



***Eylais setosa* (ACARI, HYDRACHNIDIA) TÜRÜNDE
KURŞUN (Pb²⁺) UYGULAMALARI
VE ENZİM AKTİVİTELERİNİN TESPİTİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nazife ALPASLAN

Danışman
Doç. Dr. Ferruh AŞÇI

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK
ANABİLİM DALI

Eylül, 2019

Bu tez çalışması 118Z558 numaralı proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Eylais setosa* (ACARI, HYDRACHNIDIA) TÜRÜNDE KURŞUN
(Pb²⁺) UYGULAMALARI VE ENZİM AKTİVİTELERİNİN TESPİTİ**

Nazife ALPASLAN

Danışman

Doç. Dr. Ferruh AŞÇI

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

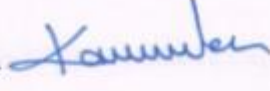
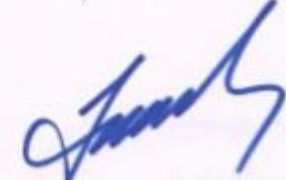
Eylül, 2019

TEZ ONAY SAYFASI

Nazife ALPASLAN tarafından hazırlanan “*Eylais Setosa* (Acari, Hydrachnidia) Türünde Kurşun (Pb^{2+}) Uygulamaları ve Enzim Aktivitelerinin Tespiti” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 20/09/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Ferruh AŞÇI

İmza

Başkan	: Prof. Dr. Kamil KOÇ Manisa Celal Bayar Üniv., Fen Edeb. Fak.	
Üye	: Prof. Dr. İbrahim EROL Afyon Kocatepe Üniv., Fen Edeb. Fak.	
Üye	: Doç. Dr. Ferruh AŞÇI Afyon Kocatepe Üniv., Fen Edeb. Fak.	

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
...../...../..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. İbrahim EROL
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI
Afyon Kocatepe Üniversitesi

**Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım
bu tez çalışmada;**

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

20/09/2019

Nazife ALPASLAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Eylais setosa (ACARI, HYDRACHNIDIA) TÜRÜNDE KURŞUN (Pb^{2+}) UYGULAMALARI VE ENZİM AKTİVİTELERİNİN TESPİTİ

Nazife ALPASLAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ferruh AŞÇI

Bu çalışmada, toksik bir ağır metal olan kurşunun (Pb^{2+}), su kenesi türlerinden *Eylais setosa* (Acari, Hydrachnidia)'da antioksidan enzim aktivite düzeyleri farklı enzim kitleri ile (Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon S-transferaz) belirlendi. Çalışmanın temel amacı, iç sularda ağır metal birikimlerine maruz kalan zooplanktonik organizmalardaki toksik etki düzeylerinin tespit edilmesidir.

Bu amaçla, Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında Işıklı Gölü'nden toplanan *Eylais setosa* örnekleri laboratuvar ortamında oluşturulan 4 farklı akvaryuma örnekler eşit miktarlarda olacak şekilde konuldu. Her bir akvaryuma farklı oranlarda Pb^{2+} (10^{-5} M, 10^{-4} M ve 10^{-3} M) yüklemesi yapıldı. Akvaryumlardaki canlı örnekler 7 gün boyunca gözlemlendi. Daha sonra her bir akvaryumdan hem su hem de canlı örnekler alınarak ICP-MS cihazı ile analizleri yapıldı. Bu analizler ile *Eylais setosa* örneklerinin absorpladığı kurşun miktarı ve örneklemelerin yapıldığı akvaryum sularındaki bu metalin miktarları ölçüldü. Buna göre, *Eylais setosa*'nın artan oranlarda kurşunu absorbe ettiği görüldü.

Ayrıca, bu örnekler üzerinde antioksidan enzim aktiviteleri 5 farklı enzim belirleme kitleri kullanılarak gözlemlendi. Elde edilen bulgularda, Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutatyon Redüktaz (GR) ve Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)'ın arttığı ($p<0.05$), Glutatyon S-transferaz (GST) ve Katalaz (CAT) enzim aktivitelerinde azalmaların ($p<0.05$) olduğu saptandı. Analiz sonuçları değerlendirildiğinde, akvaryumlarda bulunan *Eylais setosa* örneklerinde ortama ilave edilen kurşun miktar oranlarına bağlı olarak enzim aktivitelerinin değişkenlik gösterdiği gözlemlenmiştir.

2019, x + 102 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Eylais setosa*, Su kenesi, Kurşun, Enzim, Antioksidan.

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF LEAD (Pb^{2+}) APPLICATIONS AND ENZYME ACTIVITIES IN *Eylais setosa* (ACARI, HYDRACHNIDIA) SPECIES

Nazife ALPASLAN

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetic

Supervisor: Assoc. Prof. Ferruh AŞÇI

In this study, antioxidant enzyme activity levels of lead (Pb^{2+}), which is a toxic heavy metal, in water mite species, *Eylais setosa* (Acari, Hydrachnidia), with different enzyme kits (Superoxide dismutase, Catalase, Glutathione Reductase, Glutathione Peroxidase and Glutathione S-transferase) determined. The main purpose of this study is to determine the toxic effect levels of zooplanktonic organisms exposed to heavy metal deposits in inland waters.

For this purpose, *Eylais setosa* samples collected from Işıklı Lake in April, May and June were placed in 4 different aquariums that were created in the laboratory in equal amounts. Pb^{2+} (10^{-5} M, 10^{-4} M and 10^{-3} M) were loaded into each aquarium at different rates. Live specimens in the aquariums were observed for 7 days. Then, both water and live samples were taken from each aquarium and analyzed with ICP-MS. With these analyzes, the amount of lead absorbed by *Eylais setosa* samples and the amount of this metal in the aquarium waters where the samples were made were measured. Accordingly, *Eylais setosa* was found to absorb increasing amounts of lead.

Furthermore, antioxidant enzyme activities on these samples were observed using 5 different enzyme determination kits. The results showed that Superoxide Dismutase (SOD), Glutathione Reductase (GR) and Glutathione Peroxidase (GSH-Px) were increased ($p < 0.05$), Glutathione S-transferase (GST) and Catalase (CAT) enzyme activities decreased ($p < 0.05$). When the results of the analysis were evaluated, it was observed that the enzyme activities varied in *Eylais setosa* samples depending on the amount of lead added to the medium.

