üzerine 10 mL tris tamponu eklenir.

Yöntem: GST aktivite tayini için iki küvet alınır ve çizelge 3.2’te belirtilen ayıracılar konur.

Çizelge 3.2. Glutasyon S-Transferaz Yöntemi

Çözeltiler	Kör (µL)	Örnek (µL)
Tris Tamponu	1100	1050
CDNB	50	50
GSH	50	50
Örnek	-	50

25 °C sıcaklıkta 340 nm dalga boyunda 0. ve 2. dakikalarda okunur.

Hesaplama:

$$\text{GST Aktivitesi (U/mL)} = \frac{\Delta OD}{t} \times \frac{V_t}{0.0096 \times V_o}$$

ΔOD = Zamana bağlı olarak absorbans değişimi

V_t = Toplam hacim

t: zaman

V_o = Örnek hacim

0,0096 = 1 mM CDNB’nin 1cm’lik ışık yolundaki absorbans değeri

$$\text{GST Spesifik Aktivitesi (U /mg protein)} = \frac{\text{GST Aktivitesi}}{\text{Protein Miktarı}}$$

3.2.1.4. GR Yöntemi

Prensip: Enzim aktivitesi NADPH’IN NADP⁺’a yükseltgenmesi esnasındaki absorbans farkının 340 nm’de okunmasıyla saptanır (Carlberg ve Mannervik, 1975).

Ayıraçlar:**1- 100mµ Na-P Tamponu (pH=8.0)**

Na₂HPO₄.7H₂O 5.7554 g

NaH₂PO₄.2H₂O 0.5328 g

Alınır ve distile su ile 250 ml'ye tamamlanır.

2- Günlük Tampon

0.12 mM NADPH ve 1mM GSSG'nin tampon içinde çözülmesiyle hazırlanır.

0.0165 g GSSG + 0.002 g NADPH 27 mL 100 mM Na-P içinde çözülür.

Yöntem: GR aktivite tayini için iki küvet alınır ve çizelge 3.3'te belirtilen ayıraçlar konur.

Çizelge 3.3. Glutasyon Redüktaz Yöntemi

Çözeltiler	Kör (µL)	Örnek (µL)
Distile su	100	-
Günlük tampon	900	900
Örnek	-	100

Çalkalanır ve 37 °C sıcaklıkta 340 nm dalga boyunda 0. ve 5. dk.'larda köre karşı absorbans değerleri ölçülür.

Hesaplama:

$$\text{GR Aktivitesi (U/mL)} = \frac{\text{DOD} \times V_t}{6.22 \times V_ö}$$

ΔOD= Zamana bağlı olarak absorbans değişimi

V_t= Toplam hacim

V_ö= Örnek hacmi

6,22= 1 nmol NADPH'ın 1 cm'lik ışık yolundaki absorbans değeri

$$\text{GR Spesifik Aktivitesi (U/mg protein)} = \frac{\text{GRAktivite si}}{\text{Pr oteinMikta rı}}$$

3.2.1.5. GSH Yöntemi

Prensip: DTNB, sülfidril bileşikleri tarafından redükte edilen bir disülfit bileşiği olup sarı renkli bir anyon oluşturmaktadır. Örnek ile DTNB'nin oluşturduğu sarı renkli kompleksin renk şiddeti ortamdaki GSH konsantrasyonu ile doğru orantılıdır; 412 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Beutler, 1984).

Ayırıklar:

1. Çöktürücü çözelti

Galsiyel metafosforik asit	1.67 g
Disodyum EDTA	0.20 g
NaCl	30.0 g

Alınır ve distile suyla 100 mL'ye tamamlanır.

2. 0.3 M Na₂HPO₄

Na ₂ HPO ₄	42.59 g
----------------------------------	---------

Alınır ve distile suyla 100 mL'ye tamamlanır.

3. %0.02 DTNB çözeltisi

DTNB	20 mg
------	-------

Alınır ve %1'lik sodyum sitratla 100 mL'ye tamamlanır.

Yöntem:

200 µL süpernatant üzerine 2 mL saf su ilave edilir ve 200 µL'si protein tayini için kullanılır. GSH tayini için iki tüp alınır ve çizelge 3.4'te belirtilen ayırıklar konur.

Çizelge 3.4. Glutatyon Yöntemi

Çözeltiler	Kör (mL)	Örnek (mL)
Örnek	-	2
Distile su	2	-
Çöktürücü	3	3
5 dakika bekletilir, filtre kağıdından süzülür;		
Süzüntü	2	2
0.3 M Na ₂ HPO ₄	8	8
412 nm dalga boyunda köre karşı okunur (OD ₁). Tüplere;		
%0.02 DTNB	1	1

Eklenir ve 412 nm dalga boyunda köre karşı okunur (OD₂).

Hesaplama:

GSH miktarı $\mu\text{mol/g}$ protein olarak hesaplanır.

$$\frac{C}{1000} = \frac{(OD_2 - OD_1)}{13600} \times \frac{11}{2} \times \frac{5}{2} \times \frac{100}{Pr o}$$

$$C (\mu\text{mol/g Protein}) = \frac{(OD_2 - OD_1) \times 101}{Pr otein}$$

13600: GSH ve DTNB etkileşimi esnasında meydana gelen sarı rengin molar ekstinksiyon katsayısı

1000: μmol 'e dönüşüm katsayısı

C: μmol glutatyon

OD₁: DTNB eklenmeden önce 412 nm'de ölçülen absorbans

OD₂: DTNB eklendikten sonra 412 nm'de ölçülen absorbans

11/2 ve 5/2: Sulandırma katsayıları.

3.2.1.6. Protein Yöntemi

Prensip: Proteinler alkali ortamda bakır sülfat eklenmesiyle fosfotungstik-fosfomolibdik asidi redükleyerek mavi renk oluştururlar. Bu renkli bileşiğin absorbans değeri 750 nm’de ölçülerek protein miktarları tespit edilir (Lowry vd. 1951).

Ayıraçlar:

1. Alkali Na₂CO₃ Çözeltisi
2. Bakır Sülfat-Sodyum Potasyum Tartarat Çözeltisi
 - %1 CuSO₄.5H₂O
 - %2 Na-K tartarat
3. Alkali Çözelti (Günlük hazırlanmakta): 50 mL alkali Na₂CO₃ çözeltisi 1 mL Bakır Sülfat-Sodyum Potasyum Tartarat çözeltisiyle karıştırılarak hazırlanır.
4. Folin-Ciocalteu Ayıracı: 1 mL Folin-Ciocalteu, 1.5 mL distile suyla seyreltilerek hazırlanır.

Yöntem : Protein tayini için iki tüp alınır ve çizelge 3.5’te belirtilen ayıraçlar konur.

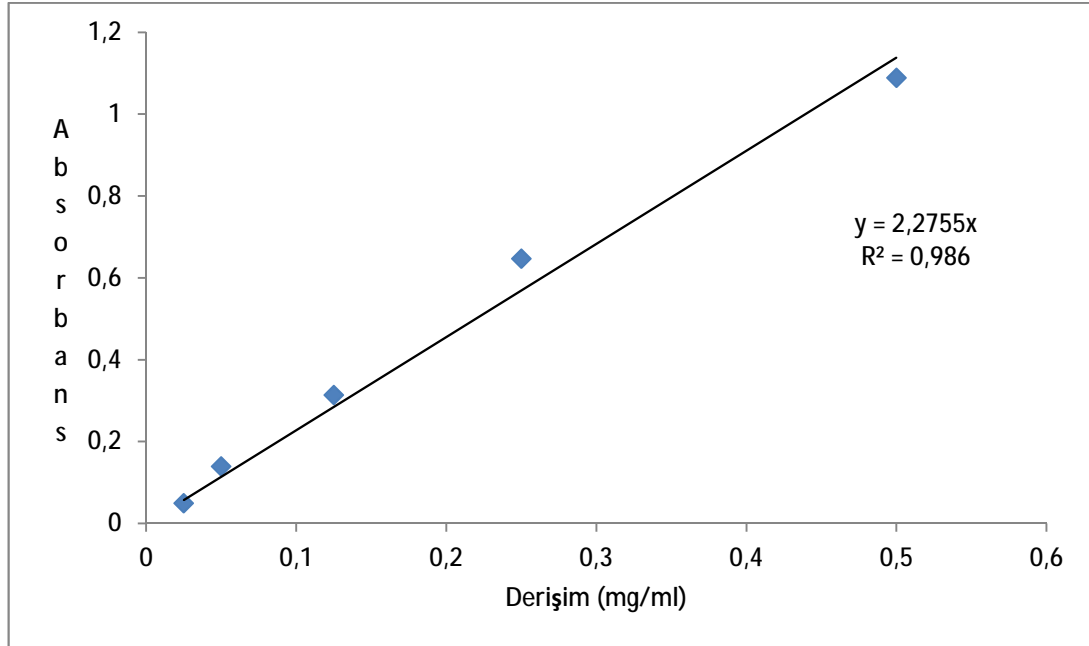
Çizelge 3.5. Protein Yöntemi

Çözeltiler	Kör (mL)	Örnek (mL)
Distile Su	0.3	-
Örnek	-	0.3
Alkali Çözeltisi	3.0	3.0
Oda ısısında 15 dakika bekletilir.		
Folin-Ciocalteu	0.3	0.3

Yine oda ısısında 30 dakika bekletilir ve 750 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülür.

Hesaplama

Protein düzeyleri sığır serum albumini kullanılarak hazırlanmış olan standart grafikten yararlanarak hesaplanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Standart protein grafiği

3.3. İstatistik

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistics 21.0 paket programı kullanılarak One Way-ANOVA ve takiben Student – Newman Keul's Test (SNK) kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

Sunulan çalışmada 7 ve 21 gün sürelerle cıva, cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının farklı ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki cıva birikimleri, GSH düzeyleri ve GSH ile ilişkili enzim (GPx, GST ve GR) aktiviteleri araştırılmıştır. Kimyasalların denenen tüm derişimlerinde etkileşim süresince balıklarda ölüm gözlenmemesine rağmen cıvanın tek başına yada selenyum ve zeolitle birlikte etkisinde, özellikle yüksek ortam derişimlerinde, besin alınımında azalma, kontrolsüz yüzme, renklerinde koyulaşma gibi bazı morfolojik ve davranış değişiklikleri belirlenmiştir.

4.1. Cıva Birikimi

Denenen tüm etki süresi ve ortam derişimlerinde *O. niloticus*'un solungaç, karaciğer ve kas dokularında 6 tekrarlı olarak belirlenen cıva birikimlerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları Çizelge 4.1 – 4.2 'de gösterilmiştir. Belirli bir sürede ve aynı ortam derişimde cıva birikimi yönünden dokular arasındaki ayrımı saptamak ve yine aynı etki süresinde belirli bir doku ve organdaki cıva birikimi üzerine ortam derişimlerinin etkisini saptamak amacıyla veriler SNK testiyle analiz edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1 ve 2'de verilmiştir. "a ve b" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki; "x, y ve z" harfleri ise aynı derişimdeki dokular arasındaki metal düzeylerinin ayrımını göstermek için kullanılmıştır. Çizelgedeki farklı harfler, veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistiksel bir ayrım olduğunu göstermektedir.

Belirli bir etki süresinde ortamda bulunan cıva ortam derişimi arttıkça *O. niloticus*'un test edilen tüm dokularında cıva düzeyinin arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1- 4.2, $P<0.05$). Cıva ortam derişimindeki on katlık bir artış, bu dokuların cıva düzeylerinde yaklaşık olarak 1.5-4.5 katlık bir artış oluşturmuştur. 7 ve 21 günlük süreler sonunda belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında cıva birikimi bakımından dokular arasında da önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2, $P<0.05$). Cıva birikiminin en yüksek solungaçta olduğu, bunu da karaciğer ve kas dokusunun izlediği saptanmıştır. 21 günlük süre sonunda 0.1 mg/L Hg

etkisindeki balıkların solungaç dokusundaki cıva birikimi, karaciğerdeki birikimin yaklaşık 5 katı kadar olduğu saptanmıştır.

Belirli bir ortam derişiminde etki süresine bağılı olarak dokulardaki cıva birikiminin arttığı saptanmıştır. 0.01 mg/L Hg derişiminde *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer dokularındaki cıva düzeyi, 7 günlük etki süresiyle karşılaştırıldığında 21 günlük süre sonunda yaklaşık olarak 3 kat kadar artış göstermiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2, $P<0.05$).

Çizelge 4.1. 7 gün süreyle cıva etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g k.a.}$)

DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	SP	SP	SP
0.01 Hg	8.92±0.15 ax	2.07±0.07 ay	0.19±0.02 az
0.10 Hg	20.12±0.44 bx	5.96±0.18 by	0.86±0.03 bz

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur. "a ve b" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki metal düzeylerinin ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. "x, y ve z" harfleri ise aynı derişimdeki dokular arasındaki metal düzeylerinin ayırımı göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayırımı göstermektedir ($P<0.05$). SP: Saptanamamıştır.

Çizelge 4.2. 21 gün süreyle cıva etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g k.a.}$)

DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	SP	SP	SP
0.01 Hg	24.19±0.21 ax	6.04±0.14 ay	0.32±0.03 az
0.10 Hg	43.52±0.31 bx	9.27±0.17 by	1.27±0.05 bz

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur. "a ve b" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki metal düzeylerinin ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. "x, y ve z" harfleri ise aynı derişimdeki dokular arasındaki metal düzeylerinin ayırımı göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayırımı göstermektedir ($P<0.05$). SP: Saptanamamıştır.

Selenyumun cıva birikimi üzerine etkisini belirlemek için verilerin istatistiksel analizi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.3 ve 4.4’da verilmiştir. 7 ve 21 günlük süreler sonunda her iki ortam derişiminde de cıva+selenyum karışımlarının etkisinde solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki cıva birikiminin doğrudan cıvanın etkisine bırakılanlara oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Dokulardaki bu azalmanın istatistik olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3 ve 4.4, $P<0.05$). Selenyumun varlığında incelenen tüm dokulardaki cıva birikimi önemli düzeylerde azalmıştır. 21. gün sonunda 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımındaki balıkların dokularındaki cıva birikimi 0.1 mg/L Hg etkisine oranla solungaçta %32, karaciğerde %37 ve kasta %33 düzeyinde azalmıştır

Çizelge 4.3. 7 gün süreyle cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*’un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g k.a.}$)

DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	SP	SP	SP
0.01 Hg	8.92±0.15 ax	2.07±0.07 ay	0.19±0.02 az
0.01 Hg+0.1 Se	6.11±0.09 bx	1.41±0.08 by	0.11±0.02 bz
0.0	SP	SP	SP
0.1 Hg	20.12±0.44 ax	5.96±0.18 ay	0.86±0.03 az
0.1 Hg+1.0 Se	13.95±0.21 bx	4.21±0.06 by	0.63±0.04 bz

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur. “a ve b” harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki metal düzeylerinin ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. “x, y ve z” harfleri ise aynı derişimdeki dokular arasındaki metal düzeylerinin ayırımı göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$). SP: Saptanamamıştır.

Çizelge 4.4. 21 gün süreyle cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*’un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g k.a.}$)

DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	SP	SP	SP
0.01 Hg	24.19±0.21 ax	6.04±0.14 ay	0.32±0.03 az
0.01 Hg+0.1 Se	17.25±0.12 bx	4.43±0.08 by	0.20±0.02 bz
0.0	SP	SP	SP
0.1 Hg	43.52±0.31 ax	9.27±0.17 ay	1.27±0.05 az
0.1 Hg+1.0 Se	29.64±0.19 bx	5.88±0.20 by	0.85±0.02 bz

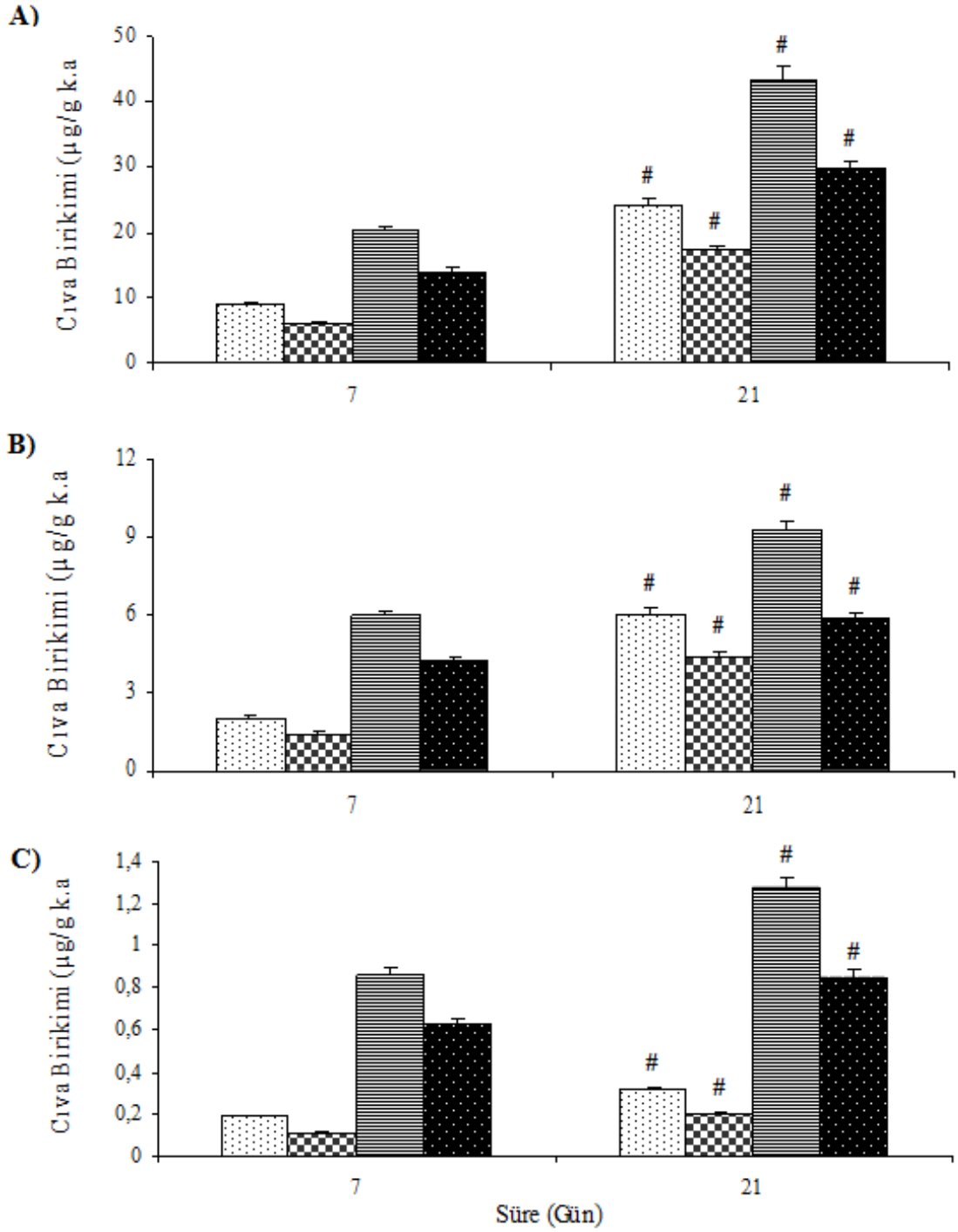
Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur. “a ve b” harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki metal düzeylerinin ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. “x, y ve z” harfleri ise aynı derişimdeki dokular arasındaki metal düzeylerinin ayırımı göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$). SP: Saptanamamıştır.

Selenyum ortam derişimlerinin süreye bağlı olarak belirli bir dokuda cıva birikimine etkisini belirlemek için verilerin istatistiksel analizi yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.1 (A, B, C)'de gösterilmiştir. Aynı ortam derişiminde etki süresine bağlı olarak dokulardaki cıva birikiminin arttığı gözlenmiştir. Solungaç, karaciğer ve kas dokularında süreye bağlı olarak gözlenen cıva düzeyindeki artışın, cıva+selenyum karışımına oranla cıvanın tek başına etkisinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1, $P<0.05$). 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se etkisinde 7 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda dokulardaki cıva düzeyi, sırasıyla, solungaçta %116 ve %112, karaciğerde %56 ve %39 ve kas dokusunda %48 ve %35 düzeyinde arttığı saptanmıştır. Denenen her iki sürede de cıva+selenyum karışımının etkisindeki balıkların dokularındaki cıva düzeyi, cıvanın tek başına etkisine bırakılanlara oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Selenyum, her iki derişim ve sürede de dokulardaki cıva birikimini önemli miktarda düşürmüştür (Şekil 4.1, $P<0.05$).

Solungaç dokusunda cıva düzeyi, her iki ortam derişiminde de süreye bağlı olarak artış göstermiştir. Solungaç dokusunda cıva düzeylerinin çalışılan selenyum ortam derişimlerinin etkisinde önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.1 A). 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se ortam derişimindeki azalış 7 günlük süre sonunda %30 ve 21 günlük süre sonunda ise %32 düzeyinde olduğu saptanmıştır.