2019, x + 102 pages

Keywords: *Eylais setosa*, Water mite, Lead, Enzyme, Antioxidant.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın konusu, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yüksek lisans eğitimim boyunca hoşgörüsünün yanında fikir ve görüşleriyle yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ferruh AŞÇI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez araştırmalarımda, laboratuvar çalışmalarında ve istatistik değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. İbrahim EROL'a, Sayın Prof. Dr. Gülderen Uysal AKKUŞ'a, Sayın Doç. Dr. Abuzer ACAR'a, Sayın Prof. Dr. Aziz BÜLBÜL'e ve Prof. Dr. İsmet DOĞAN'a her konuda yaptıkları öneri ve eleştirileriyle yardımlarını gördüğüm hocalarıma teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmam boyunca arazi ve laboratuvar çalışmalarındaki katkıları, fikirleri ve değerli dostluklarıyla her zaman yanımda olan çalışma arkadaşlarım Gamze Kübra ÇETİN, Bülent ALTUNYÜZÜK ve diğer tüm arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasında maddi destek veren TÜBİTAK'a teşekkür ederim (Proje No: 118Z558).

Hayatımın her evresinde maddi ve manevi destekleri ile eksikliklerini hissetmediğim annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim.

Nazife ALPASLAN
AFYONKARAHİSAR, 2019

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	5
2.1 Su Kenelerinin Morfolojisi ve Fizyolojisi.....	5
2.1.1 Su Kenelerinin Yaşam Döngüsü.....	6
2.2 Ağır Metal Hakkında Genel Bilgi	8
2.3 Kurşun (Pb ²⁺) Ağır Metali ve Etkileri	12
2.3.1 Kurşunun Sucul Organizmalar Üzerine Toksik Etkileri.....	14
2.3.2 Kurşun ile Yapılan Çalışmalar.....	15
2.3.2.1 Sedimentte Yapılan Kurşun Birikim Çalışmaları.....	15
2.3.2.2 Alglerde Yapılan Kurşun Birikim Çalışmaları.....	18
2.3.2.3 Omurgasız Hayvanlarda Yapılan Kurşun Birikim Çalışmaları.....	18
2.3.2.4 Omurgalı Hayvanlarda Yapılan Kurşun Birikim Çalışmaları.....	22
2.4 Çalışılan Biyomarkırlar	25
2.4.1 Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizmaları	25
2.4.2 Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzimi.....	27
2.4.3 Glutasyon Peroksidaz (GSH-PX) Enzimi	29
2.4.4 Katalaz (CAT) Enzimi	29
2.4.5 Glutasyon S-Transferaz (GSH-ST) Enzimi	30
2.4.6 Glutasyon Redüktaz (GR) Enzimi	31
2.5 Ağır Metal Uygulaması Sonucu Yapılan Enzim Çalışmaları	32
3. MATERYAL ve METOT	36
3.1 Cihazlar ve Diğer Gereçler	36
3.2 Çalışma Alanı ve Örneklerinin Toplanması.....	36

3.3 Analizlerde Kullanılan Ana Materyal	40
3.4 Yöntem	41
3.4.1 Suda Ağır Metal Analizleri.....	41
3.4.2 <i>Eylais setosa</i> 'da Ağır Metal Analizleri.....	42
3.5 Antioksidan Enzim Düzeylerinin Ölçümü	44
3.5.1 Total Protein (TP) Ölçümü.....	45
3.5.2 Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi Tayini	46
3.5.3 Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Enzim Aktivitesi Tayini.....	47
3.5.4 Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi Tayini	48
3.5.5 Glutasyon S-Transferaz (GSH-ST) Enzim Aktivitesi Tayini	49
3.5.6 Glutasyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesi Tayini	50
3.6 İstatistiksel Değerlendirme.....	51
4. BULGULAR	52
4.1 Sudaki Kurşun (II) Nitrat Analiz Değerleri.....	52
4.2 <i>Eylais setosa</i> 'da Ağır Metal Birikim Değerleri.....	54
4.3 <i>Eylais setosa</i> 'da Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	56
4.4 <i>Eylais setosa</i> 'da Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	56
4.5 <i>Eylais setosa</i> 'da Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	57
4.6 <i>Eylais setosa</i> 'da Glutasyon S-Transferaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi....	58
4.7 <i>Eylais setosa</i> 'da Glutasyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	59
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	61
6. KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ.....	103

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

dH ₂ O	Distile su
ddH ₂ O	Double Distile su
Cd	Kadmiyum
Pb ²⁺	Kurşun
Ag	Gümüş
Hg	Civa
Cu	Bakır
Co	Kolbalt
Cr	Krom
Ni	Nikel
As	Arsenik
Pb(NO ₃) ₂	Kurşun (II) nitrat
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₂ O	Su
HNO ₃	Nitrik asit
pH	pH (Power of Hydrogen)
OH [•]	Hidroksil radikali
ppm	Milyonda bir değer
mm	Milimetre
nm	Nanometre
M	Molar
μM	Mikromolar
mM	Milimolar
μg	Mikrogram
μg/L	Mikrogramda litre
μg/mL	Mikrogramda mililitre
μL	Mikrolitre
kDa	Kilodalton
O ₂ ^{•-}	Süperoksit radikali
~	Yaklaşık simgesi
%	Yüzde
°C	Santigrat

Kısaltmalar

TP	Total protein
AOE	Antioksidan enzimler
CAT	Katalaz
GR	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon S-transferaz
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
GSH-Px	Glutasyon reroksidaz
GSSG	Okside glutasyon
SOD	Süperoksit dismutaz
ROS	Reaktif oksijen türleri

ICP-MS	İndüktif Eşleştirilmiş Plazma Kütle Spektrometresi
LC	Lethal konsantrasyon
DNA	Deoksiribonükleik asit
PPC	Propinazole
PBS	Phosphate Buffered Saline
BCA	Bikinkoninik asit
LPO	Lipit peroksidaz
EC	Ortalama etkili konsantrasyon
EPA	Çevre Koruma Ajansı