Karaciğer dokusu cıva düzeylerinde aynı ortam derişiminde etki sürenin uzamasıyla artış belirlenmiştir. Cıva düzeyleri, denenen tüm selenyum derişimlerinde önemli düzeylerde azalış göstermiştir (Şekil 4.1 B). 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımındaki azalma ilk etki süresi sonunda %29 ve son etki süresi sonunda ise %37 düzeyinde gerçekteşmiştir.

Kas dokusundaki cıva düzeylerinin de denenen ortam derişimlerinde etki süresine bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Her iki selenyum ortam derişiminde de kas dokusundaki cıva birikiminde önemli bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.1 C). 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımındaki azalma 7. günde %26 ve 21. günde %33 düzeyinde gerçekteşmiştir.



Şekil 4.1. Cıva ve cıva+selenyum ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki cıva birkimi üzerine sürenin etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05).

Zeolitin cıva birikimine etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizleri yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.5 ve 4.6’da verilmiştir. Her iki etki süresi sonunda her iki ortam derişiminde cıva+zeolit karışımının etkisindeki balıkların tüm dokularındaki cıva birikiminin cıvanın tek başına etkisindeki balıklara oranla istatistiksel olarak daha düşük olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). 21 günlük sonunda yüksek cıva+zeolit karışımının etkisindeki balıkların dokularındaki cıva birikiminde yüksek cıva ortam derişiminin tek başına etkisine oranla solungaçta %20, karaciğerde %26 ve kasta %22 düzeyinde azalış olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. 7 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*’un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g}$ k.a.)

DERİŞİM	DOKULAR		
	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	SP	SP	SP
0.01 Hg	8.92±0.15 ax	2.07±0.07 ay	0.19±0.02 az
0.01 Hg+0.1 Zeolit	7.25±0.07 bx	1.71±0.05 by	0.13±0.02 bz
0.0	SP	SP	SP
0.1 Hg	20.12±0.44 ax	5.96±0.18 ay	0.86±0.03 az
0.1 Hg+1.0 Zeolit	17.09±0.13 bx	5.02±0.09 by	0.68±0.02 bz

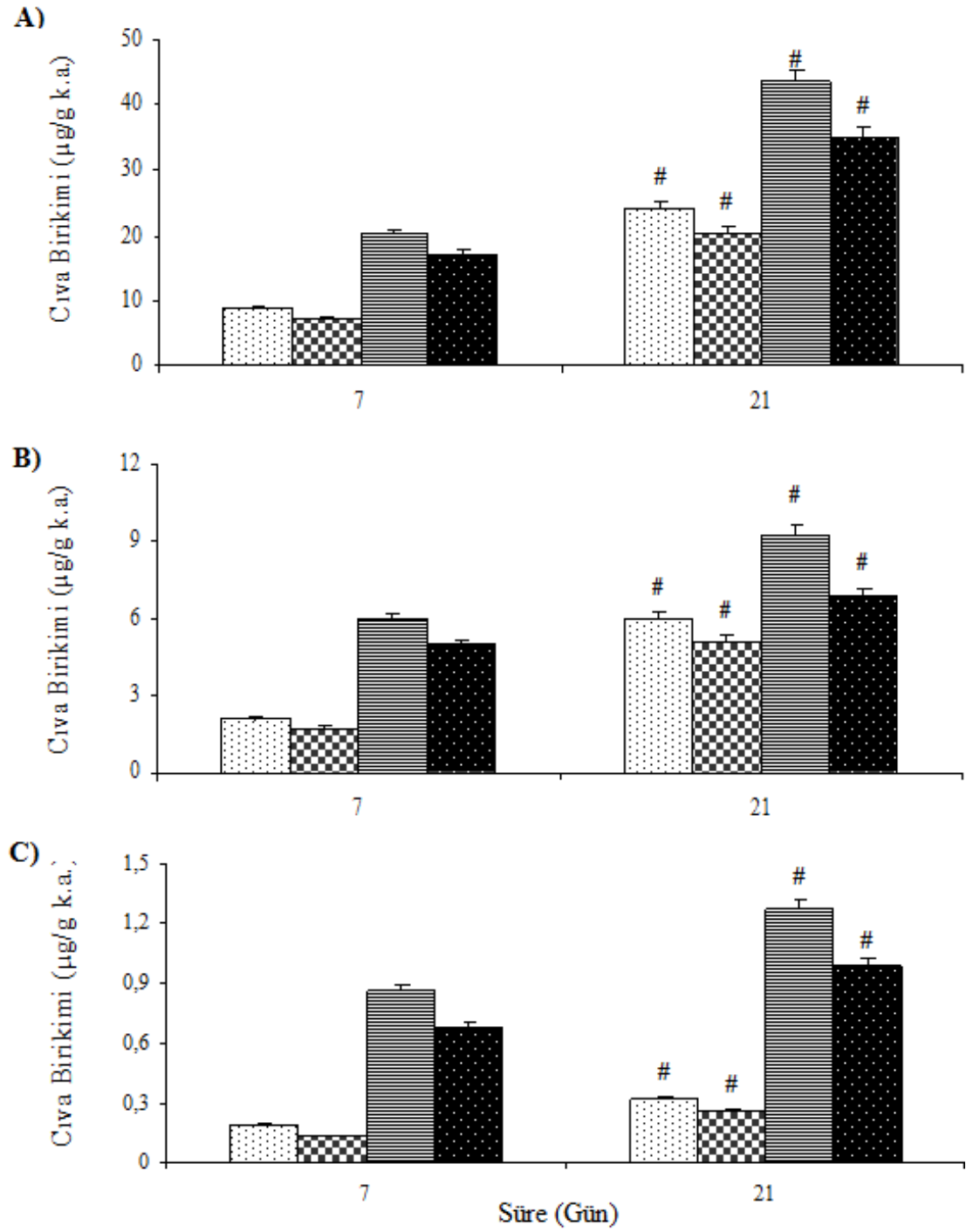
Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur. “a ve b” harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki metal düzeylerinin ayrımını belirlemek amacıyla kullanılmıştır. “x, y ve z” harfleri ise aynı derişimdeki dokular arasındaki metal düzeylerinin ayrımını göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$). SP: Saptanamamıştır.

Çizelge 4.6. 21 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki cıva düzeyi ($\mu\text{g/g}$ k.a.)

DERİŞİM	DOKULAR		
	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	SP	SP	SP
0.01 Hg	24.19±0.21 ax	6.04±0.14 ay	0.32±0.03 az
0.01 Hg+0.1 Zeolit	20.33±0.28 bx	5.12±0.08 by	0.26±0.02 bz
0.0	SP	SP	SP
0.1 Hg	43.52±0.31 ax	9.27±0.17 ay	1.27±0.05 az
0.1 Hg+1.0 Zeolit	34.98±0.19 bx	6.88±0.20 by	0.99±0.03 bz

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur. "a ve b" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki metal düzeylerinin ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. "x, y ve z" harfleri ise aynı derişimdeki dokular arasındaki metal düzeylerinin ayırımı göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$). SP: Saptanamamıştır.

Zeolit ortam derişimlerinin süreye bağılı olarak belirli bir dokuda cıva birikimine etkisini belirlemek için verilerin istatistik analizi yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.2 (A, B, C)'de gösterilmiştir. Aynı ortam derişiminde etkileşim süresinin uzaması ile balık dokularındaki cıva birikiminde bir artış saptanmıştır. İncelenen tüm dokulardaki süreye bağılı olarak gözlenen cıva düzeyindeki artışın, cıva+zeolit karışımına oranla cıvanın tek başına etkisinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit etkisinde 7 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda dokulardaki cıva düzeyi, sırasıyla, solungaçta %116 ve %104, karaciğerde %56 ve %37 ve kas dokusunda %48 ve %45 düzeyinde artışı saptanmıştır. Çalışılan her iki sürede de cıvanın tek başına etkisindeki balıklarla karşılaştırıldığında cıva+zeolit karışımlarının etkisindeki balıkların dokularındaki cıva düzeyinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Zeolitin, denenen tüm derişim ve sürelerde solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki cıva birikimini anlamlı düzeylerde azalttığı belirlenmiştir (Şekil 4.2, $P<0.05$).



Şekil 4.2. Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki cıva birikimi üzerine sürenin etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

Solungaç dokusu cıva düzeyinin tüm ortam derişimlerinde etkide kalınan süreye bağılı olarak arttığı saptanmıştır. Solungaç dokusu cıva düzeylerinde her iki zeolit ortam derişiminde önemli düzeylerde azalış olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2 A). 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımındaki azalma 7. günde %15 ve 21. günde %20 düzeyinde gerçekleşmiştir.

Karaciğer dokusu cıva düzeyleri her iki ortam derişiminde etki süresine bağılı olarak artış göstermiştir. Cıva düzeylerinin, tüm zeolit ortam derişimlerinin etkisinde önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.2 B). 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımındaki azalış 7 günlük süre sonunda %16 ve 21 günlük süre sonunda ise %26 düzeyinde gerçekleşmiştir.

Kas dokusu cıva düzeylerinin ise test edilen her iki derişimin etkisinde etki süresine bağılı olarak arttığı belirlenmiştir. Her iki zeolit ortam derişiminde de kas dokusundaki cıva birikiminde önemli miktarlarda azalma gözlenmiştir (Şekil 4.2 C). 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımındaki azalış 7 günlük süre sonunda %20 ve son etkileşim süresi sonunda ise %22 düzeyinde gerçekleşmiştir.

4.2. GSH Düzeyi

O. niloticus'ta belirli bir sürede dokularda GSH düzeyi üzerine cıva ve cıva + selenyum karışımlarının derişime bağılı etkileri Çizelge 4.7 ve 4.8'de verilmiştir. Denenen süreler dikkate alındığında GSH düzeyinde cıva ve cıva+selenyum karışımlarının tüm ortam derişimlerinde solungaçta önemli bir azalma izlenirken ($P<0.05$), karaciğerde 21. günde düşük cıva ve cıva+selenyum derişimleri dışındaki diğer derişimlerinde önemli bir azalma saptanmıştır ($P<0.05$). Kas dokusunda ise cıvanın hem doğrudan hem de selenyumla birlikte etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde önemli bir değışim gözlenmemiştir ($P>0.05$). 7 günlük süre sonunda 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımının etkisinde GSH düzeyinde sırasıyla, solungaçta %53 ve %35 ve karaciğerde ise %57 ve %40 düzeyinde azalış görülmüştür. Bu durum, GSH düzeyinde saptanan azalmanın cıva+selenyum karışımının etkisine oranla doğrudan cıvanın etkisinde daha fazla olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.7. 7 gün süreyle cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GSH düzeyi ($\mu\text{mol/g}$ protein)

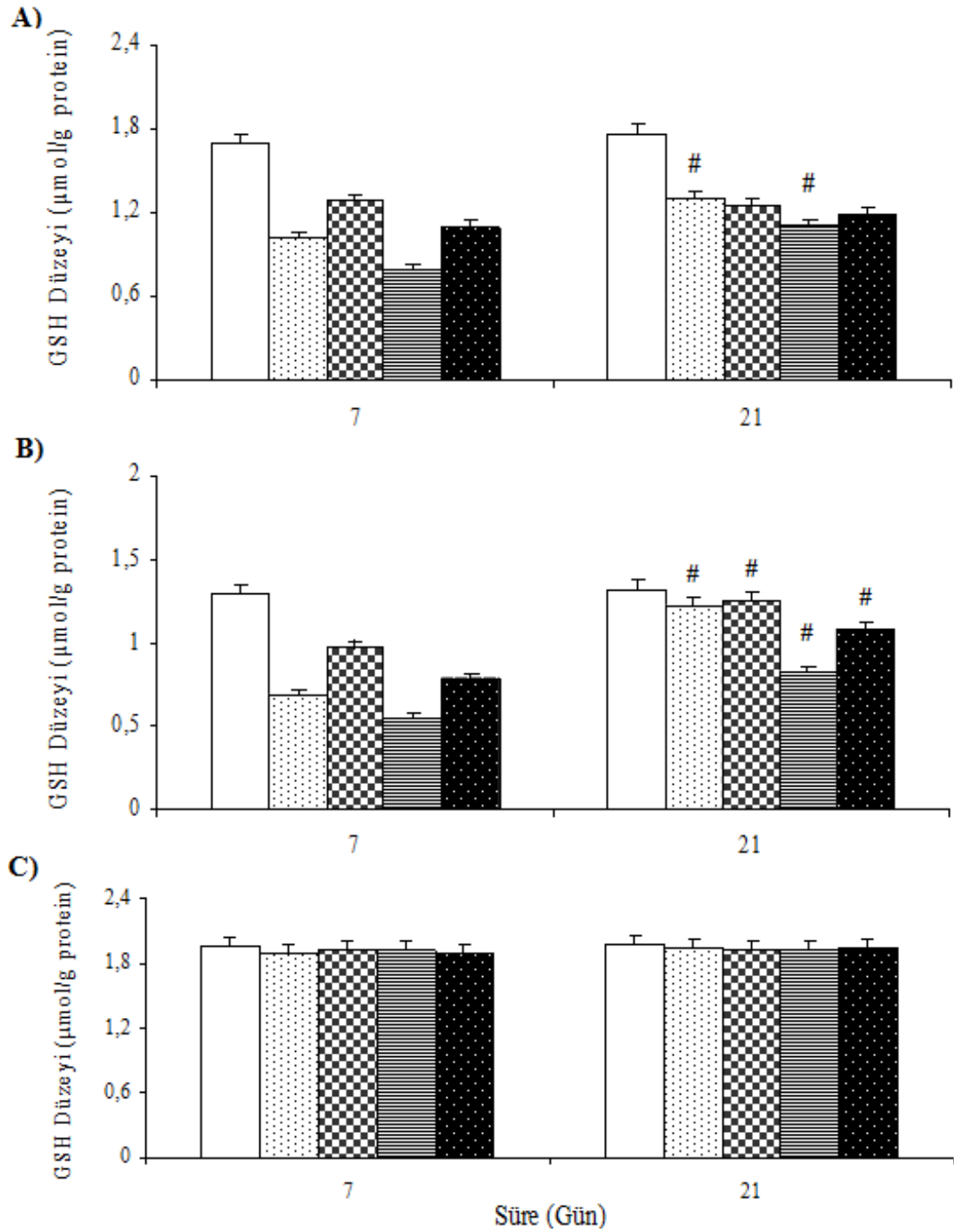
DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	1.69±0.04 a	1.29±0.03 a	1.96±0.05 a
0.01 Hg	1.02±0.05 b	0.69±0.04 b	1.90±0.07 a
0.01 Hg+0.1 Se	1.28±0.03 c	0.97±0.02 c	1.93±0.06 a
0.0	1.69±0.04 a	1.29±0.03 a	1.96±0.05 a
0.1 Hg	0.80±0.02 b	0.55±0.03 b	1.92±0.04 a
0.1 Hg+1.0 Se	1.10±0.02 c	0.78±0.04 c	1.91±0.05 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

Çizelge 4.8. 21 gün süreyle cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GSH düzeyi ($\mu\text{mol/g}$ protein)

DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	1.77±0.03 a	1.32±0.04 a	1.98±0.04 a
0.01 Hg	1.30±0.02 b	1.22±0.07 a	1.94±0.06 a
0.01 Hg+0.1 Se	1.25±0.04 b	1.25±0.06 a	1.92±0.08 a
0.0	1.77±0.03 a	1.32±0.04 a	1.98±0.04 a
0.1 Hg	1.11±0.04 b	0.82±0.03 b	1.93±0.04 a
0.1 Hg+1.0 Se	1.19±0.02 b	1.07±0.02 c	1.95±0.07 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.3. Cıva ve cıva+selenyum ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GSH düzeyi üzerine sürenin etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05).

O. niloticus'un belirli bir dokusundaki GSH düzeyi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.3. (A, B ve C)'de gösterilmiştir. Aynı ortam derişiminde süreye bağlı olarak solungaç GSH düzeyinde cıvanın doğrudan etkisinde her iki ortam derişiminde de artış gözlenirken ($P<0.05$); cıva+selenyum karışımının her iki derişiminde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($P>0.05$). Karaciğer dokusundaki GSH düzeyi hem cıvanın tek başına hem de selenyumla birlikte etkisinde sürenin uzamasıyla önemli bir şekilde arttığı saptanmıştır ($P<0.05$). 7 günlük süreye oranla 21 günlük etkileşim periyodunun sonunda karaciğer GSH düzeyi 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımında sırasıyla, %49 ve %37 düzeyinde artış göstermiştir. Kas dokusunda ise anlamlı bir değişim ortam derişimlerinde olduğu gibi etki süresine bağlı olarak da belirlenmemiştir ($P>0.05$).

Belirli bir sürede *O. niloticus*'ta incelenen tüm dokuların GSH düzeyleri üzerine cıva ve cıva+zeolit karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.9 ve 4.10'da verilmiştir. Her iki etki süresi dikkate alındığında ortamda bulunan cıva ve cıva+zeolit derişimi arttıkça solungaç GSH düzeyinin kontrole göre azaldığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Yüksek ortam derişimlerinde 7 ve 21 günlük sürelerde cıvanın doğrudan etkisindeki azalmanın cıva+zeolit karışımının etkisine oranla daha fazla olduğu gözlenmiştir ($P<0.05$). Karaciğer GSH düzeyi 21 günlük sürede düşük ortam derişimleri hariç denenen tüm ortam derişimlerinde önemli bir azalma göstermiş ($P<0.05$) ve bu azalışların cıvanın doğrudan etkisine oranla cıva+zeolit karışımlarının etkisinde daha az olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). 7 günlük süre sonunda 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımının etkisinde GSH düzeyinde sırasıyla, solungaçta %53 ve %40 ve karaciğerde ise %57 ve %42 düzeyinde azalış görülmüştür. Kas GSH düzeyinde ise hem cıvanın doğrudan hem de zeolitle birlikte etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde her iki etkileşim süresinde de anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.9. 7 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GSH düzeyi ($\mu\text{mol/g}$ protein)

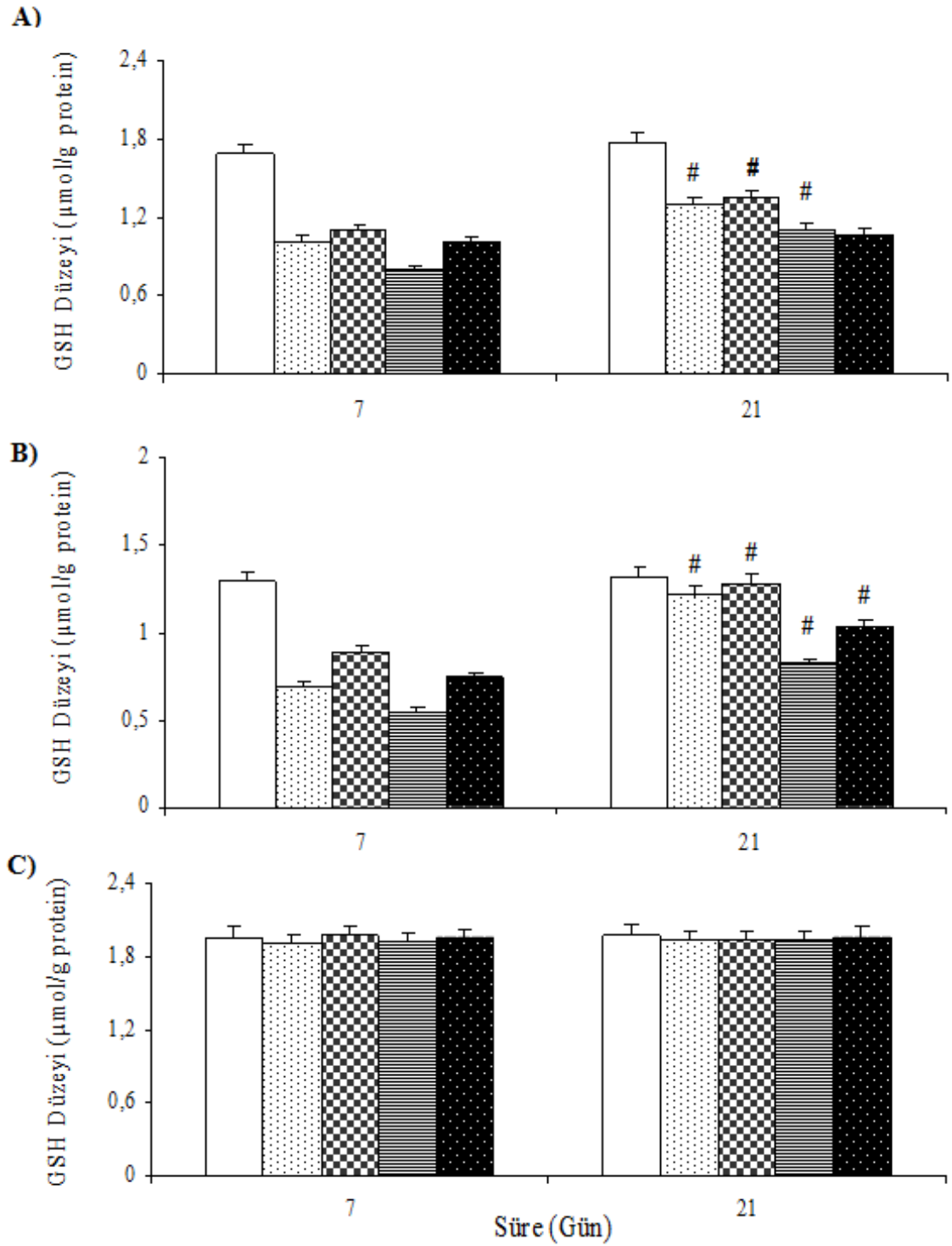
DERİŞİM	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	1.69±0.04 a	1.29±0.03 a	1.96±0.05 a
0.01 Hg	1.02±0.05 b	0.69±0.04 b	1.90±0.07 a
0.01 Hg+0.1 Zeolit	1.10±0.06 b	0.89±0.03 c	1.97±0.05 a
0.0	1.69±0.04 a	1.29±0.03 a	1.96±0.05 a
0.1 Hg	0.80±0.02 b	0.55±0.03 b	1.92±0.04 a
0.1 Hg+1.0 Zeolit	1.01±0.03 c	0.74±0.02 c	1.95±0.03 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

Çizelge 4.10. 21 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GSH düzeyi ($\mu\text{mol/g}$ protein)

DERİŞİM	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	1.77±0.03 a	1.32±0.04 a	1.98±0.04 a
0.01 Hg	1.30±0.02 b	1.22±0.07 a	1.94±0.06 a
0.01 Hg+0.1 Zeolit	1.35±0.02 b	1.28±0.05 a	1.93±0.06 a
0.0	1.77±0.03 a	1.32±0.04 a	1.98±0.04 a
0.1 Hg	1.11±0.04 b	0.82±0.03 b	1.93±0.04 a
0.1 Hg+1.0 Zeolit	1.07±0.06 b	1.03±0.03 c	1.96±0.05 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.4. Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GSH düzeyi üzerine sürenin etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P < 0.05$).