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 İdiosoma. A:Ventral B:Dorsal	5
Şekil 2.2 A.Su Kenelerinin Vücut Yapısı B.Eşeyssel Bölge C. Palp	6
Şekil 2.3 Su Kenelerinin Yaşam Döngüsü	7
Şekil 2.4 Kurşunun Kimyasal Özelliği ve Fiziksel Görünümü	12
Şekil 3.1 Bikinkoninik Asit Reaksiyon Şekli	46
Şekil 4.1 Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzimi	56
Şekil 4.2 Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Enzimi	57
Şekil 4.3 Katalaz (CAT) Enzimi	58
Şekil 4.4 Glutasyon S-transferaz (GST) Enzimi	59
Şekil 4.5 Glutasyon Redüktaz (GR) Enzimi	60
Şekil 5.1 Işıklı Gölü'nden Getirilen 1. Çalışma Su Örnekleri.	64
Şekil 5.2 Işıklı Gölü'nden Getirilen 2. Çalışma Su Örnekleri.	64
Şekil 5.3 Işıklı Gölü'nden Getirilen 3. Çalışma Su Örnekleri.	65
Şekil 5.4 <i>Eylais setosa</i> 'da 1. Uygulamada Pb ²⁺ Birikim Değerleri	66
Şekil 5.5 <i>Eylais setosa</i> 'da 2. Uygulamada Pb ²⁺ Birikim Değerleri	67
Şekil 5.6 <i>Eylais setosa</i> 'da 3. Uygulamada Pb ²⁺ Birikim Değerleri	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Endüstriyel Sektörlerden Çevreye Yayılan Başlıca Metaller.....	9
Çizelge 2.2 Sucul Organizmalarda Kabul Edilebilir Ağır Metal Oranları (mg/kg ⁻¹ yaş ağırlık).....	9
Çizelge 2.3 Kurşun Metali ile Genel Bilgiler.....	13
Çizelge 3.1 Deneme Gruplarında Kullanılan Kurşun Derişimleri ve Ağırlıkları.....	42
Çizelge 4.1 Işıklı Gölü’nden Alınan 1. Çalışma Su Analiz Sonuçları	53
Çizelge 4.2 Işıklı Gölü’nden Alınan 2. Çalışma Su Analiz Sonuçları	53
Çizelge 4.3 Işıklı Gölü’nden Alınan 3. Çalışma Su Analiz Sonuçları	54
Çizelge 4.4 Çalışma Alanından Alınan <i>Eylais setosa</i> ’nın 1. Örneklemdaki Kurşun Değerleri	54
Çizelge 4.5 Çalışma Alanından Alınan <i>Eylais setosa</i> ’nın 2. Örneklemdaki Kurşun Değerleri.	55
Çizelge 4.6 Çalışma Alanından Alınan <i>Eylais setosa</i> ’nın 3. Örneklemdaki Kurşun Değerleri	55

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 3.1 Işıklı Gölü Çalışma Alanı Haritası.....	37
Resim 3.2 Işıklı Gölü Çalışma Alanından Genel Görünüm.....	38
Resim 3.3 Çalışma Alanından Örneklerin Toplanması	39
Resim 3.4 Çalışma Alanından Su Kenelerinin Ayıklanması.	39
Resim 3.5 <i>Eylais setosa</i> Dorsal ve Ventral Mikroskop Görüntüsü.....	40
Resim 3.6 Kontrol Grubu, Durum 1, Durum 2 ve Durum 3 Akvaryumları.....	43
Resim 3.7 ICP-MS Analizi Öncesi Etüvde Kurutma İşlemi.....	44
Resim 3.8 Total Protein Aktivite Tayini	45
Resim 3.9 Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini	47
Resim 3.10 Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivite Tayini	48
Resim 3.11 Katalaz (CAT) Aktivite Tayini	49
Resim 3.12 Glutasyon S-tranferaz (GST) Aktivite Tayini.....	50

1. GİRİŞ

Yeryüzü; kara, deniz ve tatlı su ekosistemlerinden oluşan üç büyük ekosisteme sahiptir. Her grup birbiriyle etkileşim halindedir. Denizlerin ve tatlı suların oluşturduğu grup su ekosistemi olarak adlandırılır. Tatlı su ekosistemleri; göller, bataklıklar, akarsulardan ve yeraltı sularından; tuzlu su ekosistemleri ise denizlerden oluşmaktadır. Hidrosferin ~%98'ini oluşturan okyanuslar ve denizler yer yüzeyinin ~%71'ini kapsamaktadır. Canlıların hayatını devam ettirmesi için son derece önemli olan göller yeryüzünün %1'lik kısmını oluşturmaktadır (Çolak 2015).

Yaşamın temel bileşeni olan su; birim olarak birçok canlı organizmanın vücutlarının yarısından fazlasını oluşturmakta görevli iken ekosistemin dengede kalmasını aynı zamanda, canlı yaşamının da sürdürülmesinde en büyük etkidir (Aksungur ve Firidin 2008).

Türkiye tür zenginliği bakımından Dünyada önemli bir yere sahip ender ülkelerden birisidir. Fakat Anadolu'nun birçok bölgesindeki omurgasız faunasının zenginliği henüz tam olarak keşfedilmemiştir (Duran *et al.* 2003).

Su keneleri (Acari, Hydrachnidia) iç sularda bulunan en önemli omurgasız gruplarından. Su ekosisteminin önemli temsilcilerinden olan su kenelerinin Dünya üzerinde 8 üst familyası, 57 familyası, 81 alt familyası, 400'den fazla cinsi ve 6000'den fazla türü kaydedildi. Günümüze kadar, Türkiye'den 25 familya ait 58 cins ve 327 tür kaydedilmiştir (Esen ve Erman 2016).

Bu organizmalar göl, gölet gibi durgun sular ile akarsulardaki yaşama alanları ve topluluklarının belirlenmesinde özel bir öneme sahiptir. Hemen hemen iç suların tümünde yayılım gösteren su keneleri, temiz su kaynaklarının tespit edilmesinde biyolojik gösterge olarak kullanılmaktadır. Bazı familyalarına ait türleri de biyolojik mücadele açısından son derece önemlidir (Gerson and Smiley 1990).

Su kenelerinin sucul ekosistemlerdeki bolluk ve çeşitliliği habitatın flora ve faunasını etkilemektedir. Littoral tabakada diğer tabakalara göre daha fazla tür yer almaktadır (Davids *et al.* 1994, Cassano 2002). Biyotik faktörler ile birlikte abiyotik faktörler de su kenelerinin varlığını önemli derecede etkilemektedir. Su seviyesinin zamanla azalması ve buna bağlı olarak göldeki tuzluluk oranının artması bolluk ve çeşitliliği olumsuz etkilemektedir. Sıcaklık gibi iklimsel faktörlerde türlerin dağılımını olumlu yönde etkilemektedir (Erman vd. 2006, Özdemir *et al.* 2010).