O. niloticus'un belirli bir dokusundaki GSH düzeyi üzerine cıva ve cıva+zeolit karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.4. (A, B ve C)'de gösterilmiştir. Aynı ortam derişiminin etkisinde solungaç GSH düzeyi cıvanın doğrudan etkisinde her iki ortam derişiminde, cıva+zeolit karışımının ise düşük ortam derişimlerinde sürenin uzamasına bağlı olarak artış göstermiştir ($P<0.05$). Karaciğer GSH düzeyi sürenin uzamasına bağlı olarak hem cıvanın tek başına hem de zeolitle birlikte etkisinde her iki ortam derişimlerinde de önemli olacak şekilde arttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). 7 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda karaciğer GSH düzeyi 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımında sırasıyla, %49 ve %39 düzeyinde artış göstermiştir. Kas dokusunda ise test edilen tüm cıva ve cıva+zeolit ortam derişimlerinde 7 ve 21 günlük süreler arasında önemli bir değişim saptanmamıştır ($P>0.05$).

4.3. GSH ile İlişkili Enzim Aktiviteleri

4.3.1. GPx Aktivitesi

O. niloticus'ta belirli bir sürede dokularda GPx aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.11 ve 4.12'de verilmiştir. Denenen süreler dikkate alındığında solungaç GPx aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 7 günlük süre sonunda 0.01 ve 0.1 mg/L Hg etkisinde artarken ($P<0.05$), cıva+selenyum karışımlarının etkisinde önemli bir değişim göstermemiştir ($P>0.05$). 21 günlük süre sonunda denenen tüm ortam derişimlerinin etkisinde cıvanın tek başına ve selenyumla birlikte etkisinde ise solungaç GPx aktivitesinde önemli bir değişim gözlenmemiştir ($P>0.05$). Karaciğer GPx aktivitesi her iki cıva ortam derişiminde ve denenen her iki süre sonunda önemli düzeyde artarken, cıva+selenyum karışımlarının ise yüksek ortam derişiminde 7 günlük süre sonunda arttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). 7. gün sonunda gözlenen artışın yüksek cıva ve cıva+selenyum karışımları arasında önemli istatistik ayırım gösterdiği saptanmıştır ($P<0.05$). 7 günlük süre sonunda 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımının etkisinde karaciğer GPx aktivitesinde sırasıyla, %75 ve %29 düzeyinde

artış belirlenmiştir. Kas dokusunda ise hem cıvanın doğrudan hem de selenyumla birlikte etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.11. 7 gün süreyle cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GPx aktivitesi (U/mg protein)

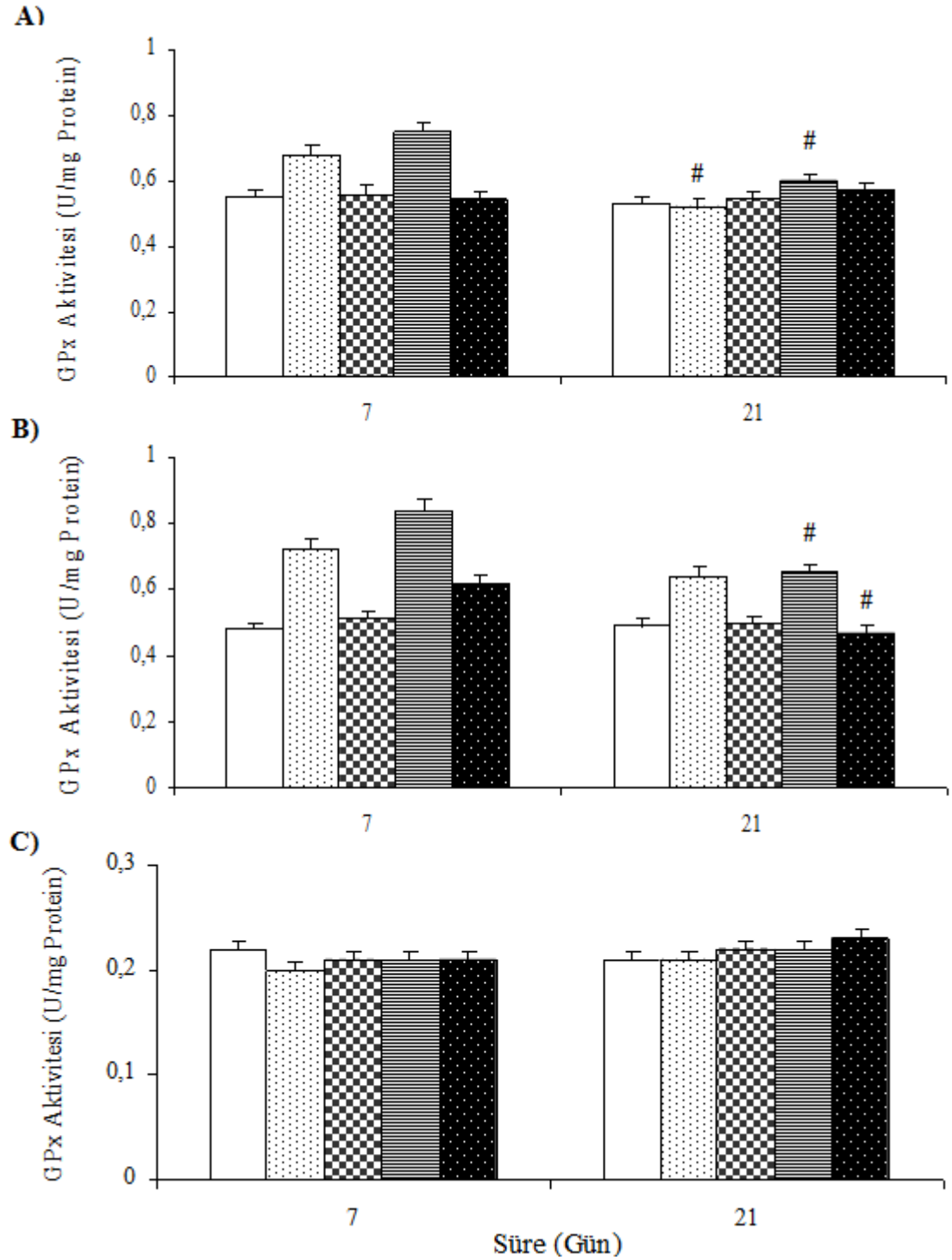
DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	0.55±0.02 a	0.48±0.03 a	0.22±0.03 a
0.01 Hg	0.68±0.01 b	0.72±0.04 b	0.20±0.02 a
0.01 Hg+0.1 Se	0.56±0.02 a	0.51±0.02 a	0.21±0.04 a
0.0	0.55±0.02 a	0.48±0.03 a	0.22±0.03 a
0.1 Hg	0.75±0.03 b	0.84±0.03 b	0.21±0.04 a
0.1 Hg+1.0 Se	0.54±0.03 a	0.62±0.02 c	0.21±0.02 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

Çizelge 4.12. 21 gün süreyle cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GPx aktivitesi (U/mg protein)

DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	0.53±0.04 a	0.49±0.02 a	0.21±0.02 a
0.01 Hg	0.52±0.03 a	0.64±0.02 b	0.21±0.03 a
0.01 Hg+0.1 Se	0.54±0.02 a	0.50±0.01 a	0.22±0.02 a
0.0	0.53±0.04 a	0.49±0.02 a	0.21±0.02 a
0.1 Hg	0.60±0.02 a	0.65±0.03 b	0.22±0.02 a
0.1 Hg+1.0 Se	0.57±0.04 a	0.47±0.03 a	0.23±0.03 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a ve b" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.5. Cıva ve cıva+selenyum ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GPx aktivitesi üzerine sürenin etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05).

O. niloticus'un belirli bir dokusundaki GPx aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.5. (A, B ve C)'de gösterilmiştir. Solungaç GPx aktivitesinde cıvanın doğrudan etkisinde her iki ortam derişiminde de süre arttıkça bir azalış gözlenirken ($P<0.05$); cıva+selenyum karışımının her iki ortam derişiminde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($P>0.05$). Karaciğer GPx aktivitesi süreye bağlı olarak hem cıvanın tek başına hem de selenyumla birlikte etkisinde yüksek ortam derişimlerinde önemli düzeyde azalmıştır ($P<0.05$). 7 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda karaciğer GPx aktivitesi 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımında sırasıyla, %22 ve %24 düzeyinde azalış göstermiştir. Bununla birlikte kas dokusunda süreye bağlı olarak tüm ortam derişimlerinde önemli bir değişim saptanamamıştır ($P>0.05$).

Denenen süreler sonunda *O. niloticus*'un dokularındaki GPx aktivitesine cıva ve cıva+zeolit karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.13 ve 4.14'de verilmiştir. Etkileşim süreleri dikkate alındığında solungaç GPx aktivitesinin sadece 7 günlük süre sonunda ve cıvanın tek başına etkisinde düşük ve yüksek ortam derişimlerinde önemli bir değişim gösterdiği ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında arttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Karaciğer GPx aktivitesi, düşük ve yüksek cıva derişimlerinin etkisinde denenen süreler sonunda, cıva+zeolit karışımlarının 7 günlük süre sonunda her iki ortam derişiminde, 21 günlük sürenin etkisinde ise sadece düşük ortam derişiminde artış göstermiştir ($P<0.05$). Karaciğer GPx aktivitesinde gözlenen bu artış 7 günlük süre sonunda düşük ve yüksek cıva ve cıva+zeolit karışımları arasında önemli olduğu ($P<0.05$) ve cıvanın doğrudan etkisinde bu artışın daha fazla olduğu saptanmıştır. 7 günlük süre sonunda 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımının etkisinde karaciğer GPx aktivitesinde sırasıyla, %75 ve %35 düzeyinde artış belirlenmiştir. Kas dokusunda ise hem cıvanın doğrudan hem de zeolit birlikte etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.13. 7 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GPx aktivitesi (U/mg protein)

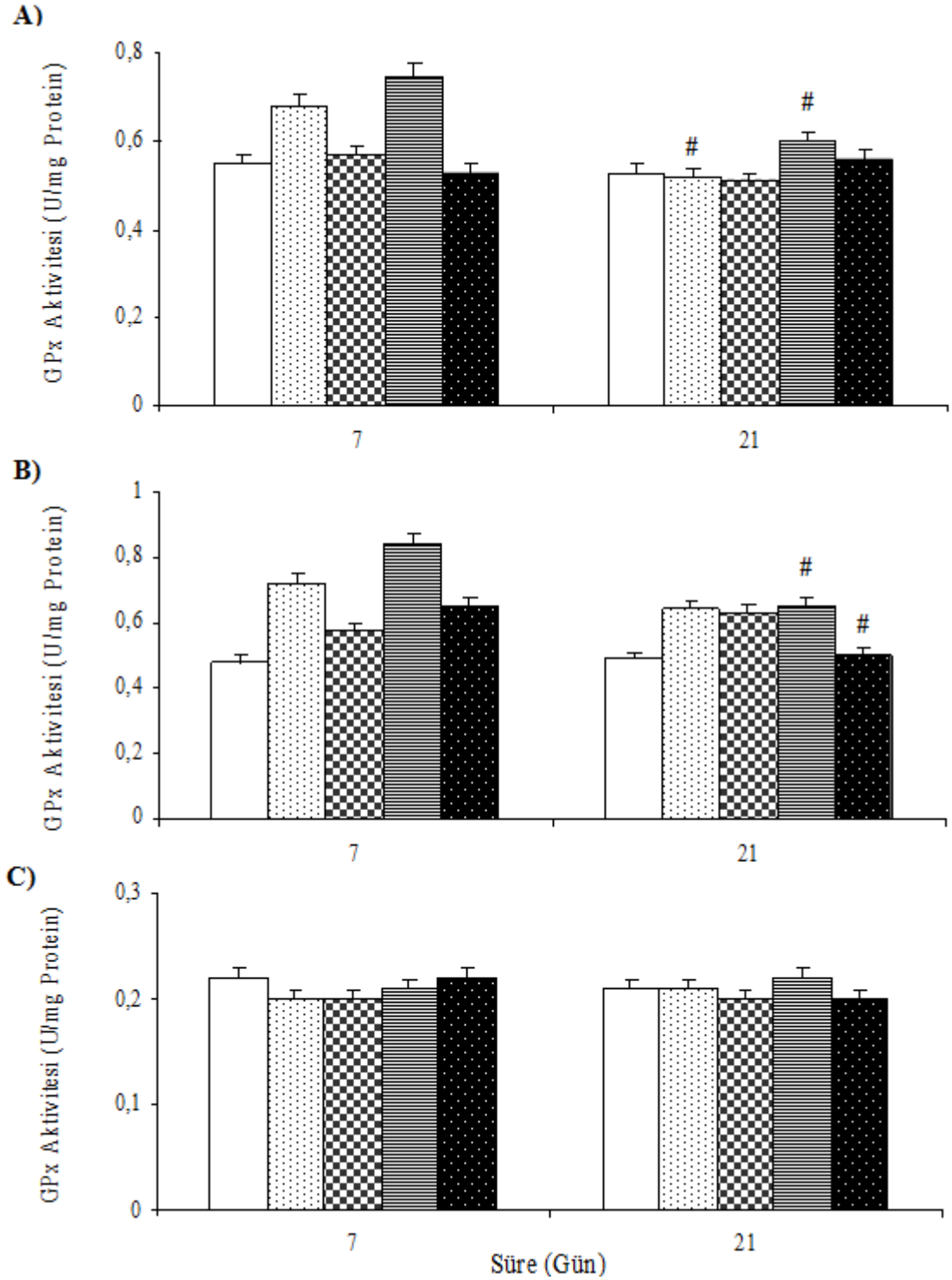
DERİŞİM	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	0.55±0.02 a	0.48±0.03 a	0.22±0.03 a
0.01 Hg	0.68±0.01 b	0.72±0.04 b	0.20±0.02 a
0.01 Hg+0.1 Zeolit	0.57±0.01 a	0.58±0.01 c	0.20±0.04 a
0.0	0.55±0.02 a	0.48±0.03 a	0.22±0.03 a
0.1 Hg	0.75±0.03 b	0.84±0.03 b	0.21±0.04 a
0.1 Hg+1.0 Zeolit	0.53±0.04 a	0.65±0.01 c	0.22±0.02 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Çizelge 4.14. 21 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GPx aktivitesi (U/mg protein)

DERİŞİM	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	0.53±0.04 a	0.49±0.02 a	0.21±0.02 a
0.01 Hg	0.52±0.03 a	0.64±0.02 b	0.21±0.02 a
0.01 Hg+0.1 Zeolit	0.51±0.02 a	0.63±0.03 b	0.20±0.03 a
0.0	0.53±0.04 a	0.49±0.02 a	0.21±0.02 a
0.1 Hg	0.60±0.02 a	0.65±0.03 b	0.22±0.02 a
0.1 Hg+1.0 Zeolit	0.56±0.05 a	0.50±0.02 a	0.20±0.03 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a ve b" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).



Şekil 4.6. Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GPx aktivitesi üzerine sürenin etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P < 0.05$).

O. niloticus'un belirli bir dokusundaki GPx aktivitesi üzerine cıva ve cıva+zeolit karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.6. (A, B ve C)'de gösterilmiştir. Solungaç GPx aktivitesi aynı ortam derişimin etkisinde süre arttıkça düşük ve yüksek cıva ortam derişimlerinde bir azalış gösterirken ($P<0.05$); cıva+zeolit karışımının her iki ortam derişiminde etki süresine bağlı olarak anlamlı bir değişim göstermemiştir ($P>0.05$). Karaciğer GPx aktivitesi hem cıvanın tek başına hem de cıva+zeolit karışımının etkisinde yüksek ortam derişimlerinde etki süresine bağlı olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($P<0.05$). 7 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda karaciğer GPx aktivitesi 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımında sırasıyla, %22 ve %23 düzeyinde azalış göstermiştir. Bununla birlikte kas dokusunda süreye bağlı olarak tüm ortam derişimlerinde önemli bir değişim saptanamamıştır ($P>0.05$).

4.3.2. GST Aktivitesi

O. niloticus'ta belirli bir sürede dokularda GST aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.15 ve 4.16'da verilmiştir. Her iki etkileşim süresi dikkate alındığında solungaç GST aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 7 günlük süre sonunda cıva ve cıva+selenyum karışımlarının düşük ve yüksek ortam derişimlerinin etkisinde arttığı ($P<0.05$) ve bu artışın cıvanın yüksek ortam derişimlerinin etkisinde daha fazla olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Bununla birlikte 21 günlük süre sonunda 0.1 mg/L Hg ortam derişimi hariç denenen tüm ortam derişimlerinde solungaç GST aktivitesinde önemli bir değişim gözlenmemiştir ($P>0.05$). Karaciğer GST aktivitesi düşük ve yüksek ortam derişimlerinde cıvanın doğrudan etkisinde 7 ve 21 günlük süreler sonunda, cıva+selenyum karışımlarında ise 7 günlük süre sonunda önemli bir artış göstermiştir ($P<0.05$). Kas GST aktivitesinde ise sadece 7 günlük sürenin sonunda 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımının etkisinde önemli bir artış saptanmıştır ($P<0.05$). Analiz edilen tüm dokularda 7 günlük süre sonunda yüksek ortam derişimlerinde cıva ve cıva+selenyum karışımları arasında gözlenen artışların önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). 7 günlük süre sonunda 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg

+ 1.0 mg/L Se karışımının etkisinde GST aktivitesi sırasıyla, solungaçta %64 ve %35, karaciğerde %61 ve %29, kasta ise %15 ve %10 düzeyinde artış göstermiştir.

Çizelge 4.15. 7 gün süreyle cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GST aktivitesi (U/mg protein)

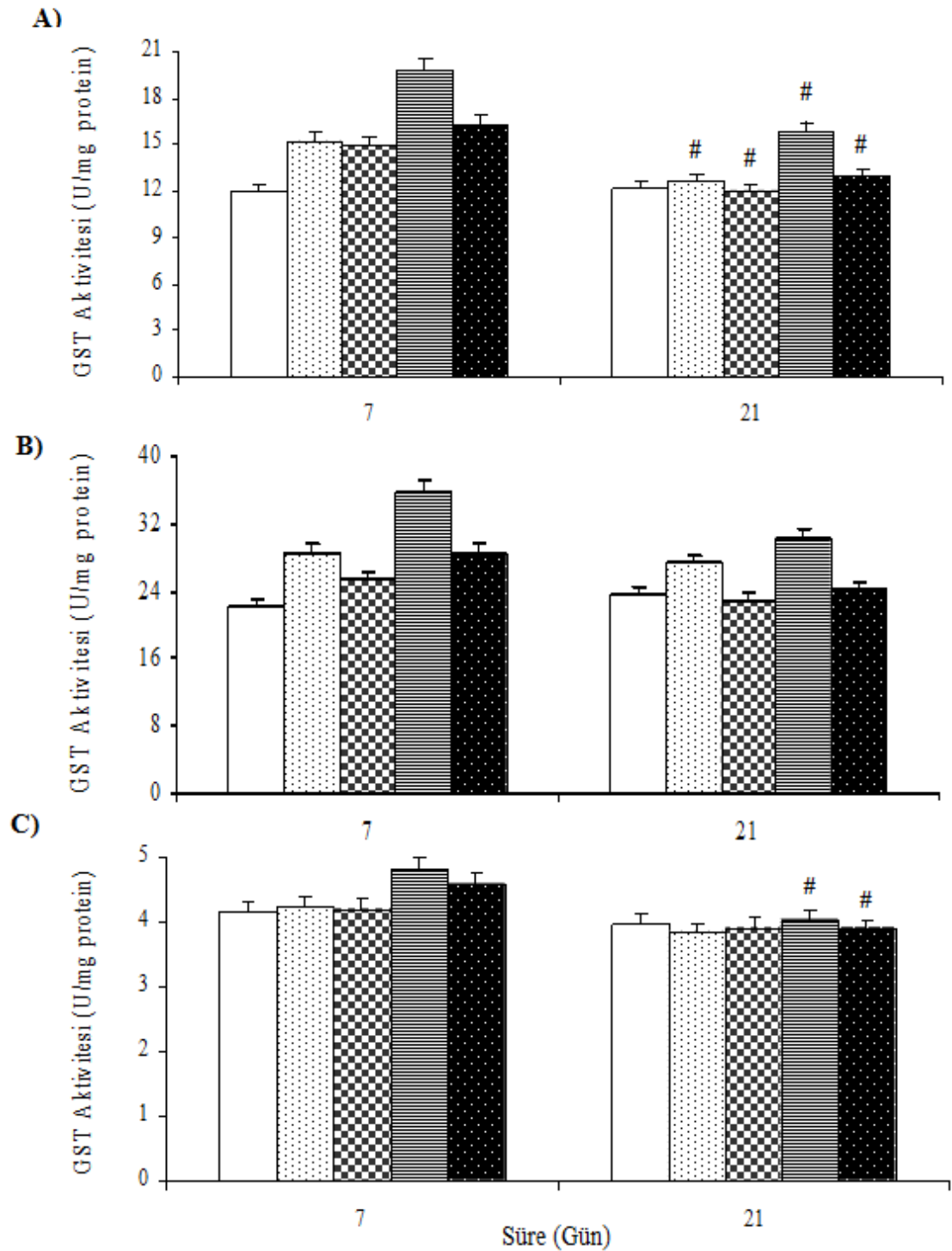
DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	12.03±0.21 a	22.15±0.44 a	4.17±0.05 a
0.01 Hg	15.26±0.33 b	28.45±0.20 b	4.22±0.07 a
0.01 Hg+0.1 Se	14.90±0.29 b	25.19±0.31 c	4.20±0.06 a
0.0	12.03±0.21 a	22.15±0.44 a	4.17±0.05 a
0.1 Hg	19.71±0.42 b	35.72±0.68 b	4.81±0.04 b
0.1 Hg+1.0 Se	16.29±0.19 c	28.63±0.54 c	4.59±0.03 c

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Çizelge 4.16. 21 gün süreyle cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GST aktivitesi (U/mg protein)

DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	12.19±0.17 a	23.48±0.57 a	3.98±0.07 a
0.01 Hg	12.56±0.24 a	27.24±0.15 b	3.83±0.09 a
0.01 Hg+0.1 Se	11.95±0.38 a	22.85±0.78 a	3.90±0.05 a
0.0	12.19±0.17 a	23.48±0.57 a	3.98±0.07 a
0.1 Hg	15.81±0.41 b	30.18±0.34 b	4.02±0.06 a
0.1 Hg+1.0 Se	12.93±0.19 a	24.09±0.17 a	3.89±0.07 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a ve b" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).



Şekil 4.7. Cıva ve cıva+selenyum ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GST aktivitesi üzerine sürenin etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'un belirli bir dokusundaki GST aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.7. (A, B ve C)'de gösterilmiştir. Aynı ortam derişimin etkisinde süre arttıkça solungaç GST aktivitesi hem cıvanın hem de cıva+selenyum karışımının her iki ortam derişiminde azalış göstermiştir ($P<0.05$). Karaciğer GST aktivitesinde süreye bağlı olarak hem cıvanın tek başına hem de selenyumla birlikte etkisinde tüm ortam derişimlerinde anlamlı bir değişim saptanmamıştır ($P>0.05$). Kas GST aktivitesi ise yüksek cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisinde süreye bağlı olarak bir azalış göstermiştir ($P<0.05$). 7 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda GST aktivitesi 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımının etkisinde sırasıyla, solungaçta %20 ve %21, kasta ise %16 ve %15 düzeyinde azalmıştır.

O. niloticus'ta belirli bir sürede dokularda GST aktivitesi üzerine cıva ve cıva+zeolit karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.17 ve 4.18'de verilmiştir. Denenen süreler dikkate alındığında solungaç GST aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 7 günlük süre sonunda cıva ve cıva+zeolit karışımlarının düşük ve yüksek ortam derişimlerinde, 21 günlük süre sonunda ise sadece 0.1 mg/L Hg etkisinde önemli bir artış kaydetmiştir ($P<0.05$). Karaciğer GST aktivitesi 7 günlük süre sonunda cıva ve cıva+zeolit karışımlarının her iki ortam derişimlerinde de artarken ve 21 günlük süre sonunda 0.01 Hg mg/L + 0.1 g/L Zeolit derişimi hariç diğer ortam derişimlerinin etkisinde artış göstermiştir ($P<0.05$). Solungaç ve karaciğer dokularında gözlenen artışların 7 günlük süre sonunda yüksek ortam derişimlerinde cıva ve cıva+zeolit karışımları arasında anlamlı olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). 7 günlük süre sonunda 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımının etkisinde GST aktivitesi sırasıyla, solungaçta %64 ve %34, karaciğerde %61 ve %36 düzeyinde artış göstermiştir. Kas GST aktivitesi ise sadece 7 günlük süre sonunda 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımının etkisinde önemli bir artış göstermiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.17. 7 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GST aktivitesi (U/mg protein)

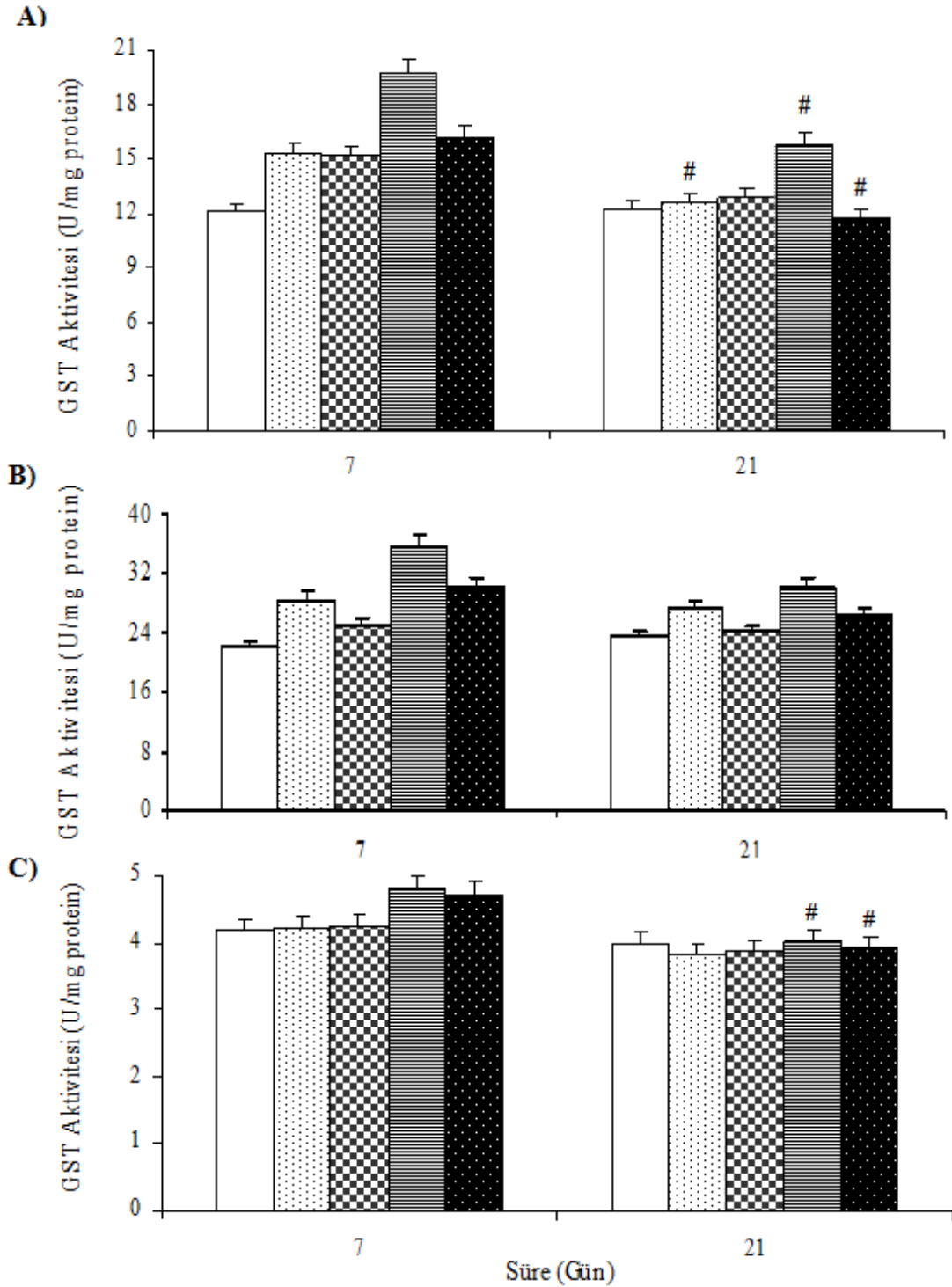
DERİŞİM	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	12.03±0.21 a	22.15±0.44 a	4.17±0.05 a
0.01 Hg	15.26±0.33 b	28.45±0.20 b	4.22±0.07 a
0.01 Hg+0.1 Zeolit	15.11±0.43 b	25.05±0.21 c	4.25±0.08 a
0.0	12.03±0.21 a	22.15±0.44 a	4.17±0.05 a
0.1 Hg	19.71±0.42 b	35.72±0.68 b	4.81±0.04 b
0.1 Hg+1.0 Zeolit	16.17±0.24 c	30.10±0.32 c	4.72±0.07 b

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Çizelge 4.18. 21 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GST düzeyi (U/mg protein)

DERİŞİM	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	12.19±0.17 a	23.48±0.57 a	3.98±0.07 a
0.01 Hg	12.56±0.24 a	27.24±0.15 b	3.83±0.09 a
0.01 Hg+0.1 Zeolit	12.87±0.65 a	24.11±0.48 a	3.87±0.06 a
0.0	12.19±0.17 a	23.48±0.57 a	3.98±0.07 a
0.1 Hg	15.81±0.41 b	30.18±0.34 b	4.02±0.06 a
0.1 Hg+1.0 Zeolit	11.73±0.57 a	26.29±0.15 c	3.92±0.09 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).



Şekil 4.8. Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GST aktivitesi üzerine sürenin etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P < 0.05$).

O. niloticus'un belirli bir dokusundaki GST aktivitesi üzerine cıva ve cıva+zeolit karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.8. (A, B ve C)'de gösterilmiştir. Aynı ortam derişiminin etkisinde süre arttıkça solungaç GST aktivitesi 0.01 ve 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımında azalış göstermiştir ($P<0.05$). Karaciğer GST aktivitesinde süreye bağlı olarak cıva ve cıva+zeolit karışımlarının tüm ortam derişimlerinde anlamlı bir değişim saptanmamıştır ($P>0.05$). Kas GST aktivitesinde ise cıvanın tek başına ve zeolitle birlikte etkisinde yüksek ortam derişimlerinde süreye bağlı olarak bir azalış belirlenmiştir ($P<0.05$). 7 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda GST aktivitesi 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımının etkisinde sırasıyla, solungaçta %20 ve %27, kasta ise %17 ve %16 düzeyinde azalmıştır.

4.3.3. GR Aktivitesi

Denenen sürelerde *O. niloticus*'un dokulardaki GR aktivitesine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.19 ve 4.20'de verilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 7 günlük süre sonunda solungaç ve karaciğer GR aktiviteleri cıvanın doğrudan ve selenyumla birlikte etkisinde düşük ve yüksek ortam derişimlerinin etkisinde azaldığı ($P<0.05$) ve bu azalışın yüksek ortam derişimlerinde cıvanın tek başına etkisinde daha fazla olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). 21 günlük süre sonunda ise 0.1 mg/L Hg etkisinde solungaç ve karaciğer dokularında GR aktivitesindeki azalış ($P<0.05$) dışında denenen diğer ortam derişimlerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir ($P>0.05$). 7. gün sonunda 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımının etkisinde GR aktivitesi sırasıyla, solungaçta %43 ve %29, karaciğerde %48 ve %32 düzeyinde bir azalış göstermiştir. Kas GR aktivitesinde 7 ve 21 günlük sürelerde cıva ve cıva+selenyum karışımlarının tüm ortam derişimlerinde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.19. 7 gün süreyle cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GR aktivitesi (U/mg protein)

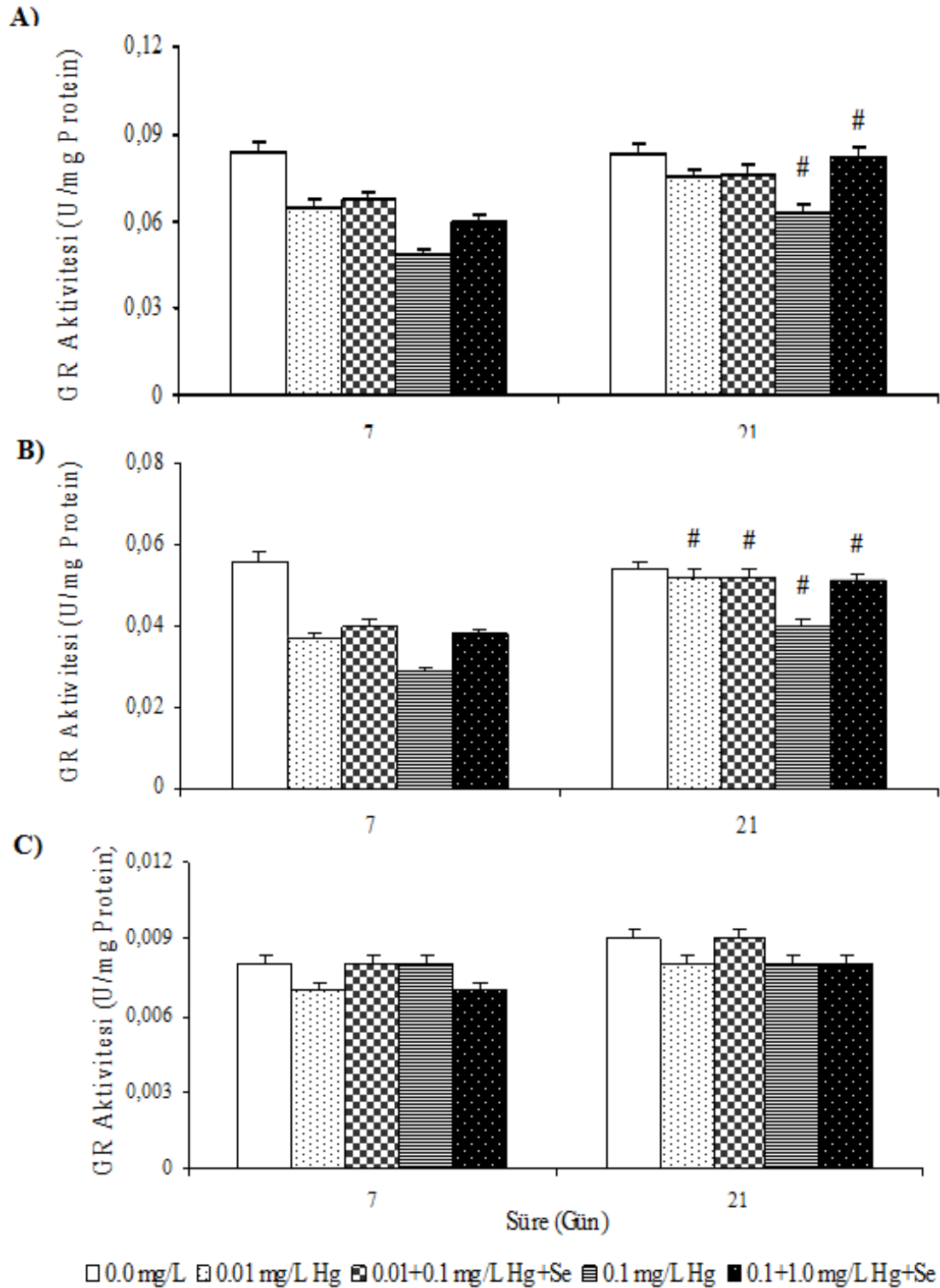
DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	0.084±0.002 a	0.056±0.003 a	0.008±0.002 a
0.01 Hg	0.065±0.003 b	0.037±0.002 b	0.007±0.001 a
0.01 Hg+0.1 Se	0.067±0.001 b	0.040±0.002 b	0.008±0.002 a
0.0	0.084±0.002 a	0.056±0.003 a	0.008±0.002 a
0.1 Hg	0.048±0.004 b	0.029±0.004 b	0.008±0.002 a
0.1 Hg+1.0 Se	0.060±0.003 c	0.038±0.002 c	0.007±0.001 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup “a, b ve c” harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Çizelge 4.20. 21 gün süreyle cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GR aktivitesi (U/mg protein)

DERİŞİM (mg/L)	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	0.083±0.003 a	0.054±0.002 a	0.009±0.002 a
0.01 Hg	0.075±0.004 a	0.052±0.003 a	0.008±0.001 a
0.01 Hg+0.1 Se	0.076±0.003 a	0.052±0.004 a	0.009±0.001 a
0.0	0.083±0.003 a	0.054±0.002 a	0.009±0.002 a
0.1 Hg	0.063±0.002 b	0.040±0.001 b	0.008±0.002 a
0.1 Hg+1.0 Se	0.082±0.002 a	0.051±0.002 a	0.008±0.001 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup “a ve b” harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).



Şekil 4.9. Cıva ve cıva+selenyum ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GR aktivitesi üzerine sürenin etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayırımı göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'un belirli bir dokusundaki GR aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.9. (A, B ve C)'de gösterilmiştir. Aynı ortam derişimin etkisinde süre arttıkça solungaç GR aktivitesi test edilen tüm ortam derişimlerinde artış göstermiş ve bu artışın 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımında anlamlı olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Karaciğer GR aktivitesinde süreye bağlı olarak hem cıvanın tek başına hem de selenyumla birlikte etkisinde tüm ortam derişimlerinde önemli bir artış ve bu artış da istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($P<0.05$). 7 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda GR aktivitesi 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 mg/L Se karışımının etkisinde sırasıyla, solungaçta %31 ve %37, karaciğerde ise %38 ve %34 düzeyinde artmıştır. Kas GR aktivitesi ise süreye bağlı olarak düşük ve yüksek ortam derişimlerinde cıva ve cıva+selenyum karışımlarında önemli bir değişim göstermemiştir ($P>0.05$).

O. niloticus'ta belirli bir sürede dokulardaki GR aktivitesi üzerine cıva ve cıva+zeolit karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.21 ve 4.22'de verilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında solungaç GR aktivitesi 7 günlük süre sonunda cıvanın doğrudan ve zeolitle birlikte düşük ve yüksek ortam derişimlerinin etkisinde ($P<0.05$), 21 günlük süre sonunda ise sadece 0.1 mg/L Hg etkisinde önemli bir azalış göstermiştir ($P<0.05$). Karaciğer GR aktivitesi, hem cıva hemde cıva+zeolit karışımlarının etkisinde 7 günlük süre sonunda her iki ortam derişiminde; 21 günlük süre sonunda ise sadece yüksek ortam derişiminin etkisinde anlamlı olacak şekilde azalmıştır ($P<0.05$). Karaciğer dokusunda gözlenen bu azalış 7 günlük süre sonunda yüksek cıva ve cıva+zeolit karışımı arasında istatistiksel ayırım göstermiş olup cıvanın tek başına etkisinde GR aktivitesinin daha fazla azaldığı saptanmıştır ($P<0.05$). 7 günlük süre sonunda 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımının etkisinde GR aktivitesi karaciğerde %48 ve %29 düzeyinde bir azalış göstermiştir. Kas GR aktivitesinde ise belirlenen süreler sonunda cıva ve cıva+zeolit karışımlarının tüm ortam derişimlerinde istatistiksel bir değişim saptanmamıştır ($P>0.05$).