En önemli tatlısu rezervlerinden olan göller; doğal güzellikleri, biyolojik çeşitliliği, hidrolojik döngüdeki rolü, balıkçılık, rekreasyon ve turizm gibi birçok özellikleriyle önemli doğa alanlarıdır. Fakat gelişen teknoloji, nüfusun hızla artması, küresel iklim değişikliği, evsel, endüstriyel ve tarımsal kirlilik kaynakları göller üzerinde büyük bir baskı oluşturmaktadır. Bunlar içinde en yaygın ekolojik problem insan kaynaklı ötrofikasyondur (Kristensen and Hansen 1994, Dodson *et al.* 2000).

Sucul ortamlarda önemli bir kimyasal kirlilik kaynağı olan ağır metaller, çeşitli kaynaklardan ortaya çıkan çevre koşullarına dayanıklılık göstermeleri ve kolayca besin zincirine katılarak doğada bulunan canlıların vücutlarında birikmesi sebebiyle diğer kimyasal kirleticiler içerisinde ilk sırada bulunmaktadır (Uzunoğlu 1999, Kaptan ve Özcan 2014).

Akuatik organizmalar, ekonomik önemleri ve sucul habitatlardaki morfolojik, fizyolojik ve ekolojik farklılıkları sebebiyle çevresel kirliliğin tespitinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Williams and Dusenbery 1990). Sonuç olarak metal kirliliği çoğu sulara birikmekte ve bu birikim, çözünme şeklinde olabileceği gibi, çözünmeden suların dibinde çökelme şeklinde de olabilir (Rainbow 1995).

Sucul ekosistemlerin doğal ortamlarında izlenmesi ekotoksikolojik araştırmalarda oldukça önemlidir. Çeşitli akuatik organizmalar ile kirleticilerin etkilerini araştırmak ve bazı indikatör organizmaları kullanarak su kalitesinin değerlendirilmesi için birçok çalışma mevcuttur (Sheedy *et al.* 1991).

Kirletici olarak ağır metaller sucul ortamlara; tarımsal alanlardan, kırsal ve endüstriyel üretim alanlarından, yağmur suları ve kirli su arıtımı gibi uzun vadeli ekotoksikolojik etkilerle sonuçlanabilen yollarla girebilmektedir (Strmack and Braunbeck 2000). Bu toksikolojik etkiler popülasyon ya da ekosistem düzeyinde fizyolojik ve biyokimyasal reaksiyonlarla başlar. Bu nedenle kirlenmenin canlılar üzerindeki etkilerinin çeşitli fizyolojik, histolojik, hematolojik ve biyokimyasal parametrelerle incelenmesi sonucunda önemli bilgiler elde edilmektedir (Lenhardt 1992).

Normal koşullarda ağır metallerin doğadaki oranı düşüktür. Doğal ortamdaki konsantrasyon oranı arttığında, civa, gümüş, bakır, kadmiyum ve kurşun gibi ağır metaller özellikle organizmalar üzerinde toksik etki yapmakta ve enzimleri inhibe etmektedir. Canlılardaki bazı enzimatik aktiviteler için bazı metallerin belli konsantrasyonlarda olması gereklidir. Organik maddeye bağlı olan metaller biyolojik aktiviteler sırasında kullanılabilir ve organik maddelerin bozulması ile çözünmüş olarak serbest hale geçer (Balkıs ve Algan 2005, Selvi 2012).

Bazı ağır metaller uygun konsantrasyonlarda enzim faaliyetleri için gerekli iken, bunlar doğal konsantrasyonlarda önemli bir enzim engelleyici grubu oluştururlar. Pb ve Cd gibi metaller zehir etkisi yaparlar. Ağır metallerden birçoğu çok düşük konsantrasyonlarda dahi tüm sucul organizmalarda (omurgalı, omurgasız, sucul bitki, plankton) birikimlere ve zararlı etkilere sebep olmaktadır (Eaton *et al.* 1995, Göksu vd. 2003). Bu metaller sucul organizmaların vücutlarında doğrudan biriktiği gibi dolaylı olarak besin zincirinde bir sonraki basamağa geçerek biyolojik birikim yapmakta ve hatta zehir etkisi gösterebilmektedir (Förstner and Wittmann 1981, Katalay vd. 2005).

Kurşun (Pb^{2+}), sucul ortamlarda kabul edilen değer 12.5 ppm'lik ortalama bir konsantrasyona sahiptir. Toprak ve sediment tarafından yüksek oranda absorbe edilir. Sucul ortamlarda kurşun birikimine pH, sıcaklık, organik madde, sertlik ve tuzluluk gibi faktörler etki etmektedir. Balık ve kabuklu canlılarda öncelikle solungaç, karaciğer, böbrek ve kemikte biriken kurşun, larvaları tamamen öldürmese bile çok ciddi hasarlar verebilir (Yıldırım 2016, Koboza 2018).

Ağır metallerin sucul ortamlara salınması çevre sağlığını önemli ölçüde tehdit ederken tuzluluk artışı gibi fiziko-kimyasal faktörler de tatlı su ortamı kalitesini değiştiren önemli etkenlerdendir. Antioksidan mekanizmalar oksidatif strese neden olan reaktif oksijen türlerinin elimine edilmesinde görevli en önemli savunma mekanizmalarından biridir. Çevresel değişimlerin etkileri antioksidan sistem tepkisi olarak kendini göstermektedir (Atlı and Canlı 2011).

Birçok organizma antioksidan savunma sistemleri, detoksifikasyon mekanizmaları ve oksidan-antioksidan dengesini koruyarak organizmalar hücresel temel bir savunma mekanizması geliştirdi. Enzim aktiviteleri, çevresel stres koşullarına verilen ilk cevaplar olduğu için en hızlı belirteçler olarak kabul edilmektedir (Depledge and Fossi 1994, Kaya vd. 2013).

Kirleticilerin organizmalardaki toksisitesinde serbest radikal süreçleri ve antioksidan savunma sistemi arasındaki ilişkinin önemli olduğu bildirilmektedir (Livingstone 2001). Ayrıca Pb ve Cd gibi canlı fizyolojisinde görevi olmayan diğer metallerin dolaylı olarak oksidatif strese neden olabildiği belirtilmektedir. Bu metaller glutatyon (GSH) stoklarını tüketerek ya da indüklenmiş metal iyonlarının yerine redoks metal iyonlarının geçmesiyle etkili olmaktadır (Stohs and Bagghi 1995, Kaya vd. 2013).

Enzimlerin çoğu spesifik metallerin bulunmaması halinde katalitik aktivite gösteremezler. Bazı ağır metaller, uygun konsantrasyonlarda enzim aktiviteleri için gerekli olmasına rağmen, doğal konsantrasyonlar aşıldığında enzim aktivitelerini inhibe ederler. Ag, Hg, Cu ve Pb gibi metaller özellikle toksiktirler ve enzim aktivitelerini durdururlar. Metallerin toksiklik düzeyi çoktan aza doğru Cu, Zn, Pb, Hg, Ag, Co, Cr ve Ni şeklinde olmakla beraber bu sıralama kesin değildir (Brayn 1971).

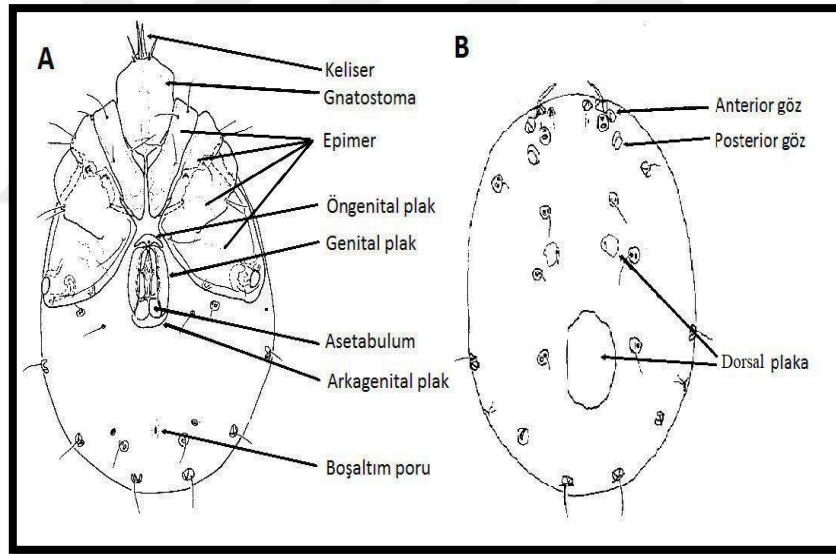
Dünyada ve ülkemizde sucul organizmaların ağır metal maruziyeti sonucu antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi hakkında çok sayıda çalışma mevcuttur (Kirubakaran and Joy 1992, De Conto Cinier *et al.* 1997, Kumar and Mathur 1996, Sağlamtimur *et al.* 2003, Katalay and Parlak 2004, Kayhan vd. 2009).

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Su Kenelerinin (Acari; Hydrachnidia) Morfolojisi ve Fizyolojisi

Su kenelerinin vücutları genellikle küresel veya oval olup dorsoventral veya lateral yassılaşıma görülmektedir. Vücut yüzeyi ince, pürüzlü, yumuşak, çizgili veya papillalıdır. Vücut, dorsalde ve ventralde olmak üzere iki plaka ile kaplıdır (Şekil 2.1). Bazı türlerde kutikula, sklerize plak serilerinden oluşmaktadır. Vücut büyüklüğü genellikle 0.4 mm ile 3.0 mm arasında değişmektedir (Pennak 1991).

Vücut yüzeyinde setalar, çeşitli pigment tabakaları, çıkıntı veya kıvrımlar bulunmaktadır (Jeppson *et al.* 1975). Ayrıca gözler ile birlikte ışığa duyarlı organ da bulunur. Genellikle canlı ve parlak renktedirler (Vacante 2010).



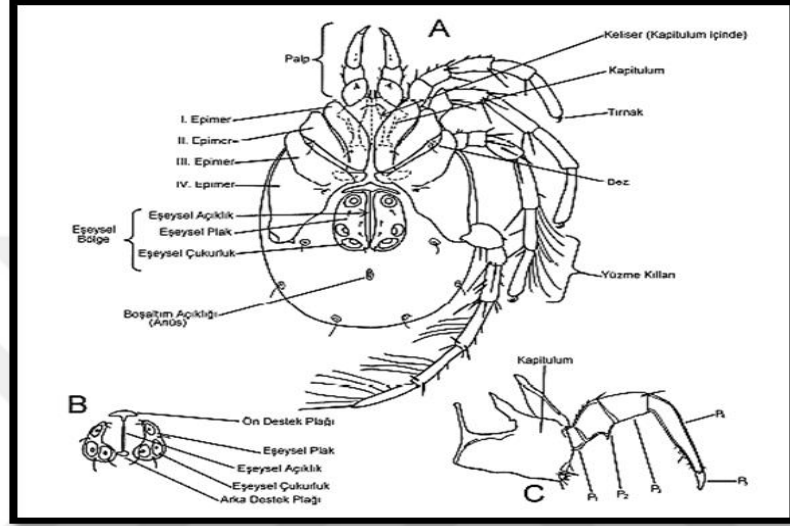
Şekil 2.1 İdiazoma. A: Ventral B: Dorsal (Panesar 2000).

Su kenelerinde baş yapısı yoktur. Vücutları gnatozoma ve idiozoma olarak iki bölümden oluşmaktadır. Gnatostomada keliser ve palp çiftleri bulunurken, idiozomada ise bacaklar ile vücudun geri kalan bölümleri bulunmaktadır (Krantz and Walter 2009, Hoy 2011).

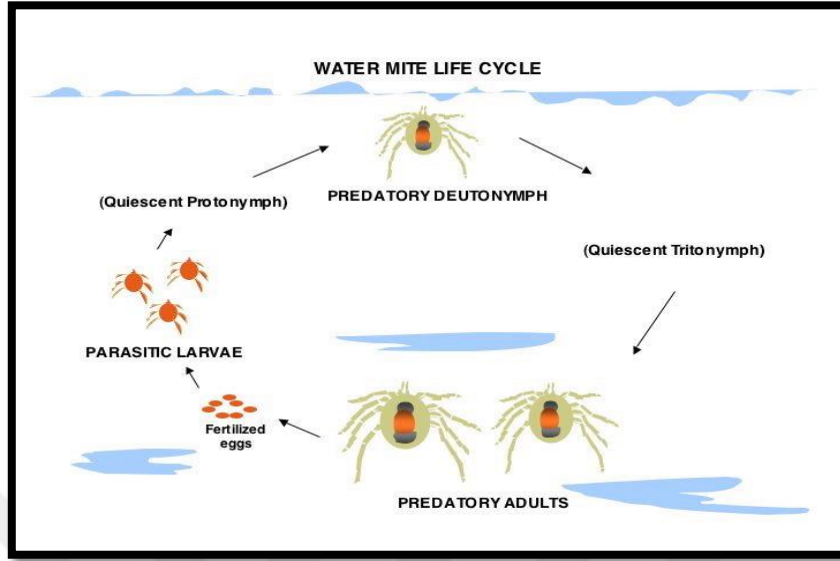
Gnatozoma veya kapitulum vücudun ön bölgesidir. Gnatozomada dışta palp çifti, içte keliser çifti ve ağız açıklığı bulunmaktadır (Gerson *et al.* 2003). Keliserler tipik olarak

üç segmentten oluşmaktadır (Şekil 2.2).