Çizelge 4.21. 7 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GR aktivitesi (U/mg protein)

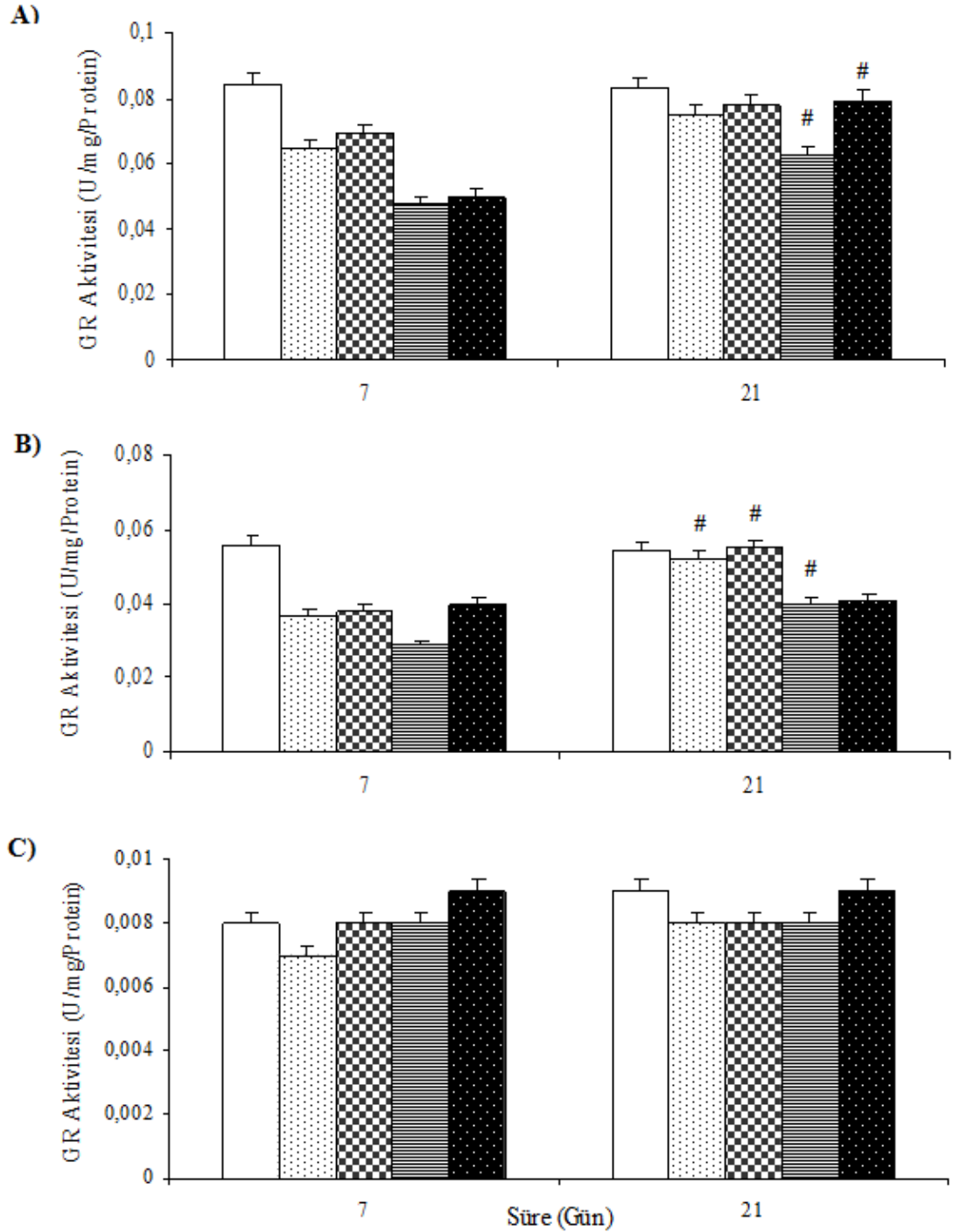
DERİŞİM	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	0.084±0.002 a	0.056±0.003 a	0.008±0.002 a
0.01 Hg	0.065±0.003 b	0.037±0.002 b	0.007±0.001 a
0.01 Hg+0.1 Zeolit	0.069±0.002 b	0.038±0.003 b	0.008±0.001 a
0.0	0.084±0.002 a	0.056±0.003 a	0.008±0.002 a
0.1 Hg	0.048±0.004 b	0.029±0.004 b	0.008±0.002 a
0.1 Hg+1.0 Zeolit	0.050±0.002 b	0.040±0.004 c	0.009±0.001 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Çizelge 4.22. 21 gün süreyle cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki GR aktivitesi (U/mg protein)

DERİŞİM	SOLUNGAÇ	KARACİĞER	KAS
0.0	0.083±0.003 a	0.054±0.002 a	0.009±0.002 a
0.01 Hg	0.075±0.004 a	0.052±0.003 a	0.008±0.001 a
0.01 Hg+0.1 Zeolit	0.078±0.004 a	0.055±0.003 a	0.008±0.002 a
0.0	0.083±0.003 a	0.054±0.002 a	0.009±0.002 a
0.1 Hg	0.063±0.002 b	0.040±0.001 b	0.008±0.002 a
0.1 Hg+1.0 Zeolit	0.079±0.003 a	0.041±0.002 b	0.009±0.001 a

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuş olup "a ve b" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki ayrımı saptamak için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).



Şekil 4.10. Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta solungaç (A), karaciğer (B) ve kas (C) dokularındaki GR aktivitesi üzerine sürenin etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05).

O. niloticus'un belirli bir dokusundaki GR aktivitesi üzerine cıva ve cıva+zeolit karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.10. (A, B ve C)'de gösterilmiştir. Aynı ortam derişimin etkisinde süre arttıkça solungaç GR aktivitesi hem cıvanın tek başına hem de zeolitle birlikte etkisinde tüm ortam derişimlerinde artış göstermiş ancak bu artışın 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). 7 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda GR aktivitesi 0.1 mg/L Hg ve 0.1 mg/L Hg + 1.0 g/L Zeolit karışımının etkisinde sırasıyla, solungaçta %31 ve %58 düzeyinde artmıştır. Karaciğer GR aktivitesi süreye bağlı olarak cıvanın her iki ortam derişiminde, cıva+zeolit karışımının ise düşük ortam derişiminde önemli bir artış göstermiştir ($P<0.05$). Kas dokusundaki GR aktivitesinde düşük ve yüksek ortam derişimlerinde cıva ve cıva+zeolit karışımlarında etki süreleri arasında istatistiksel bir ayrım belirlenmemiştir ($P>0.05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sunulan çalışmada, cıvanın yüksek ortam derişiminde ve 21 günlük deney süresince balıklarda ölüm gözlenmemiştir. Metallerin yüksek ortam derişimlerinin etkisinde organizmaların hayatta kalabilmeleri, metal iyonlarının hücre içi konsantrasyonlarının regüle edilebilme kapasitesiyle yakından ilişkilidir (Azevedo ve ark., 2007). Sucul ortamlarda bulunan toksik ağır metallerin çoğu, akuatik organizmaların iç dinamiklerinde önemli değişikliklere neden olmaktadır (Nussey ve ark., 1995). Bununla birlikte akuatik organizmaların çoğu antioksidan sistem ve detoksifikasyon mekanizması gibi koruyucu mekanizmalarıyla belirli düzeylerdeki ağır metal kirliliği bulunan ortamlarda yaşamlarını sürdürebilmektedir (Geret ve Bebianno, 2004). Özellikle metalin kronik etkisinde moleküler ve hücresele düzeylerdeki koruyucu mekanizmalar toksik metal stresine uyumda önemli bir rol oynamaktadır (Maracine ve Segner, 1998)

Akuatik organizmalar arasında balıklar, çeşitli ağır metallerin zararlı etkilerine maruz kalmaları nedeniyle sucul ekosistemlerdeki metal kirliliğinin izlenmesinde en önemli organizmalar olarak kullanılmaktadırlar (Van der Oost ve ark., 2003). Balıklar ağır metallerle kontaminasyon süreçlerinde, metallerin ya doğrudan solungaç epiteli ve deri yoluyla veya dolaylı olarak bağırsaklar aracılığıyla biyolojik bariyerleri geçerek vücuda alındığı ve solungaç, karaciğer ve böbrek gibi metabolik olarak aktif dokularda biriktiği belirlenmiştir (Mzimela ve ark., 2003). Bu nedenle toksik metallerin alınımları ve birikiminin kontrolü, canlı organizmalar için oldukça önemlidir. Sudaki besin zincirinin önemli bir öğesi olan balıklar üzerinde olumsuz bir etkinin oluşması, ekosistemin geleceği için risk oluşturacağından balıklarda cıva birikiminin ve toksik etkilerinin çalışılması önemlidir. Böylece özellikle başta balıklar olmak üzere akuatik organizmalardaki metallerin biyobirikiminin belirlenmesi aynı zamanda sucul ortamlardaki ağır metallerin düzeylerinin belirlenmesine de olanak sağlayacaktır. Balıklar, sudaki besin zincirinin son halkasını oluşturmaları ve insanlar tarafından besin kaynağı olarak tüketilmesi nedeniyle, birçok ekotoksikolojik çalışma balıklardaki ağır metal birikiminin

belirlenmesine yönelik olarak yapılmıştır (Çogun ve ark., 2006; Alhas ve ark., 2009; Fırat ve ark., 2009).

Tilapia (*Oreochromis* sp.) dünyada yaygın şekilde kültürü yapılan tatlı su balıklarından birisidir. Ekotoksikolojik çalışmaların çoğunda bu tür, akuatik ekosistemlerdeki kirleticilerin etkilerini değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Tilapia yüksek büyüme hızı, farklı diyetlere adaptasyondaki yeteneği, hastalıklara ve taşıma esnasındaki streslere direnç göstermeleri, kolay üremeleri ve ağır metal stresini de içeren çeşitli toksik maddelere karşı geniş tolerans yeteneği gibi farklı özellikleri nedeniyle toksikolojik çalışmalarda kullanılan iyi bir biyolojik modeldir (Fontainhas-Fernandes, 1998).

Sunulan çalışmada *O. niloticus*'un karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki Hg birikiminin hem cıvanın tek başına hem de cıva+ selenyum ve cıva+ zeolit karışımlarının ortam derişimlerinin etkisinde ve süreye bağlı olarak arttığı saptanmıştır. Balık dokularındaki metal birikiminin metallerin konsantrasyonuna, etki süresine, suyun kimyasal özelliklerine ve balıkların metabolik aktivitelerine bağlı olarak farklılık gösterebildiği belirtilmektedir (Heath, 1995). 28 gün süreyle Zn, Cd ve Zn+Cd karışımlarının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer dokularındaki metal düzeylerinin tüm ortam derişimlerinde önemli bir şekilde arttığı belirlenmiştir (Fırat ve ark., 2009). Hg birikimiyle ilgili yapılan bir çalışmada Hg'nin farklı ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *I. melas*'ın karaciğer dokusundaki Hg birikiminin derişime ve süreye bağlı olarak arttığı belirlenmiştir (Elia ve ark., 2003). Cu, Cu+EDTA, Pb ve Pb+ EDTA'nın etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki metal düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki Cu ve Pb düzeylerinin ortam derişimi ve süreye bağlı olarak arttığı ancak bu artışın ortamda EDTA bulunduğunda EDTA'nın şelatör etkisine bağlı olarak azaldığı belirtilmiştir (Gök ve ark., 2008).

Bu araştırmada denenen tüm ortam derişimlerinin etkisinde ve çalışılan sürelerde cıva birikiminin en fazla solungaç dokusunda olduğu ve bunu sırasıyla karaciğer ve kas dokusunun izlediği saptanmıştır. Kas dokusunda diğer iki dokuya oranla oldukça düşük düzeyde Hg birikimi olduğu gözlenmiştir. Solungaç dokusundaki metal birikimi, balıkların yaşadığı ortamdaki metal düzeylerini

yansıtırken, karaciğerdeki birikimi metallerin depo düzeylerini göstermektedir (Rao ve Padmaja, 2000). Bu nedenle balıklardaki karaciğer ve solungaç dokuları, balıkların diğer dokularına oranla, su kirliliğinin indikatör dokuları olarak kabul edilmektedir (Karadede ve ark., 2004). Farklı balık türlerinde yapılan çalışmalarda ağır metallerin karaciğer ve solungaç gibi metabolik olarak aktif dokularda daha yüksek düzeylerde biriktiği gözlenmiştir (Kargın ve Erdem, 1991; Çogun ve ark., 2006 Alhas ve ark., 2009).

Balık solungaçları, yalnızca bir solunum organı değil aynı zamanda osmoregülasyon ve boşaltım gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonların da yürütüldüğü bir dokudur. Solungaçlar, su ile doğrudan teması ve geniş yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle çevresel kirleticilere karşı çok duyarlıdır (Monteiro ve ark., 2008). Bu nedenle solungaçlar sudaki kirleticilerin toksik etkilerinden en fazla etkilenen doku olarak düşünülmektedir. Solungaçlar suda çözülmüş metal iyonların alınmasında ve birikiminde önemli bir dokudur (McDonald ve Wood, 1993). Bu nedenle solungaç dokusundaki koruyucu prosesler toksik metal stresine akklimatasyonda önemli rol oynamaktadır (Firat ve Kargın, 2010). Solungaç dokusunun sudaki metalin alınımında ilk yol olduğu iyi bilinmektedir. Solungaçlar su için geniş yüzey alanına sahip olması, su ile kan arasındaki difüzyon mesafesinin kısa olmasına bağlı olarak dış ve iç ortam arasında çok yakın bir temasın oluşmasını sağlayan bir doku olarak önem taşımaktadır (Firat ve Kargın, 2010). Tüm organizmalarda karaciğer, temel metabolik olaylarda işlevi olan ve genelde toksik maddelerin parçalanması, atılımı, biyotransformasyonu ve birikimde esas organ olarak işlev görmektedir (Triebkorn ve ark., 1997). Balık karaciğerindeki biyokimyasal ve histolojik değişiklikler, kirleticilerin neden olduğu etkilerin izlenmesinde önemli belirteçlerdir (Biagianti-Risbourg, 1997). Solungaç, karaciğer ve böbrek gibi metabolik olarak aktif dokular kas gibi diğer dokulara oranla daha fazla metal biriktirebilmektedirler (Alhas ve ark., 2009). Önceki çalışmalarla benzer şekilde araştırmamızda da kas dokusuna oranla solungaç ve karaciğerin daha yüksek miktarlarda cıva biriktirdiği belirlenmiştir.

Balıklar, tatlı su sistemlerinde metal kirlilik düzeylerin belirlenmesinde, kullanılan en önemli indikatör türlerden biri olarak refere edilmektedir (Rashed,

2001). Ekonomik ve yenilebilir türler metallerin insan sağlığına olası etkilerini belirlemek içinde araştırılmaktadırlar.

Araştırmamızda *O. niloticus*'un tüm dokularında cıva birikiminin cıvanın tek başına etkisine oranla Hg+Se karışımlarında anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır. Selenyumun balıklarda cıva alınımları yada atılım oranlarını etkileyerek dokulardaki metal birikimini azalttığı düşünülmektedir. *O. mykiss*'te intraperitoneal olarak verilen Hg'nin dokularda birikimi üzerine besin yoluyla verilen Se'un etkisinin incelendiği bir çalışmada dokulardaki Hg birikiminin Se varlığında azaldığı saptanmıştır (Bjerregaard ve ark., 1999). Araştırmacılar bu azalmanın selenyumun cıvanın vücuttan atılımını sağlayarak gerçekleştirdiğini ve bu nedenle selenyum cıvanın alınımlarını engellemesinden çok atılımını sağlayarak Hg birikimini azalttığını belirtmişlerdir. *Danio rerio*'da vücuttaki cıva birikiminin yaklaşık %15'nin selenyum uygulamasından sonra 48 saat içinde vücuttan atıldığı rapor edilmiştir (Bjerregaard ve ark., 2011). Yine selenyumun turna balığının (*Esox lucius*) dokularındaki Hg birikimini azalttığı belirlenmiştir (Klaverkamp ve ark., 1983). Araştırmacılar selenyumun cıva alınımlarını azaltarak yada cıvanın atılımını artırarak balıklardaki metal birikimini azalttığını belirtmişlerdir. *Perna viridis* türü midyelerde Hg'nin birikimi üzerine Se etkisinin araştırıldığı çalışmada selenyumun varlığında dokulardaki Hg birikiminin önemli oranlarda azaldığı belirlenmiştir (Wang ve ark., 2004). Araştırmacılar selenyumun Hg toksitesi üzerine koruyucu bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda *O. niloticus*'un solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki cıva birikiminin cıvanın tek başına etkisine oranla cıva+zeolit karışımlarında anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. Zeolitin iyon değiştirme yeteneği ve moleküler elek özelliğine sahip olması nedeniyle ortamdaki serbest cıva bulunurluğunu azaltarak dokulardaki cıva birikimini düşürdüğü düşünülmektedir. Zeolitlerin ağır metallere karşı ilgisi çok yüksektir. Bazı araştırmalarda katyon değiştirebilme yeteneklerinden dolayı zeolitlerin sucul ortamlardan ağır metallerin uzaklaştırılmasında kullanıldığı birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Mishra ve Jain, 2009; Coğun ve Şahin, 2012). Zeolitlerin etkisiyle akuatik ekosistemlerdeki ağır metal derişiminin azalması

sonucu balık dokularındaki metal düzeylerinin de azaldığı belirtilmiştir (Jain ve ark., 1997; Shrivastava ve ark., 2001).

Yapılan birçok çalışmada zeolit varlığında dokularda metallerin birikim düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir. Kurşun ve kurşun+zeolit karışımlarının etkisine bırakılan *C. carpio*'nun dokularında kurşun düzeylerinin kurşunun tek başına etkisine oranla zeolitle birlikte etkisinde azaldığı rapor edilmiştir (Tepe ve ark., 2004). *O. niloticus*'ta bakır birikimi üzerine zeolit etkisinin araştırıldığı çalışmada dokulardaki Cu birikiminin Cu'nun tek başına etkisine oranla Cu+Zeolit karışımlarının etkisinde azaldığı saptanmıştır (Dinler, 2005). Araştırmacılar, zeolit iyon değiştirme yeteneği nedeniyle su ortamındaki bakırın serbest bulunurluğunu azaltarak Cu birikimini azalttığını belirtmişlerdir. Pb ve Pb+Zeolit farklı ortam derişimlerin etkisinde *O. niloticus*'un karaciğer, solungaç, böbrek ve kas dokularındaki kurşun birikimini araştırıldığı bir çalışmada Pb düzeyinin ortam derişimi ve sürenin artışına bağlı olarak tüm dokularda arttığını ancak bu artışın metabolik olarak daha aktif olan solungaç, böbrek ve karaciğer dokularında kasa oranla daha yüksek olduğunu gözlemlemişler (Çoğun ve Sahin, 2012). Araştırmacılar, tüm dokulardaki Pb birikiminin Pb+Zeolit karışımları etkisinde Pb'nin tek başına etkisine oranla daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Cu ve Cd'nin tek başlarına ve Ca ve Zeolit ile birlikte etkisinde *O. niloticus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki metal birikimleri ile ilgili yapılan bir çalışmada metal birikiminin metallerin tek tek etkilerine oranla metal+Ca ve metal+zeolit derişimlerinde azaldığı ve Ca ile zeolit metallerin biyobirikimi üzerine koruyucu bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Çimrin Reyhan, 2014).

Balıklar yaşadıkları doğal ortamlarında birçok farklı kirleticilerin etkisi altında kalabilmektedir. Balıklardaki fizyolojik ve biyokimyasal parametreler bu çevresel kirleticilerin olumsuz etkilerinin duyarlı biyobelirteçleri olarak toksikolojik çalışmalarda kullanılmaktadır (Almeida ve ark., 2002). Ağır metallerin etkisinde balıkların dokularındaki stres yanıtlarının analizi, hem bu canlıların sağlık durumları hakkında bilgi vermesi hem de metallerin toksik etki mekanizmaları ve bunlara karşı oluşan savunma proseslerini anlamaya yardımcı olması bakımından önemlidir. Metallerin canlı vücudunda doğrudan yada dolaylı olarak ROT'ları oluşturduğu iyi

bilinmektedir. Cu, Cr ve Fe gibi redoks-aktif metaller doğrudan redoks döngüsüyle, Hg, Cd ve Pb gibi redoks-inaktif metaller ise özellikle de tiyol içeren moleküller ve enzimler gibi hücredeki önemli antioksidanları baskılayarak oksidatif strese neden olmaktadır (Quig, 1998). Hem redoks-aktif hem de redoks-inaktif metaller ROT oluşumuna neden olarak proteinler, DNA ve hücrenel lipidlerde hasarlara neden olmaktadır (Pinto ve ark., 2003).