Keliserler kesmek ve delmek için kullanılır. Palpler beş segmentten oluşup, besinleri algılamak ve tutmak için kullanılmaktadır. Ayrıca tarsusun iç kısmında setalar bulunur ve besinlere dokunarak onları hissetmeye yardımcı olmaktadır. Keliser ve palplerdeki farklılıklar, sınıflandırmada kullanılan önemli karakterlerdir (Zhang 2003).



2003).



Şekil 2.3 Su kenelerinin yaşam döngüsü (watermites.uark.edu).

Su kenesi larvaları; böcekler çoğunlukta olmak üzere yumuşakçalar, Cladocera, Copepoda gibi Arthropodalar, iki yaşamlılardaki gibi sucul organizmalarda parazit olarak yaşamaktadır (Butler and Burns 1991, Balseiro 1992, Davis 1997, Goldschmidt 2002, Martin and Smith 2002, Ernsting *et al.* 2006). Genellikle parazitlerin konak seçiminde konağın cinsiyetinin önemi yoktur (Martin and Stur 2006). Konağını sadece beslenmek için değil nimfe dönüşmek için de kullanmaktadır (Smith 1998).

Su keneleri bahar ve yaz aylarında lotik ve lentik habitatlarda yaşamaktadır. Tür zenginliği ve çeşitliliği bakımından sucul ekosistemlerin önemli bileşeni olarak temsil edilmektedir. Özellikle bahar aylarında bazı ekosistemlerde yumuşakçalardan sonra en fazla tür sayısının su keneleri olduğu tespit edilmektedir.

Genellikle canlı ve parlak renklere sahip su keneleri, avcı balıklar tarafından dikkat çektiğinden dolayı diğer soluk renkli olanlara göre daha yoğun bulunmaktadır (Proctor and Garga 2004). Küçük habitatlara kolaylıkla uyum sağlaması ve diğer omurgasızlar üzerindeki av ve parazitik etkileşimleri önemli özellikleridir (Di Sabatino *et al.* 2000, 2003, 2008).

Su kirliliği, insan faaliyetleri sonucunda ortaya çıkan, kullanımı kısıtlayan ve ekonomik dengeleri bozan kalite değişimleridir. Su kirliliğinin bir başka tanımı ise; su kaynağının fiziksel, kimyasal, radyoaktif, bakteriyolojik ve ekolojik özelliklerinin olumsuz yönde değişmesi şeklinde gözlenen ve doğrudan veya dolaylı yoldan biyolojik kaynaklarda, insan sağlığında, su kalitesinde, su ürünlerinde ve suyun diğer amaçlarla kullanılmasında engelleyici bozulmalar yaratacak madde ve enerji atıklarının boşaltılmasını ifade etmektedir (Sönmez vd. 2008).

Su kaynaklarının bilinçsiz kullanımı, yeryüzü ısısının artmasına bağlı olarak aşırı buharlaşma, havaya ve toprağa karışan kirleticilerin büyük çoğunluğunun tekrar suya karışması gibi nedenlerle göl, gölet, bataklık ve akarsuların süratle bozulmasına ve su kenelerinin yaşama alanlarının gitgide daralmasına neden olmaktadır (Viets 1956).

Su keneleri, bentik fauna içerisinde biyoindikatör organizma grubu oldukları için akarsularda biyomonitöring çalışmalarında en çok kullanılan gruptur. Su keneleri ile sucul canlıların faunada varlığı ya da baskın olması ile organik ve inorganik kirlilik arasında anlamlı bir ilişki olduğuna ait çeşitli çalışmalar mevcuttur (Thorne and Williams 1997, Kazancı and Girgin 1997, Metcalfe 1989, Bunn *et al.* 1999, Hickey and Clements 1998, Kazancı ve Dügel 2000, Dügel and Kazancı 2004, Khamar *et al.* 2000, Solimini *et al.* 2000, Whiles *et al.* 2000, Zweig and Rabeni 2001, Duran *et al.* 2003, Duran 2006, Duran vd. 2007).

2.2 Ağır Metal Hakkında Genel Bilgiler

Elementler tablosunda bakır ile civa arasında yer alan ve atom ağırlıkları 63.546 ile 200.590 arasında bulunan, özgül ağırlıkları bakımından 5 g/cm^3 ten daha yüksek olan metaller ağır metal olarak adlandırılır (Masters 1991). Ağır metaller, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından yayımlanan ve çevre kirliliğine sebep olan öncelikli ve tedbir alınması gereken kirleticiler içerisinde yer alan en önemli çevre kirleticileridir (Yu 2005).

Çizelge 2.1 Endüstriyel sektörlerden çevreye yayılan başlıca metaller (Kahvecioğlu vd. 2006).

Endüstri	Cd	Cr	Cu	Hg	Pb	Ni	Sn	Zn
Kâğıt	-	+	+	+	+	+	-	-
Klor-alkali	+	+	-	+	+	-	+	+
Gübre	+	+	-	+	+	-	+	+
Demir-Çelik	+	+	+	+	+	+	-	+
Enerji	+	+	+	+	+	+	+	+

EPA tarafından yayımlanan liste içerisinde yaklaşık 70 kadar element yer almaktadır. Bu elementler içerisinde önem ve etkileri bakımından yaklaşık 20 element dikkat çekmektedir (Pb, Be, Cd, Tl, Sb, Se, Fe, Mn, Zn, Cu, V, Mo, Co, Ni, Cr, Sn, Ag, As, Hg, Al). Bu listede yer alan bazı elementler bitkiler ve hayvanlar için hayati önem taşımaktadır ve mikro besin elementi olarak alınması gerekmektedir. Bu elementlerin bulunduğu ortam canlıdaki birikimi belirli sınırları aşmadığı sürece toksik etki yapmamaktadır (Yıldız 2004, Okçu vd. 2009).