Akuatik ortamlara giren kirleticiler, hem sucul ekosistemlere hem de burada yaşayan canlı organizmalara ciddi zararlar verdiğiinden, son yıllarda ekotoksikolojik çalışmalarda kirleticilerin indüklediği oksidatif strese karşı sucul organizmalardaki yanıt mekanizmalarının çalışılmasına büyük bir önem verilmektedir (Soares ve ark., 2008). Çoğu kirleticiler serbest radikaller oluşturarak veya antioksidan enzim sistemleri değiştirerek oksidatif hasara neden olmaktadır. Bununla birlikte sucul organizmalar oksidatif strese karşı hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan mekanizmaları ile bir yanıt oluşturmaktadırlar. Bu yanıt mekanizmaların en önemlilerinden biri de GSH ve onunla ilişkili enzim sistemleridir (GPx, GR ve GST gibi).

Glutasyon (L- γ -glutamil-sistein-glisin) hücre içi indirgeyici ve nükleofil olarak davranan hücrede esas olarak indirgenmiş formda (GSH) bulunan bir tiyoldür (Pena-Llopis ve ark., 2001). GSH, şelatlayıcı, detoksifiye edici, oksiradikal süpürücü ve glutasyon peroksidazların katalizlediği detoksifikasyon reaksiyonlarındaki rolleri ile ağır metallerle karşı hücrenin ilk savunma hattını oluşturduğu ifade edilmektedir (Sies, 1999). GSH bütün hücrelerde bulunan ve antioksidan özellikleri olan bir molekül olup protein yapısı dışındaki sülfidril içeriğinin büyük bir kısmını (yaklaşık %90'nı) oluşturmaktadır.

GSH, antioksidan ve detoksifikasyon savunma mekanizmalarının önemli proseslerine katılan tek sistein residüsüne sahip enzimatik olmayan bir antioksidan ve tripeptittir. GSH, oksijen radikallerini temizleyerek hücre zarlarını lipid peroksidasyonuna karşı koruyan en önemli antioksidanlardan biridir (Meister, 1989). Kirleticilerin indüklediği oksidatif strese karşı GSH'ın koruyucu ve adapte edici rolünün olduğu akuatik hayvanların birçok farklı grubunda çok iyi bir şekilde belirlenmiştir (Otto ve Moon, 1995; Regoli ve Principato, 1995).

GSH, indirgeyici ajan, serbest radikal temizleyici ve GSH ile ilişkili enzimler için kofaktör olarak davrandığından aktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif strese karşı hücrel savunmada rol oynayan en önemli faktörlerden biri olarak ifade edilmektedir (Verma ve ark., 2007). Bu molekül, ilk savunma hattı olarak metallerin hücrelerin önemli moleküler yapılarına yapacağı etkiyi engellemede önemli bir tiyol kaynağı olarak rol oynamaktadır. Bununla birlikte şiddetli oksidatif stres durumlarında GSH düzeyleri, okside formu olan GSSG'ye dönüşümüne bağlı olarak azalabilmektedir (Chen ve Lin, 1977). Sunulan çalışmada cıvanın etkisinde *O. niloticus*'ta GSH düzeylerinde, çalışılan dokulara, metalin ortam derişimlerine ve etkide kalınan sürelele bağlı olarak önemli değişimlerin olduğu belirlenmiştir. Her iki etki süresinde de GSH düzeyleri cıvanın doğrudan etkisinde solungaç ve karaciğer dokularında azalırken kas dokusunda önemli bir değişim göstermemiştir. Cıva ortam derişimi arttıkça dokuların GSH düzeylerindeki azalma oranının da arttığı saptanmıştır. Bununla birlikte etkide kalınan süre uzadıkça solungaç ve karaciğer GSH düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. Ancak bu artışların sonucunda bile GSH düzeyleri kontrol değerlerine göre anlamlı olacak şekilde düşük kalmaya devam ettiği saptanmıştır.

O. niloticus'un solungaç ve karaciğer GSH düzeylerindeki azalışlar cıvanın toksik etkilerinin bir sonucu olabilir. Cıva, -SH gruplarına yüksek ilgisi olan bir metaldir. Cıvanın GSH yapısında bulunan -SH gruplarına doğrudan bağlanması yada bu tiyol molekülünün oksidasyonunu arttırmasının bir sonucu olarak dokulardaki GSH düzeylerinde azalma olabileceği düşünölmektedir. Bulduğumuz sonuçlara benzer olarak Elia ve ark. (2003) yaptıkları bir çalışmada 35, 70 ve 140 mg/L Hg etkisine bırakılan *I. melas*'ın karaciğer dokusunda GSH düzeylerinde derişime bağlı olarak önemli azalmaların olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar karaciğer GSH düzeyindeki bu azalmanın, cıvanın GSH'a bağlanması yada GSH'ın GSSG'ye oksidasyonu sonucu olabileceğini belirtmişlerdir.

Ağır metal kasyonlarının -SH gruplarına karşı oldukça yüksek bir ilgiye sahip oldukları ve bu ilginin metaller arasındaki sıralamasının $Hg^{+2} > Cu^{+1} > Cd^{+2} > Cu^{+2} > Zn^{+2}$ şeklinde olduğu belirtilmektedir (Viarengo, 1994). Bu nedenle organizmaya giren Hg^{+2} hücrede tiyol içeren proteinlere, GSH ve sistein gibi

düşük moleküler ağırlıklı tiyollere bağlanabilmektedir. Buna ek olarak Hg hücrenin önemli yapılarına zarar veren serbest radikallerin oluşumuna da neden olabilmektedir (Perotoni ve ark., 2004).

GSH, tiyol grubundaki sülfür atomu üzerinden metallere bağlanarak GS-metal kompleksini oluşturmaktadır (Rabestein ve ark., 1985). Hg, SH gruplarına yüksek ilgisi nedeniyle GSH'a bağlanabilme özelliğindedir. GSH ağır metal kanyonlarıyla kompleks yapması ve onları detoksifiye edici yeteneğinden dolayı ağır metal sitotoksitesine karşı ilk savunma hattını oluşturduğu belirtilmektedir (Naganuma ve ark., 1990). Ağır metaller dokularda birikmekte hem GSH'a bağlanarak hem de okside ederek GSH düzeyini azaltabilmektedirler (Canesi ve ark., 1999).

Ağır metallerin etkisinde organizmaların dokularındaki GSH düzeylerinde önemli değişiklikler oluşmaktadır. 40 gün süreyle 3 mg/L Cd etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GSH düzeylerin azaldığı rapor edilmiştir (Zirong ve Shijun, 2007). Araştırmacılar Cd'un neden olduğu oksidatif strese karşı GSH'ın hızlı bir koruma meydana getirdiğini ancak zamanla GSH'ın GSSG'ye oksidasyonu sonucu düzeyinde azalmaların olduğunu belirtmişlerdir. Yine GSH düzeylerinde bir azalış Cu etkisindeki *A. anguilla*'nın solungaç ve böbrek dokularında gözlemlenmiştir (Ahmad ve ark., 2005). Araştırmacılar GSH düzeylerindeki azalmanın bakırın oksidatif strese neden olan serbest radikal üretimini engellemek için GSH'ın fazla miktarda kullanımının bir sonucu olduğunu ifade etmişlerdir. Başka bir çalışmada da Munzur Nehrinin kirli bölgelerinden yakalanan *Capoetta trutta*'nın dokularında GSH düzeylerinin azaldığını ve bu azalmanın kirleticilerin neden olduğu oksidatif stres anında GSH'ın GSSG'ye dönüşümündeki artış yada GSH'ın rejenerasyonundaki yetersizliğine bağlı olarak oluştuğu rapor edilmiştir (Yıldırım ve ark., 2011). Benzer şekilde *C. carpio*'nun kan dokusunda (Karadag ve ark., 2014) GSH düzeylerinin ağır metalleri de içeren çeşitli kirleticilerin etkisinde azaldığı rapor edilmiştir.

GSH düzeylerinin azalmasıyla hücrelerin savunma mekanizmalarının zayıflaması sonucu oksidatif stresin kendini daha şiddetli olarak göstermesine neden olabilir (Yin ve ark., 2011). Zhang ve ark. (2004) şiddetli bir oksidatif stresin adaptif

mekanizmaları bozmasına bağlı olarak GSH düzeylerini baskılayacağı ve organizmaların savunma yeteneklerini sınırlayacağını ifade etmektedirler. Çalışmamızda, cıvanın etkisinde GSH düzeylerinin azalması sonucu *O. niloticus*'un bu metale karşı koruyucu yeteneğinin de azaldığı düşünülmektedir.

Araştırmamızda cıva+ selenyum ve cıva+zeolit ortam derişimlerinin etkisinde solungaç ve karaciğer GSH düzeylerinde azalışlar gözlemlenmiştir. Ancak bu azalışların cıvanın tek başına etkisinde daha yüksek olduğu saptanmıştır. GSH düzeyindeki azalışlar solungaç dokusunda cıvanın tek başına etkisinde %53, cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımının etkisinde ise sırasıyla %35 ve %40 düzeyinde olurken karaciğerde doğrudan cıvanın etkisinde %57, cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımının etkisinde ise sırasıyla %40 ve %42 düzeyinde olmuştur. Araştırma sonuçlarımızla paralel olarak Su ve ark. (2008) Hg'nin neden olduğu oksidatif stres üzerine selenyum etkisini araştırdıkları çalışmalarında Hg ve Hg+Se etkisindeki sıçanların dokularındaki GSH düzeylerinde Hg'nin tek başına etkisinde görülen azalışların Se varlığında kontrol değerlerine döndüğü belirlenmiştir. Başka bir çalışmada da cıva toksitesi üzerine bir antioksidan olan vitamin C'nin koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada cıvanın tek başına etkisinde *O. mykiss*'in karaciğer dokusundaki GSH düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı ancak vitamin C'nin uygulanmasıyla metalin toksik etkisinin önlendiği ve cıvanın neden olduğu GSH düzeylerindeki azalışların engellendiği rapor edilmiştir (Mozhdeganloo ve ark., 2015).

Hücre içi GSH düzeylerinin korunması normal hücre fonksiyonları için gereklidir. Bu amaçla GSH, ya γ -glutamil sistein sentetaz enzimi aracılığıyla doğrudan sentezlenmekte yada GR tarafından okside glutatyonun redükte glutatyonu dönüştürülmesiyle sağlanmaktadır. GSH, antioksidan enzimlerin substratı ve bir radikal temizleyicisi olarak radikallerin neden olduğu hasara karşı hücreleri korumada önemli roller oynamaktadır. Bu tripeptid, redüktaz ve peroksidaz enzim aktiviteleri için oldukça gereklidir. Glutatyon metabolizması çeşitli enzimler tarafından düzenlenmektedir. Bu enzimlerden GST ksenobiyotiklerin GSH ile konjugasyonunu sağlamaktadır. GPX, GSH'a bağlı mekanizma ile oksidasyona karşı hücre membranlarını korumaktadır (Pena-Llopis ve ark., 2001). Bu nedenle GSH

düzeyindeki ve GSH ile ilişkili antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki değişimler cıvayı da içeren ağır metallerin etkisinin biyobelirteçleri olarak değerlendirilmektedir (Doyotte ve ark., 1997).

Cıva, oksidatif strese neden olan bir prooksidan olarak ifade edilmektedir (Stohs ve Bagchi, 1995). Cıvanın hücrel toksitesinin esas mekanizması proteinlerdeki sülfidril gruplarına (-SH) doğrudan bağlanmalarıdır (Guilherme ve ark., 2008). Bu etki protein konformasyonunda değişime neden olmakta ve bu moleküllerin normal fonksiyonlarını engellemektedir (Quig, 1998). Yine cıva enzimlerde bulunan metallerle yer değiştirerek yada enzimlerin fonksiyonel gruplarına bağlanarak enzim aktivitelerini değiştirebilmektedir (Viarengo, 1985). Hg etkisinde GSH düzeylerinde ve onunla ilişkili enzim aktivitelerindeki değişimler çalışılmış ve bu yanıtların çalışılan türe, etki süresine ve metalin derişimine bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Maracine ve Segner, 1998; Canesi ve ark., 1999; Elia ve ark., 2000; El-Demerdash, 2001). Sunulan çalışmada da cıvanın tek başına ve cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde *O. niloticus*'un dokularındaki GSH ile ilişkili enzimlerin (GPx, GST ve GR) aktivitelerinde dokuya, ortam derişimine ve etkide kalınan süreye bağlı olarak önemli değişimlerin meydana geldiği belirlenmiştir. *I. melas*'ın karaciğerinde GSH ve GSH ile ilişkili enzimlerin 96 saatlik farklı Hg derişimlerinden (100, 200, 400 mg/L) etkilendiği rapor edilmiştir (Elia ve ark., 2000). Çalışmada yüksek metal derişimlerinin enzim aktivitelerinde azalmalara neden olduğu belirtilmiştir. Alan ve laboratuvar çalışmalarında metallerin etkisindeki organizmalarda antioksidan enzimlerin yanıtları (aktivitelerindeki azalış/artışlar) etkide kalınan doza, süreye ve çalışılan türlere bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir (Elia ve ark., 2000; Fırat ve ark., 2009; Karadağ ve ark., 2014).

GSH çeşitli toksik bileşiklerin atılımını yada detoksifikasyonunu katalizleyen birçok enzim için kofaktör olarak rol oynamaktadır (Regoli ve Principato, 1995). Bu enzimler arasında GPx hem hidrojen peroksitleri hem de hidroperoksitleri indirgeyerek serbest radikaller ve oksidatif hasara karşı etkin bir koruma sağlamaktadır (Regoli ve Principato, 1995). Araştırmamızda cıvanın tek başına etkisinde her iki ortam derişiminde de GPx aktivitesinin solungaç dokusunda 7 günlük süre sonunda, karaciğerde ise denenen her iki sürede arttığı saptanmıştır.

Bununla birlikte cıvanın selenyum ve zeolitle birlikte etkisinde ise solungaç GPx aktivitesinde önemli bir değişim saptanmamış iken karaciğer GPx aktivitesinde genel olarak bir artış saptanmıştır. Ancak karaciğer enzim aktivitesindeki bu artışın cıvanın tek başına etkisine oranla cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde daha az olduğu görülmüştür. Kas GPx aktivitesinde ise cıva, cıva+selenyum ve cıva+zeolitin tüm ortam derişimlerinin etkisinde ve denenen her iki sürede de önemli bir değişim saptanmamıştır.

Çalışmamızda *O. niloticus*'un dokularında artan GPx aktivitesinin cıvanın toksik etkilerine karşı bir yanıt olarak oluştuğu ve cıvanın neden olduğu oksidatif strese karşı koruyucu bir rol oynadığı düşünülmektedir. Nordberg ve Arner (2001) GPx'in H₂O₂'yi suya ve hidroperoksitleri (LOOH) de stabil alkole (LOH) dönüştürerek oksidatif strese karşı hücreleri korumada önemli rol oynayan bir antioksidan olduğunu ifade etmişlerdir. Van der Oost ve ark. (2003) GPx'in lipid peroksidasyonuna karşı hücre membranlarının korunmasında çok önemli görevler yaptığı ve enzim aktivitesinde meydana gelen bir artış kimyasalların indüklediği oksidatif stresin etkilerinin giderilmesinde önemli olduğunu belirtmişlerdir. Araştırma sonuçlarımızla benzer şekilde 4 gün süre ile 35 µg/L HgCl₂ etkisine bırakılan *I. melas*'ın karaciğer dokusundaki GPx aktivitesinde önemli artışlar saptanmıştır (Elia ve ark., 2003). Berntssen ve ark. (2003) yaptıkları bir deneysel çalışmada 100 mg/kg cıva içeren diyetlerle beslenen *Salmo salar*'ın karaciğer ve böbrek dokularında GPx aktivitesinin arttığını belirlemişlerdir Araştırmacılar bu artışın dokularda cıvanın neden olduğu oksidatif strese bir adaptasyon yanıtı olarak oluştuğunu ifade etmişlerdir. Çeşitli çevresel kirleticilerin etkisinde balıkların dokularında GPx enzim akitivitesinde artışların olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Kadmiyum etkisinde *O. niloticus* (Almeida ve ark., 2002) ve 2,4 diklorofenol etkisinde ise *C. auratus*'ta (Zhang ve ark., 2004) GPx enzim aktivitesi artış göstermiştir.

GST, ksenobiyotiklerin GSH ile sentetik konjugasyon reaksiyonlarını katalizleyerek oksidatif strese karşı balık dokularını koruyan detoksifikasyon enzimlerinin önemli bir grubunu oluşturmaktadır (Luo et al., 2006). Sunulan çalışmada *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer GST aktivitelerinin cıvanın

doğrudan etkisinde her iki ortam derişiminde artığı belirlenmiştir. Yine cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde 7 günlük süre sonunda bu dokuların GST aktivitesinde de artış saptanmıştır. Ancak bu artışların cıvanın tek başına etkisinde cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarına oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Solungaç dokusu GST aktivitesindeki artış, cıvanın doğrudan etkisinde %64, cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımının etkisinde ise sırasıyla %35 ve %34 düzeyinde olurken; karaciğerde tek başına cıvanın etkisinde %61, cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımının etkisinde ise sırasıyla %29 ve %36 düzeylerinde olmuştur. Kas GST aktivitesi ise denenen tüm kimyasalların etkisinde yalnızca 7 günlük süre sonunda bir artış göstermiştir. Benzer şekilde Dabas ve ark. (2012) da kadmiyum etkisine yanıtta *C. punctatus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek GST aktivitesinin artığını rapor etmişlerdir. Yapılan birçok çalışmada da cıvanın GST aktivitesini indüklediği gösterilmiştir (Canesi ve ark., 1999; Ferrat ve ark., 2002; Larose ve ark., 2008).

Dokuların GST aktivitesinin cıvanın neden olduğu oksidatif strese bir adaptasyon yanıtı olarak metal toksisitesini nötralize etmek amacıyla artığı düşünülmektedir. Monteiro ve ark. (2010) yaptıkları bir çalışmada tatlı su balığı *Brycon amazonicus*'un solungaç, karaciğer, kas ve kalp dokularında GST enzim aktivitesinin cıvanın etkisinde artığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar GST aktivitesindeki artışların metalin neden olduğu oksidatif hasarın önlenmesinde önemli bir rol oynadığını ileri sürmüşlerdir. GST'nin çok çeşitli elektrofilik bileşikleri GSH aracılığıyla konjuge ederek daha az toksik bileşiklere dönüştürebildiği (Van der Oost ve ark., 2003) ve bu aktivitesi sayesinde toksik bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli görevler oynadığı belirtilmektedir (Banerjee ve ark., 1999). Bu nedenle *O. niloticus*'un dokularında artan GST aktivitesinin detoksifikasyon proseslerinin indüklenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir.

GR, bir flavoprotein olup kofaktör olarak NADPH'ı kullanarak GSSG'nin GSH'a indirgenmesini katalizlemekte ve GSH düzeylerini korumaktadır (Pena-Llopis ve ark., 2001). Böylece GR hücre içi GSH/GSSG oranını yükselterek –SH/SS- oranını da korumaktır. GR aktif merkezlerinde flavin adenin dinükleotid (FAD) içeren iki protein alt biriminden oluşan dimerik yapıda bir enzimidir. Enzimin

antioksidan yeteneği NADPH varlığında okside glutatyonu indirgenmiş glutatyonla dönüştürmesinden kaynaklanmaktadır. Reaksiyon aşamasında GR'nin aktif bölgesinde GSSG'nin sistein rezidüleri arasındaki disülfid bağına NADPH tarafından FAD'ın indirgenmesi sırasındaki elektronların aktarılmasıyla iki sülfidril grubu oluşurken GSSG'de iki GSH'a dönüşmektedir. En önemli kaynağı pentoz yolu olan NADPH böylelikle oksidatif stresin etkilerinin giderilmesinde dolaylı olarak rol oynamaktadır (Nordberg ve Arner, 2001). Çalışmamızda *O.niloticus*'un solungaç ve karaciğer GR aktivitesinin cıvanın tek başına etkisinde azaldığı belirlenmiştir. Benzer şekilde cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde de 7 günlük süre sonunda bu dokuların GR aktivitelerinde bir azalış saptanmıştır. Ancak enzim aktivitesindeki azalışlar özellikle de yüksek ortam derişimlerinde cıvanın tek başına etkisinde daha fazla olmuştur. Solungaç dokusu GR aktivitesindeki azalışlar cıvanın doğrudan etkisinde %43, cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımının etkisinde ise sırasıyla %29 ve %40 düzeyinde olurken karaciğerde tek başına cıvanın etkisinde %48, cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımının etkisinde ise sırasıyla %32 ve %29 düzeylerinde olmuştur. Kas dokusunda ise GR aktivitesi denenen tüm kimyasalların etkisinde anlamlı bir değişim göstermemiştir.

Sunulan araştırmada cıva toksisitesinin bir sonucu olarak doku GR aktivitelerinin azaldığı öngörülmektedir. Azalan GR aktivitesi büyük bir olasılıkla cıvanın enzim aktivitesi üzerine olan doğrudan yada NADPH üretimi üzerine olan toksik etkisinin sonucunda bu nükleotidin içeriğinin azalmasına bağlı olarak gerçekleştiği düşünölmektedir. Eroğlu ve ark. (2015) *O. niloticus*'un karaciğer glutatyon metabolizması üzerine Cd, Cu, Cr, Pb, Zn'nin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında Cr etkisinde GR enzim aktivitesinin azaldığını saptamışlardır. Crupkin ve Menone (2013) ise kadmiyumun farklı ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *Australoheros facetus* türü balıkların beyin dokusunda GR aktivitesinde önemli azalışlar belirlemişlerdir. Yine bakır etkisine bırakılan *M. galloprovincialis* türü midyelerde GR aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (Regoli ve Principato, 1995). Zhang ve ark. (2004) 40 gün süreyle 2,4 diklorofenolün farklı derişimlerinin etkisine bıraktıkları *C. auratus*'un karaciğerindeki GR aktivitesinin 0.05 ve 0.01 mg/L pestisit etkisinde anlamlı olacak şekilde azaldığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar düşük ortam

derişimlerinde azalan GR aktivitesinin yüksek ortam derişimlerinde ise artđını ve GR aktivitesindeki bu değişimlerin enzim aktivitesi için önemli olan ve pentoz fosfat yolunda üretilen NADPH'ın bulunurluğundaki değişimle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bainy ve ark. (1996) da farklı kirleticilerin etkisinde *O. niloticus*'un karaciğer GR aktivitesinde önemli azalışların olduğunu rapor etmişlerdir.

GPx ve GST kofaktör olarak GSH'ı kullanarak prooksidan süreçleri etkisizleştirmek için birlikte çalışmaktadırlar (Monteiro ve ark., 2010). Bu enzimler tarafından GSSG'ye yükseltgenen GSH daha sonra GR'nin katalizlediği reaksiyonda NADPH kullanılarak GSSG'den tekrar oluşmaktadır. GSH sisteminin kapasitesi GPx, GR, GST ve pentoz fosfat yolu enzimlerin aktivitelere bağlıdır (Larose ve ark., 2008). Bu nedenle hücre içi GSH düzeylerindeki değişimler bu enzimlerle oldukça yakın ilişkilidir. Sunulan çalışmada da cıvanın etkisinde *O. niloticus*'un dokularında azalan GSH düzeylerinin GPx, GST ve GR enzim aktiviteleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Dokuların artan GPx ve GST aktivitelere bağlı olarak bu enzimler tarafından GSH'ın substrat olarak kullanımı GSH düzeylerini düşürmüş olabilir. Keza azalan GR aktivitesine bağlı olarak GSSG'den tekrar GSH'ın oluşturulmasının azalması da düşen GSH düzeylerini açıklayabilir. GR tarafından GSH'ın tekrar oluşturulmasına oranla GSSG'nin oluşumu daha hızlı gerçekleşirse, bu GSSG'ler önce hücrede birikmekte ancak daha sonra aşırı NADPH tüketiminden kaçınmak için bunlar hücre dışına taşınmaktadır ki bu da GSH düzeylerinin azalmasına neden olabilmektedir (Pena-Llopis ve ark., 2001). Elia ve ark. (2003) çalışmamızdaki sonuçlara benzer olarak *I. melas*'ın dokularında cıva etkisinde GSH düzeyinde ve GR aktivitesinde azalma, GPx ve GST aktivitesinde ise artış gözlemlenmişlerdir. Araştırmacılar artan GPx ve GST aktivitesine ve azalan GR aktivitesine bağlı olarak GSH düzeylerinin azaldığını belirtmişlerdir. Canesi ve ark. (1999) yaptıkları çalışmalarında bakır ve cıva etkisinde midyelerin dokularında GST aktivitesinin artığını ve bunun sonucu olarak da GSH düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir. Metallerin etkisinde GSH düzeylerinde belirlenen azalışlar genel olarak GST aktivitesindeki artışa bağlanmaktadır (Elia ve ark., 2003).

Araştırmamızda dokuya-özü antioksidan yanıtlar belirlenmiştir. Antioksidan kapasitelerindeki farklılıkların dokuların metalleri alma kapasiteleri, dağılım ve

depolanmalarındaki metabolik aktivitelere (Ahmad ve ark., 2006), ROT üretme oranlarına ve antioksidan yeteneklerine (Monteiro ve ark., 2010) bağlı olduğu belirtilmektedir. Çalışmamızda cıvanın etkisinde GSH düzeyleri ve onunla ilişkili enzimlerin aktivitelindeki değişikliklerin solungaç ve karaciğerde yüksek olduğu belirlenirken, kas dokusunda ise GST aktivitesi hariç diğer enzim aktivitelinde önemli bir değişim gözlenmemiştir. Bu durumun dokularda cıva birikim düzeyi ve dokuların antioksidan kapasiteleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kas dokusunun düşük mitokondri içeriğine ve düşük yoğunlukta oksidatif metabolizmaya sahip olduğu ifade edilmektedir (Lushchak ve ark., 2005). Monteiro ve ark. (2010) da çalışmalarında cıva etkisinde *B. amazonicus*'un antioksidan enzim aktiveleri ve GSH düzeylerindeki değişimlerin karaciğer ve solungaç dokularına göre kas dokusunda daha az olduğunu belirtmişlerdir. Solungaç ve özellikle de karaciğer, metallerin metabolizmasında önemli roller oynaması, ROT oluşumunun bu dokularda aşırı gerçekleşmesi ve antioksidan kapasitelerinin yüksek olması nedeniyle bu dokuların metallere karşı oksidatif stres yanıtları daha belirgin olmaktadır.

Sonuç olarak sunulan çalışmada cıvanın *O. niloticus*'un dokularında GSH ve GSH ile ilişkili enzimleri etkilediği belirlenmiştir. GSH metabolizmasında cıvanın doğrudan etkisinde meydana gelen değişimlerin cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarına oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Selenyum veya zeolit varlığında cıvanın GSH ve GSH ile ilişkili enzimler üzerine olan olumsuz etkilerinin azaldığı yada iyileştiği saptanmıştır. Araştırma sonuçlarımız gerek selenyum gerekse de zeolit uygulamasının cıva toksisitesi üzerine koruyucu bir rolü olduğunu göstermektedir. Farklı balıklar üzerine birçok laboratuvar çalışmasında da hem selenyumun (El-demerdash, 2001; Wang ve ark., 2004; Talas ve ark., 2008; Çoğun ve ark., 2012) hem de zeolit (James, 2000; Dinler, 2005; Chaurasia ve Jain, 2006; Mishra ve Jain, 2009; Çoğun ve Şahin, 2012) cıva toksitesi üzerine koruyucu bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. Selenyumun koruyucu etkisini cıvanın alım ve atılım oranlarını etkileyerek, Hg-Se kompleksi oluşturarak hücredeki serbest cıva bulunurluğunu azaltarak yada antioksidan kapasitesine bağlı olarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Zeolit ise kafes şeklindeki yapısı içerisinde Hg'yi tutarak suda serbest cıva bulunurluğunu azaltarak koruyucu etki gösterdiği öngörülmektedir.

Genel olarak çalışılan parametreler üzerine selenyumun koruyucu etkisinin zeolite oranla daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- AGRAHARI, S., PANDEY, K. C. and GOPAL, K., 2007. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). Pestic. Biochem. Physiol., 88: 268-272.
- AHMAD, I., MARIA, V. L., OLIVEIRA, M., PACHECO, M. and SANTOS, M. A., 2006. Oxidative stress and genotoxic effects in gill and kidney of *Anguilla anguilla* L. exposed to chromium with or without pre-exposure to b-naphthoflavone. Mutat. Res., 608: 16–28.
- AHMAD, I., OLIVEIRA, M., PACHECO, M. and SANTOS, M. A., 2005. *Anguilla anguilla* L. oxidative stress biomarkers responses to copper exposure with or without b-naphthoflavone pre-exposure. Chemosphere, 61: 267–275.
- AHMED, S., CHUGHTAI, S. and KEANE, M. A., 1998. The Removal of cadmium and lead from aqueous solution by ion exchange with Na - Y zeolite. Separation and Purification Technology, 13: 57-64.
- ALHAS E., OYMAK S. A. and KARADEDE AKIN H., 2009. Heavy metal concentrations in two barb, *Barbus xanthopterus* and *Barbus rajanorum mystaceus* from Atatürk Dam Lake, Turkey. Environ. Monit. Assess., 148: 11–18.
- ALMEIDA, J. A., DINIZ, Y. S., MARQUES, S. F. G., FAINE, L. A., RIBAS, B. O., BURNEIKO, R. C. and NOVELLI, E. L. B., 2002. The use of oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to *in vivo* cadmium contamination. Environ. Int., 27: 673–679.
- ATSDR, 2006. Agency for toxic substances and disease registry, CERCLA Priority List of Hazardous Substances. Available at: <http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/05list.html>. Accessed October, 05, 2006.
- AYBAL, N. O., 2001. Klinoptilolitin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerinde yem katkı maddesi olarak kullanımı. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta, 56s.

- AZEVEDO, M. M., CARVALHO, A., PASCOAL, C., RODRIGUES, F. and CASSIO, F., 2007. Responses of antioxidant defenses to Cu and Zn stress in two aquatic fungi. *Sci. Tot. Environ.*, 377: 233–243.
- BAINY, A. C. D., SAITO, E., CARVALHO, P. S. M. and JUNQUEIRA, V. B. C., 1996. Oxidative stress in gill , erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aquatic Toxicol.*, 34: 151–162.
- BALASUBRAMANIAN, J. and KUMAR, A., 2013. Study of effect of sodium arsenite on lipid metabolism of *Heteropneustes fossilis* and the chelating effect of zeolite. *Advances in Bioscience and Bioengineering*, 1: 22-27.
- BANERJEE, B. D., SETH, V., BHATTACHARYA, A., PASHA, S. T. and CHAKRABORTY, A. K., 1999. Biochemical effects of some pesticides on lipid perox- idation and free-radical scavengers. *Toxicol. Lett.*, 107: 33–47.
- BASHA, P. S. and RANI, A. U., 2003. Cadmium-Induced Antioxidant Defence Mechanism in Freshwater Teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicol. and Environ. Safe.*, 56: 218–221.
- BEBIANNO, M. J., COMPANY, R., SERAFIM, A., COSSON, R. P. and FIALA-MEDONI, A., 2005. Antioxidant systems and lipid peroxidation in *Bathymodiolus azoricus* from Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent fields. *Aquat. Toxicol.*, 75: 354–373.
- BEIJER, K. and JERNELOV, A., 1978. Ecological aspects of mercury–selenium interaction in the marine environment. *Environmental Health Perspectives*, 25: 43–45.
- BERNTSSEN, M. H. G., AATLAND, A. and HANDY, R. D., 2003. Chronic dietary mercury exposure causes oxidative stress, brain lesions, and altered behavior in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *Aquat. Toxicol.*, 65: 55–72.
- BEUTLER, E., 1984. Red cell metabolism: a manual of biochemical methods, 2nd edition. Grune and Starton, New York, 160pp.

- BIAGIANTI-RISBOURG, S., 1997. Les perturbations (ultra) structurales du foie des poissons utilises comme biomarqueurs de la qualite sanitaire des milieux aquatiques, in: L. Lagadic, T. Caquet, J.C. Amiard, F. Ramade (Eds.), Utilisation de Biomarqueurs en Ecotoxicologie, Aspects Fondamentaux, Masson Pub., Paris, pp. 355–391.
- BJERREGAARD, P., ANDERSEN, B. W. and RANKIN, J. C., 1999. Retention of methyl mercury and inorganic mercury in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (W): effect of dietary selenium. *Aquatic Toxicology*, 45: 171–180.
- BJERREGAARD, P., FJORDSIDE, S., HANSEN, M. G. and PETROVA, M. B., 2011. Dietary selenium reduces retention of methyl mercury in freshwater fish. *Environmental Science and Technology*, 45: 9793–9798.
- BORKOVIC, S. S., SAPONJIC, J. S., PAVLOVIC, S. Z., BLAGOJEVIC, D. P., MILOSEVIC, S. M., KOVACEVIC, T. B., RADOJICIC, R. M., SPASIC, M. B., ZIKIC, R. V. and SAICIC Z. S., 2005. The activity of antioxidant defence enzymes in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Adriatic Sea. *Comp. Bioch. Physiol.* 141C: 366 – 374.
- BOYLAND, E. and CHASSEAUD, L. F., 1969. The role of glutathione and glutathione-S-transferases in mercapturic acid biosynthesis. *Adv. Enzymol.*, 32: 173–179.
- CABANERO, A. I., MADRID, Y. and CAMARA, C., 2005. Effect of animal feed enriched with Se and clays on Hg bioaccumulation in chickens: *in vivo* experimental study. *J. Agric. Food Chem.*, 53(6): 2125-2132.
- CAMERA, E. and PICARDO M., 2002. Analytical methods to investigate glutathione and related compounds in biological and pathological processes, *J. Chromatogr. B* 781:181–206.
- CANESI, L., VIARENGO, A., LEONZIO, C., FILIPPELLI, M. and GALLO, G., 1999. Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquatic Toxicology*, 46: 67–76.
- CARLBERG, I. and MANNERVIK, B., 1975. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *Journal of Biological Chemistry*, 250: 5475–5480.

- CERJAN-STEFANOVI., K. A., TELAN-MACAN, M. and FILIPAN T., 1992. Ion exchange of modified zeolite. *War. Sci. Technol.* 26: 1185-1189.
- CHAURASIA, M. K. and JAIN, S. K., 2006. Natural zeolite mediated mercury toxicity in fish. *Asian J. Exp. Sci.*, 20(2): 303-308.
- CHEN, L. H. and LIN, S. M., 1977. Modulation of acetaminophen-induced alteration of antioxidant defense enzymes by antioxidants or glutathione precursors in cultured hepatocytes. *Biochem. Arch.*, 13: 113–125.
- ÇİMRİN REYHAN, İ., 2014. *Oreochromis niloticus*'da bakır ve kadmiyum birikiminde kalsiyum ve zeolitin etkileri. Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 44 syf.
- CNUBBEN, N. H. P., RIETJENS, I. M. C. M., WORTELBOER, H., van ZANDEN, J. and van BLADEREN, P. J., 2001. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10:141-152.
- COGUN, H. Y. and SAHIN, M., 2012. The effects of zeolite on reduction of lead toxicity in Nil tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758). *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 18: 135-140.
- COGUN, H. Y., FIRAT, Ö., FIRAT, Ö., YUZEREROGLU, T. A., GOK, G., KARGIN, F. and KOTEMEN, Y., 2012. Protective effect of selenium against mercury induced toxicity on hematological and biochemical parameters of *Oreochromis niloticus*. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 26(3): 117-122.
- COGUN, H. Y., YUZEREROGLU, T. A., FIRAT, O., GOK, G. and KARGIN, F., 2006. Metal concentrations in fish species from the northeast Mediterranean Sea. *Environ. Monit Assess.*, 121:431–438.
- COLELLA, C., 2007. *Stud. Surf. Sci. Catal. Pt.* 170: 2063–2073.
- COMBS, G. F. and LU, J., 2001. Selenium as a cancer preventive agent. in: Hatfield, D. L., Editor. *Selenium*. Hingham, Maine: Kluwer Academic Publishers, pp. 205–217.
- COOPER, A. J. and KRISTAL, B. S., 1997. Multiple roles of glutathione in the central nervous system. *Biol. Chem.*, 378 (18): 793-802.

- COSSU, C., DOYOTTE, A., JACQUIN, M. C., BABUT, M., EXINGER, A. and VASSEUR, P., 1997. Glutathione reductase, selenium- dependent glutathione
- CRUPKIN, A. C. and MENONE, M. L., 2013. Changes in the activities of glutathione-S-transferases, glutathione reductase and catalase after exposure to different concentrations of cadmium in *Australoheros facetus* (Cichlidae, Pisces). *Ecotoxicol. Environ. Contam.*, 8: 21-25.
- CULVIN-ARALAR, L. A. and FURNESS, R. W., 1991. Mercury and selenium interaction: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21: 348–64.
- CURKOVIC, L., CERJAN-STEFANOVIC, K. and FILIPAN, T., 1997. Metal Ion Exchange by Natural and Modified Zeolites. *War. Res.*, 31(6); 1379-138.
- DABAS, A., NAGPURE, N. S., KUMAR, R., KUSHWAHA, B., KUMAR, P. and LAKRA, W. S., 2012. Assessment of tissue-specific effect of cadmium on antioxidant defense system and lipid peroxidation in freshwater murrel, *Channa punctatus*. *Fish Physiol. Biochem.*, 38: 469–482.
- DAUTREMEPUITS, C., BETOULLE, S. and VERNET, G., 2002. Antioxidant response modulated by copper in healthy or parasitized carp (*Cyprinus carpio* L.) by *Ptychobothrium sp.* (Cestoda). *Biochim. Biophys. Acta.*, 1573: 4–8.
- DAUTREMEPUITS, C., PARIS – PALACIOS, S., BETOULLE, S. and VERNET, G., 2004. Modulation in hepatic and head kidney parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) induced by copper and chitosan. *Com. Biochem. Physiol C. Toxicol. Pharmacol.*, 137: 325 – 333.
- DİNLER, Z.M., 2005. Zeolitin (Clinoptilolite) Tilapya'da (*Oreochromis niloticus*) bakır toksisitesi üzerine koruyucu etkisi, M.K.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- DIPLOCK, A. T., WATKINS, W. J. and HEURSON, M., 1986. Selenium and heavy metals. *Ann. Clin. Res.*, 18: 55–60.
- DOYOTTE, A., COSSU, C., JACQUIN, M. C., BABUT, M. and VASEURAL, P., 1997. Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*. *Aquatic Toxicology*, 39: 93–110.

- EL-DEMERDASH F. M., 2001. Effects of selenium and mercury on the enzymatic activities and lipid peroxidation in brain, liver, and blood of rats. *J. Environ. Sci. Health, B*, 36(4): 489–499.
- EL-GAZZAR, A. M., ASHRY, K. E. and EL-SAYED, Y. S., 2014. Physiological and oxidative stress biomarkers in the freshwater Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., exposed to sublethal doses of cadmium. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 40: 29-43.
- ELIA, A. C., DORR, A. J. M., MANTILACCI, L., TATICCHI, M. I. and GALARINI, R., 2000. Effects of mercury on glutathione and glutathione-dependent enzymes in catfish (*Ictalurus melas* R.). In: Markert, B., Friese, K. (Eds.), Trace elements—their distribution and effects in the environment: trace metals in the environment, Vol. 4. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 411–421.
- ELIA, A. C., GALARINI, R., TATICCHI, M. I., DORR, A. J. M. and MANTILACCI, L., 2003. Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55: 162-167.
- EROGLU, A., DOGAN, Z., KANAK, E. G., ATLI, G. and CANLI, M., 2015. Effects of heavy metals (Cd, Cu, Cr, Pb, Zn) on fish glutathione metabolism. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22: 3229–3237.
- FERGUSON, J. E., 1990. The heavy elements: chemistry environmental impact and health effects, Pergamon Oxford.
- FERRAT, L., BINGERT, A., ROMEO, M., GNASSIA-BARELLI, M. and PERGENT-MARTINI, C., 2002. Mercury uptake and enzymatic response of *Posidonia oceanica* after an experimental exposure to organic and inorganic forms. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21: 2365–2371.
- FIRAT, O. and KARGIN, F., 2010. Response of *Cyprinus carpio* to copper exposure: alterations in reduced glutathione, catalase and proteins electrophoretic patterns. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 1021-1028.