Ağır metallerin su kaynaklarına taşınımı, endüstriyel atıklar veya asit yağmurlarının toprak ile etkileşimde bulunan ağır metalleri çözmesi ve çözünen ağır metallerin ırmak, göl ve yeraltı sularına ulaşmasıyla gerçekleşir (Kahvecioğlu vd. 2001) (Çizelge 2.1).

Türkiye’de son yıllarda artan nüfus ve sanayileşme ile birlikte kirlilik oranları artmış ve meydana gelen kirlilik su ekosistemini de kirleterek yaşama alanı su olan canlı gruplarının doğal alanlarını terk etmesine ya da neslinin tükenmesine sebep olmaktadır (Taylan ve Özkoç 2007).

Çizelge 2.2 Sucul organizmalarda kabul edilebilir ağır metal oranları (mg/kg⁻¹ yaş ağırlık).

Sucul Organizmalar	Pb Kabul Edilebilir Değer (mg/kg ⁻¹)
Yumuşakçalar	0.50
Kabuklular	0.50
Balıklar	1.30

Su içeriğinin bozulması, doğal ortamlarında yaşayan canlıların beslenme zinciri düzenini bozarak onların yaşamını tehlikeye atmaktadır (Çizelge 2.2). Çünkü sucul canlılar birbirleri ile beslenen bir döngü oluştururlar ve bir grupta meydana gelen

bozulma diğerlerini de etkilemektedir (Özhan 2007).

Metallerin toksik etkileri; kimyasal maddenin özelliklerine, organizmaya alınma yoluna, alıcı organizmanın yaş ve gelişim durumuna, organizmaya giren miktarına, süresine bağlı olarak değişmektedir. Metal toksisitesi ile ilgili iki mekanizma mevcuttur. Birincisi, enzimin aktif bölgesinde yararlı olan metal, toksik metal ile yer değiştirir. İkincisi, toksik metal moleküle bağlanır ve metalik katyonun değişmesi enzimin aktivitesini değiştirir (Rainbow and Philips 1993, Rainbow 1995, Rainbow 2002).

Ağır metallerin biyoakümüasyonu (biyobirikimi) ve toksik etkileri, hedef organizmanın türüne, metalin etkisine, suyun kimyasına, organizmanın yaşamına ve sıcaklığa bağlı olarak değişim göstermektedir (Tao *et al.* 1999).

Ağır metallerin canlılardaki toksisitesi metalin cinsine, ortamın fiziko-kimyasal özelliğine (sertlik, sıcaklık, pH, oksijen miktarı vb.), canlının türüne, yaşam döngüsüne, fizyolojik davranışına, beslenme alışkanlıklarına ve üreme zamanına göre farklılık gösterebilmektedir (Bryan 1976, Förstner and Wittmann 1981, Ağcasulu 2007).

Ağır metaller suda ayrışamadıkları ya da zor ayrıştıkları için sucul organizmaların dokularında birirmektedirler. Canlının bünyesinde metabolik yollara katıldıktan sonra vücut dışına atılabilen metallerden fizyolojik öneme sahip olanlar saklanır. Toksik olmayan bileşikler içinde şekil değiştirerek karaciğer ve böbrek gibi organlarda depolanır (Gerlach 1981). Eğer depolanan metaller toksik metallerden biri ise, enzimlerin yapısını bozabilmektedir (Yazkan vd. 2004).

Ağır metaller, subletal derişimlerinin etkisinde balıkların karaciğer, böbrek ve dalak gibi metal metabolizması ve metal detoksifikasyonu ile ilgili organlarında yüksek düzeyde biriktiği gözlenir. Balıklarda karaciğer, ağır metalleri bağlayarak toksik etkilerinin azaltılmasında işlev gören metallothionein ve glutatyon gibi metal bağlayıcı proteinlerin sentez yerlerinden biridir (Kayhan vd. 2009).

Ağır metallerin farklı fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak sucul ortamdaki konsantrasyonları ile sucul canlılardaki biyolojik birikim ve artışları değişiklik gösterebilir. Bu yüzden, söz konusu metallerin çevredeki genel özellikleri, kaynakları, toksisiteleri, ortamdaki değişimleri ve biyolojik birikim/artış mekanizmalarının iyi

bilinmesi gerekir (Türkmen 2003).

Bir organizmanın biyomonitör olarak değerlendirilmesinde en önemli şartlardan biri yaşadıkları ortam ile bünyelerindeki kirlletici düzeyleri arasındaki ilişkidir ve farklı omurgasız türleri, farklı ağır metal birikim modelleri sergiler (Rainbow 1997).

Su kalitesinde ve su ortamında meydana gelen bazı olumsuz değişikliklerden en fazla etkilenen canlılar, aktif hareket etme yeteneği olmayan bentik organizmalardır. Su kenelerinin, bentik mikroomurgasız faunasının önemli bir bölümünü oluşturması ve sediment ile doğrudan temas halinde olması nedeniyle bu hayvan grupları üzerine toksik maddelerin etkileri ekolojik açıdan önem taşımaktadır (Reish and Lemay 1991). Bu organizmalar çevredeki metallerin varlığına oldukça duyarlıdır ve ortamdaki konsantrasyon seviyeleriyle orantılı olarak, bu metalleri yumuşak dokularında biriktirirler (Bryan and Hummerstone 1971).

Günümüze kadar su ortamındaki kirlilikleri belirlemede çoğunlukla suyun kimyasal analizleri kullanılmıştır ancak bu ölçümler tek başına yeterli olmayıp, tamamlayıcı diğer analizlerin de yapılmasını gerekli kılmaktadır. Bunun için sadece su kolonundan ve sedimentten değil, su içerisinde yaşayan canlılardan da örnekleme yapmak gerekir. Suda meydana gelen kirlenmeyi en iyi su canlıları yansıtır (Wang and Fisher 1999). Bu zooplankton grubu ile yapılacak olan bu çalışmayla, kurşun gibi toksik etkisi yüksek kimyasalların besin zincirinin ilk basamağı olan bu canlı grubunda olumsuz etkilerinin tespiti diğer üst grup canlılar için bir değerlendirme fırsatı verecektir.

Besin zincirindeki bir organizma baz alınarak yapılan toksisite çalışmalarında zincirin en üst kademesindeki insanda oluşabilecek birikimi ve görülebilecek etkileri anlamamızı, belirlememizi ve yorumlamamızı sağlayabilecektir (Sheata *et al.* 1999, Taylan ve Özkoç 2007).