- FIRAT, O., COGUN, H. Y., ASLANYAVRUSU, S. and KARGIN, F., 2009. Antioxidant responses and metal accumulation in tissues of *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd and Zn+Cd exposures. *Journal of Applied Toxicology*, 29: 295-301.
- FOLMAR, L. C., 1993. Effects of chemical contaminants on blood chemistry of teleost fish: a bibliography and synopsis of selected effects. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12: 337-375.
- FONTAINHAS-FERNANDES, A. A., 1998. Tilapia production, in: M.A. Reis-Henriques (Ed.), *Aquaculture Handbook*, pp. 135–150.
- FOULKES, 1993. Metlothionein and glutathione as determinants of cellular retention and extrusion of cadmium and mercury. *Life Sci.*, 52: 1611–1620.
- GERET, F. and BEBIANNO, M. J., 2004. Does zinc produce reactive oxygen species in *Ruditapes decussatus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 57(3): 399–409.
- GILBERTSON, M. and CARPENTER, D. O., 2004. An ecosystem approach to the health effects of mercury in the Great Lakes basin ecosystem. *Environmental Research*, 95: 240–246.
- GÖK, G., ÇOĞUN, H.Y., FIRAT, Ö., ASLANYAVRUSU, S. and KARGIN, F., 2008. *Oreochromis niloticus*'un farklı dokularında bakır ve kurşun birikimi üzerine EDTA'nın etkisi. XIX. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23 - 27 Haziran 2008, Trabzon, 622-623 pp.
- GRIYN, R. D., 1988. *Principles of hazardous materials management*, Lewis, Ann Arbor.
- GUILHERME, S., VALEGA, M., PEREIRA M. E., SANTOS, M. A. and PACHECO, M., 2008. Antioxidant and biotransformation responses in *Liza aurata* under environmental mercury exposure – Relationship with mercury accumulation and implications for public health. *Marine Pollution Bulletin*, 56: 845–859.
- GUL, Ş., KURUTAŞ, E. B., YILDIZ, E., ŞAHAN, A. and DORAN, F., 2004. Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (Cyprinidae) living in Seyhan Dam Lake, Turkey. *Environment International*, 30: 605–609.

- HABIG, W. H., PABST, M. J. and JAKOBY, W. B., 1974. Glutathione S transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249: 7130-7139.
- HAFEZ, M. B., NAZMY, A. F., SALEM, F. and ELDESOKI, M., 1978. Fixation mechanism between zeolite and some radioactive elements. *J. Radioanal. Chem.* 47: 115-119.
- HAMILTON, S. J., 2004. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Sci. Total Environ.*, 326: 1-31.
- HAYES, J. D. and MCLELLAN, L.I., 1999. Glutathione and glutathione dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radical Res.*, 31: 273–300.
- HEATH, A. G., 1995. *Water Pollution and Fish Physiology*. Lewis, CRC Press. Boca Raton, FL.
- HEGAZI, M. M., ATTIA, Z. I. and ASHOUR, O. A., 2010. Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure. *Aquatic Toxicology*, 99: 118-125.
- HEINZ, G. H. and HOFFMAN, D. J., 1998. Methylmercury chloride and selenomethionine interactions on health and reproduction in mallards. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17: 139–145.
- HUANG, H., XIAO, X., YAN, B. and YANG, L., 2010. Ammonium removal from aqueous solutions by using natural chinese (chende) zeolite as adsorbent. *Journal of Hazardous Materials*, 175: 247-252.
- INGLEZAKIS, V. J., LOIZIDOU, M. M. and GRIGOROPOULOU, H., 2004. Ion exchange studies on natural and modified zeolites and the concept of exchange site accessibility. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275: 570-576.
- JAIN, S. K., RAIZADA, A. K. and JAIN, K., 1997. Protective role of zeolite on lead toxicity in freshwater fish. XIII ISEB., Monopoli, Bari, Italy.
- JAMES, R., 2000. Effect of zeolite on reduction of cadmium level in water and improvement of haematological parameters in *Oreochromis niloticus*. *Indian J. Fish*, 47: 29-35.

- JEON, J. S., LEE, S. S., KIM, H. Y., AHN, T. S. and SONG, H. G., 2003. Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. *Journal of Microbiology*, 41: 271- 276.
- KARADAG, H., FIRAT, O. and FIRAT, O., 2014. Use of oxidative stress biomarkers in *Cyprinus carpio* L. for the evaluation of water pollution in Ataturk Dam Lake (Adiyaman, Turkey). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92:289-293.
- KARADEDE, H., OYMAK, S. A. and UNLU, E., 2004. Heavy metals in mullet, *Liza abu*, and catfish, *Silurus triostegus*, from the Ataturk Dam Lake (Euphrates), Turkey. *Environment International* 30 (2004) 183– 188.
- KARGIN, F. and ERDEM, C., 1991. Accumulation of copper in liver, spleen, stomach, intestine, gill and muscle of *Cyprinus carpio*. *Doga, Turk. J. Zoolog.*, 15: 306–314.
- KEANE, M. A., 1998. The removal of copper and nickel from aqueous solution using Y zeolite ion exchangers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 138 : 11–20.
- KESRAOUI-OUKI, S., CHEESEMAN, C. R. and PERRY, R., 1994. Natural zeolite utilization in pollution control: A review of applications to metals' effluents. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 59: 121-126.
- KETTERER, B. and MEYER, D.J., 1989. Glutathione transferase: a possible role in the detoxification of repair DNA and lipid hydroperoxides. *Mutat. Res.*, 214: 33–40.
- KIBAROGLU, U., 2008. Zeolitlerin endüstriyel kullanımı. *Karaelmas Üniversitesi Maden Mühendisliği Bölümü, Zonguldak*, 44s.
- KLAVERKAMP, J. E , HODGINS, D. A. and LUTZ, A., 1983. Selenite toxicity and mercury-selenium interactions in juvenile fish. *Arch. Environ. Contain. Toxicol.* 12: 405-413.
- KRYUKOV, G. V., CASTELLANO, S., NOVOSELOV, S. V., LOBANOV, A. V., ZEHTAB, O. and GUIGO, R., 2003. Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science*, 300: 1439 –1443.

- LAROSE, C., CANUEL, R., LUCOTTE, M. and DI GIULIO, R. T., 2008. Toxicological effects of methylmercury on walleye (*Sander vitreus*) and perch (*Perca flavescens*) from lakes of the boreal forest. *Comp. Biochem. Physiol.*, 147 C: 139–149.
- LLIOPOULOU-GEORGUDAKI, I. J. and KOTSANIS, N., 2001. Toxic effects of cadmium and mercury in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a short-term bioassay. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 66: 77-85.
- LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARRA, N. J. and RANDALL, R. J., 1951. Protein measurements with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193:265–275.
- LUO, Y., SU, Y., LIN, R. Z., SHI, H. H. and WANG, X. R., 2006. 2-Chlorophenol induced ROS generation in fish *Carassius auratus* based on the EPR method. *Chemosphere*, 65: 1064–1073.
- LUSHCHAK, V. L., BAGNYUKOVA, T. V., LUSHCHAK, O. V., STOREY, J. M. and STOREY, K. B., 2005. Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37:1319–1330.
- MARACINE, M. and SEGNER, H., 1998. Cytotoxicity of metals in isolated fish cells: importance of the cellular glutathione status. *Comp. Biochem. Physiol.*, 120A: 83–88.
- MARIA, V. L., AHMAD, I., OLIVEIRA, M., SERAFIM, A., BEBIANNO, M. J., PACHECO, M. and SANTOS, M. A., 2009. Wild juvenile *Dicentrarchus labrax* L. liver antioxidant and damage responses at Aveiro Lagoon. Portugal. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 72: 1861–1870.
- MATOS, P., FONTAINHAS-FERNANDES, A., PEIXOTO, F., CARROLA, J. and ROCHA, E., 2007. Biochemical and histological hepatic changes of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to carbaryl. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89: 73-80.

- McDONALD, D. G. and WOOD, C. M., 1993. Branchial mechanism of acclimation to metals in freshwater fish. In Fish Ecophysiology (Edited by Rankin, J. C. and Jensen, F. B.). Fish and Fisheries Series 9, pp. 297–321, Chapman and Hall, London.
- MEISTER, A., 1989. On the biochemistry of glutathione. In: glutathione centennial. Molecular perspectives and clinical implications, edited by N. Taniguchi, T. Higashi, S. Sakamoto and A. Meister. Academic Press, San Diego, CA, pp. 3-22.
- MISHRA, M. and JAIN, S. K., 2009. Effect of Natural ion exchanger chabazite for remediation of lead toxicity: An experimental study in teleost fish *Heteropneustes fossilis*. Asian. J. Exp. Sci, 23(1): 39-44.
- MISHRA, M. and JAIN, S. K., 2011. Properties and applications of zeolites: A Review. Proc. Nat. Acad. Sci. India. Sect. B, 81: 250-259.
- MOLLER-MADSEN, B. and DANSCHER, G., 1991. Localization of mercury in CNS of the rat. IV. The effect of selenium on orally administered organic and inorganic mercury. Toxicol. Appl. Pharmacol., 108: 457–473.
- MONTEIRO, D. A., RANTIN, F. T. and KALININ, A. L., 2010. Inorganic mercury exposure: toxicological effects, oxidative stress biomarkers and bioaccumulation in the tropical freshwater fish matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829). Ecotoxicology, 19: 105–123.
- MONTEIRO, S. M., ROCHA, E., FONTAINHAS-FERNANDES, A. and SOUSA, M., 2008. Quantitative histopathology of *Oreochromis niloticus* gills after copper exposure. J Fish Biol., 73: 1376–1392.
- MOZHDEGANLOO, Z., MOGHADAM, J. A., KOOHI, M. K. and HEIDARPOUR, M., 2015. Methylmercury-induced oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver: Ameliorating effect of vitamin C. Biol. Trace Elem. Res., 165:103–109.
- MUMPTON, F. A. and FISHMAN, P. H., 1977. The Application of natural zeolites in animal science and aquaculture. Journal of Animal Science, Vol.45, No.5.

- MUMPTON, F. A., 1999. La roca magica:uses of natural zeolites in agriculture and industry. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96(7): 3463-3470.
- MZIMELA, H. M., WEPENER, V. and CYRUS, D. P., 2003. Seasonal variation of selected metals in sediments, water and tissues of the groovy mullet, *Liza dumerelii* (Mugilidae) from the Mhlathuze Estuary, South Africa. Mar. Pollut. Bull., 46: 659–676.
- NAGANUMA, A., ANDERSON, M. and MEISTER, A., 1990. Cellular glutathione as a determinant of sensitivity to mercuric chloride toxicity. Prevention of toxicity by giving glutathione monoester. Biochem. Pharmacol., 40: 693–697.
- NORDBERG, J. and ARNER, E. S. J., 2001. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. Free Radical Biology and Medicine, 31(11): 1287- 1317.
- NUSSEY, G., VAN VUREN, J. H. J. and DU PREEZ, H. H., 1995. Effect of copper on the haematology and osmoregulation of the Mozambique Tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). Comp. Biochem. Physiol., 111 C, 3: 369–380.
- ORBEA, A., ORTIZ-ZARRAGOITIA, M., SOLE, M., PORTE, C. and CAJARAVILLE, M. P., 2002. Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). Aquat. Toxicol., 58: 75–98.
- ORIHUELA, D., MEICHTRY, V., PREGI, N. and PIZARRO, M., 2005. Short-term oral exposure to aluminium decreases glutathione intestinal levels and changes enzyme activities involved in its metabolism. Journal of Inorganic Biochemistry, 99: 1871-1878.
- OTTO, D. M. and MOON, T. W., 1995. 3,3P,4,4P-Tetrachlorobiphenyl effects on antioxidant enzymes and glutathione status in different tissues of rainbow trout, Pharmacol. Toxicol., 77: 281-287.

- PANDEY, S., PARVEZ, S., ANSARI, R. A., ALI, M., KAUR, M., HAYAT, F., AHMAD, F. and RAISUDDIN, S., 2008. Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa Punctata* Bloch. *Chemico-Biological Interactions*, 174: 183-192.
- PANDEY, S., PARVEZ, S., SAYEED, I., HAQUE, R., BIN-HAFEEZ, B. and RAISUDDIN, S., 2003. Biomarkers of Oxidative stress: a comparative study of River Yamuna Fish *Wallago attu*. *Sci . Tot. Environ.*, 309: 105–115.
- PAPAIOANNOU, D., KATSOULOS, P. D., PANOUSIS, N. and KARATZIAS, H., 2005. The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: A review. *Microporous and Mesoporous Materials*, 84: 161–170.
- PENA-LLOPIS, S., FERRANDO, M. D. and PENA, J. B., 2003. Fish tolerance of organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquatic Toxicology*, 65: 337-360.
- PENA-LLOPIS, S., PENA, J. B., SANCHO, E., FERNANDEZ-VEGA, C. and FERRANDO, M. D., 2001. Glutathione-dependent resistance of the European eel *Anguilla anguilla* to the herbicide molinate. *Chemosphere*, 45: 671-681.
- PEROTTONI, J., LOBATO, L. P., SILVEIRA, A., ROCHA, J. B. T. and EMANUELLI, T., 2004. Effects of mercury and selenite on d-aminolevulinate dehydratase activity and on selected oxidative stress parameters in rats. *Environ. Res.*, 95: 166–173.
- peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38: 122-131.
- PINTO, E., SIGAUD-KUTNER, T. C. S., LEITAO, M. A. S., OKAMOTO, O. K., MORSE, D. and COLEPICOLO, P., 2003. Heavy metal-induced oxidative stress in algae. *J. Phycol.*, 39: 1008–1018.

- POTTER, D. W. and HINSON, J. A., 1987. Mechanisms of acetaminophen oxidation to N-acetyl-p-benzoquinone imine by horseradish peroxidase and cytochrome P-450. *J. Biol. Chem.*, 262: 966–973.
- POTTER, D. W. and TRAN, T. B., 1993. Apparent rates of glutathione turnover in rat tissues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 120: 186–192.
- QUIG, D., 1998. Cysteine metabolism and metal toxicity. *Alternative Medicine Review* 3: 262–270.
- RABESTEIN, D. L., GUEVREMONT, R. and EVANS, C. A., 1985. Glutathione and its metal-complexes. In: Siegel, H. (Ed.), *Metal ions in biological systems*. Marcel Dekker, New York, pp. 104 – 141.
- RADWAN, M. A., EL-GENDY, K. S. and GAD, A. F., 2010. Oxidative stress biomarkers in the digestive gland of *Theba pisana* exposed to heavy metals. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 58: 828-835.
- RALSTON, N. V. C. and RAYMOND, L. J., 2010. Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. *Toxicology*, 278: 112-123.
- RAO, L. M. and PADMAJA, G., 2000. Bioaccumulation of heavy metals in *M. cyprinoids* from the harbor waters of Visakhapatnam. *Bull. Pure Appl. Sci.*, 19A: 77–85.
- RASHED, M. N., 2001. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser lake. *Environ. Int.*, 27: 27–33.
- RAYMAN, M. P., 2002. The argument for increasing selenium intake. *Proc. Nutr. Soc.*, 61: 203–21.
- REGOLI, F. and PRINCIPATO, G., 1995. Glutathione, glutathione- dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: Implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 31: 143-164.
- REGOLI, F., FRENZILLI, G., BOCHETTI, R., ANNARUMMA, F., SCARCELLI, V., FATTORINI, D. and NIGRO, M., 2004. Time-course variations of oxyradical metabolism, DNA integrity and lysosomal stability in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, during a field translocation experiment, *Aquat. Toxicol.*, 68: 167–178.

- SEGNER, H. and BRAUNBECK, T., 1998. Cellular response profile to chemical stress. In: Schüürmann G, Markert B (Ed), Ecotoxicology vol Part 3, Ch. 17, John Wiley & Sons, Inc. and Spektrum Akadem. Verlag; 521–569.
- SEN, C. K. and PACKER, L., 1996. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB J.*, 10: 709-720.
- SHERRATT, P. J. and HAYES, J. D., 2002. Glutathione S-transferases enzyme systems that metabolise drugs and other xenobiotics. John Wiley and Sons, Ltd., West Sussex, UK, pp. 319-352.
- SHRIVASTAVA, S., MISHRA, M. and JAIN, S. K., 2001. Remediation of lead toxicity in fish tissues through zeolite with reference to glycogen content. *Journal of Natcon.*, 13(2): 231-235.
- SIES, H., 1999. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic. Biol. Med.*, 27: 916–921.
- SOARES, S. S., MARTINS, H., GUTIERREZ-MERINO, C. and AURELIANO, M., 2008. Vanadium and cadmium *in vivo* effects in teleost cardiac muscle: Metal accumulation and oxidative stress markers. *Comp. Biochem. Physiol.*, 147C: 168–178.
- STOHS, S. J. and BAGCHI, D., 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metals ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 2: 321–336.
- STORM, J. E., KARL, K. R. and DOULL, J., 2000. Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red cell acetylcholinesterase. *Toxicology*, 150: 1–29.
- SU, L., WANG, M., YIN, S., WANG, H., CHEN, L., SUN, L. and RUAN, D., 2008. The interaction of selenium and mercury in the accumulations and oxidative stress of rat tissues. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70: 483-489.
- SUGIYAMA, M., 1994. Role of cellular antioxidants in metal-induced damage. *Cell. Biol. Toxicol.*, 10: 1–22.
- TALAS, Z. S., ORUN, I., OZDEMIR, I., ERDOĞAN, K., ALKAN, A. and YILMAZ, I., 2008. Antioxidative role of selenium against the toxic effect of heavy metals (Cd^{+2} , Cr^{+3}) on liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). *Fish Physiol. Biochem.*, 34: 217-222.

- TCHOUNWOU, P. B., AYENSU, W. K., NINASHVILI, N. and SUTTON, D., 2003. Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environ. Toxicol.*, 18: 149–175.
- TEPE, Y., AKYURT, I., CIMINLI, C., MUTLU, E. and CALISKAN, M., 2004. Protective effect of Clinoptilolite on lead toxicity in Common Carp *Cyprinus carpio*. *Fres. Environ. Bull.*, 13: 639-642.
- TRIEBSKORN, R., KOHLER, H. R., HONNEN, W., SCHRAMM, M. and ADAMS, S. M., 1997. Induction of heat shock proteins, changes in liver ultrastructure, and alterations of fish behaviour: are these biomarkers related and are they useful to reflect the state of pollution in the field. *J. Aquat. Ecos. Stress Recov.*, 6: 57–73.
- TÜRKMEN, M., DİNLER, Z. M. and TEPE, Y., 2007. Protective effect of zeolite (Clinoptilolite) on copper toxicity in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). ESS2007 International Conference on Environment: Survival and Sustainability, 19-24 February 2007, Nicosia-Northern Cyprus.
- VAN DER OOST, R., BEYER, J. and VERMEULEN, N. P. E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 13: 57–149.
- VERMA, R. S., MEHTA, A. and SRIVASTAVA, N., 2007. *In vivo* chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 88: 191–196.
- VIARENGO, A., 1985. Biochemical effects of trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, 16: 153–158.
- VIARENGO, A., 1994. Heavy metal cytotoxicity in marine organisms: effects on Ca^{+2} homeostasis and possible alteration of signal transduction pathways. *Adv. Comp. Environ. Physiol.*, 20: 85 – 110.
- VIRTA, R. L., 2006. Zeolites. *Minerals Year book*. <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/zeolites/zeolimyb05.pdf>.

- WANG, W., WONG, R. S. K., WANG, J. and YEN, Y., 2004. Influences of different selenium species on the uptake and assimilation of Hg (II) and methylmercury by diatoms and green mussels. *Aquatic Toxicology*, 68: 39-50.
- WATRAS, C. J. and HUCKABEE, J. W., 1994. Mercury pollution, integration and synthesis. Lewis publishers, USA, pp.727.
- YANG, D., YE, X., CHEN, Y. and BELZILE, N., 2010. Inverse relationships between selenium and mercury in tissues of young walleye (*Stizosedion vitreum*) from Canadian boreal lakes. *Science of the Total Environment*, 408: 1676–1683.
- YILDIRIM, N. C., BENZER, F. and DANABAS, D., 2011. Evaluation of environmental pollution at Munzur River of Tunceli applying oxidative stress biomarkers in *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). *J. Anim. Plant. Sci.*, 21(1): 66-71.
- YIN, F., PENG, S., SUN, P. and SHI, Z., 2011. Effects of low salinity on antioxidant enzymes activities in kidney and muscle of juvenile silver pomfret *Pampus argenteus*. *Acta. Ecol. Sin.*, 3:, 55–60.
- ZHANG, J., SHEN, H., WANG, X., WU, J. and XUE, Y., 2004. Effects of chronic exposure of 2,4- Dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, 55: 167-174.
- ZIRONG X. and SHIJUN B., 2007. Effects of waterborne Cd exposure on glutathione metabolism in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver. *Ecotoxicol. Environ.*, 67: 89–94.
- <http://www.gordeszeolite.com/zeolit> (Erişim Tarihi: 13 Kasım 2015).

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Adana'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 1998 yılında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdi. 2003 yılında bölümünden mezun olup aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Eğitimine başladı. Yine aynı yıl Ç. Ü. Fen bilimleri Enstitüsü Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Anabilim Dalında Tezsiz Yüksek Lisans öğrenimine başladı ve 2004 yılında bu öğrenimini tamamladı. 2005 yılında Tezli Yüksek Lisans eğitimini bitirip 2010 yılında Çukurova Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Doktora Eğitimine başladı. 2009 yılından beri Adıyaman Üniversitesi Kahta Meslek Yüksekoklunda Öğretim Görevlisi olarak çalışmaktadır. Evli ve bir çocuk annesidir.