Ağır metallerin sucul ortamlarda organizmalar üzerine yaptığı etkilerini inceleyen araştırmaların sayısı da hızla artmaktadır (Berg *et al.* 1997, De Conto Cinier *et al.* 1999, Sağlamtimur *et al.* 2003, Guevara *et al.* 2004, Argese vd. 2005, Kalay *et al.* 2004).

2.3 Kurşun (Pb) Ağır Metali ve Etkileri

Kurşun (Pb), atom numarası 82, atom kütlesi 207.19 g/mol, mavi-gümüş renge sahip bir elementtir. 327.5 °C’ de erir ve 1740 °C’ de kaynar (Çizelge 2.3). Doğada, kütle numaraları 208, 207, 206 ve 204 olmak üzere 4 izotopu vardır (Anonim 2016).



Şekil 2.4 Kurşunun kimyasal özellikleri ve fiziksel görünümü.

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

Kurşun ve bileşikleri 8000 yılı aşkın bir süredir para, boru, oluk, tabak ve boya, dekoratif nesnelerin süslenmesi, kâselerin parlatılması ve kozmetik gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Kitman 2000, Nriagu 1983, Dünder ve Aslan 2005).

Yoğunlukları nedeniyle “ağır metaller” diye tanımlanan kurşun, alüminyum, krom, kalay, kadmiyum, titanyum, stronsiyum gibi metallerden oluşan 70 kadar element, hava, su, toprak ve besinler ile vücuda alınır (Dünder ve Aslan 2005). Pb esansiyel olmayan ve çok düşük miktarlarda bile alınması toksik etkiye neden olan bir elementtir (El-Naggar *et al.* 2009).

Çizelge 2.3 Kurşun metali ile genel bilgiler (Kahvecioğlu vd. 2006).

Sembol	Kurşun (Pb)
Atom numarası	82
Aton ağırlığı	207.2 g/mol
Elemen serisi	Metaller
Maddenin hali	Katı
Yoğunluk	11.34 g/cm ³
Sıvı haldeki yoğunluk	10.66 g/cm ³
Atom yarıçapı	180 ppm
Kaynama noktası	1749 °C
Buharlaşma ısısı	179.5 kJ/mol
Kristal yapısı	Yüzey merkezli kübik
Yükseltgenme seviyeleri	4 ⁺ , 2 ⁺
Görünüş	Mavimsi beyaz

Metabolik etkisi maruziyet şiddeti ile yakından ilgili olan ağır metal kirleticiler arasında kurşun, sudaki çok düşük konsantrasyonlarda bile en toksik metallerden biri olarak tanınır (Taşar *et al.* 2014). Kurşunun çevresel kirlilik açısından ilk sırada yer alan tehdit çeşitli endüstriyel atık suların yanı sıra, kurşunlu benzin, maden ve gaz enerji santrallerinden yayılan dumanlarda bulunmaktadır (Masoumi *et al.* 2016).

Kurşun insan faaliyetleri ile ekolojiye en önemli zararı veren ilk metal olma özelliğini taşımaktadır. Çevre kirliliğine neden olan kurşunun büyük bir bölümü motorlu araçlarda kullanılan benzinin yanmasıyla çıkan tetra-etil kurşundan kaynaklanmaktadır (Vural 1993).

Geniş kullanım alanına sahip olan kurşun, kullanımının artmasıyla doğaya verdiği zararı da kademeli olarak arttırmaktadır. Dünya hükümetlerinin yasal çalışmaları neticesinde kurşun içerikli boyaların kullanımı sınırlandırılmış (Kime 1998), uzun yıllar kurşunun etkisi altında bulunmak davranışsal problemlere, felç ve ölüm gibi birçok sağlık sorununa sebep olmaktadır (Axtell *et al.* 2003). Kurşun bir nevi nörotoksin madde olup anormal beyin ve sinir sistemi fonksiyonlarına sebep olmaktadır (Kahvecioğlu vd. 2001). Önlem alınmayan kurşun zehirlenmelerinde felç, körlük, hafıza kaybı, kısırlık ve karaciğer yetmezliği hatta koma ve ölüm söz konusu olmaktadır (Dündar ve Aslan

2005).

Kurşun günümüzde hem antropojenik hem de doğal kaynaklardan sürekli olarak çevreye giren önemli bir kirleticidir. Ağır metallerin doğada kalıcı olması, birikim yaparak pek çok canlıya katlanarak ulaşması ciddi sorunlara yol açmaktadır. Hatta kadmiyum (Cd), kurşun (Pb) ve arsenik (As) insanlar için kanserojendir.

Biyolojik yarılanma ömrü 700-800 gün kadardır. İnsanda absorbe olan kurşunun letal dozu 0.5 gr.'dır. Solunan havadaki maksimum kurşun konsantrasyonu 0.15 mg/m^3 , gıda maddelerindeki maksimum konsantrasyonu ise 256 mg/kg ' dır (Dökmeci 1988).

Kandaki kurşun konsantrasyonunun $0.2 \text{ } \mu\text{g/mL}$ limitini aşması durumunda olumsuz sağlık etkileri gözlenir. Kandaki kurşun konsantrasyonu; $1.2 \text{ } \mu\text{g/mL}$ limitinin aşılmasıyla birlikte yetişkinlerde geri dönüşü olmayan beyin hasarlarının meydana geldiği gözlenmektedir (İlhan vd. 2006).

Kurşunun toz ve buhar şeklindeki bileşikler solunarak kolayca vücuda absorbe olup kana geçebilir. Dolaşımdaki kurşunun büyük bir kısmı kırmızı kan hücrelerine (%80-90) ve az bir kısmı ise plazma proteinlerine bağlanır. Organizmaya giren kurşun, karaciğer, dalak, kemik iliği, böbrekler, kas, santral sinir sistemi ve keratinize yapılar gibi çok çeşitli organ ve dokularda birikir. Bu dokularda serbest hale geçen kurşun molekülleri kalsiyuma bağlanarak kemik dokusunda kurşun fosfat şeklinde birikir ve dokuda uzun süre kalabilir (Dökmeci 1988, Guy *et al.* 1999).

2.3.1 Kurşunun Sucul Organizmalar Üzerine Toksik Etkisi

Kurşun; canlı sistemleri ve çevre sağlığı açısından önem taşımakta ve belirli bir sınırı aşınca toksik etki göstermektedir. Suda yaşayan her canlının ağır metallerle olan etkisi değişiklik gösterebilmektedir. Bazı organizmalar fazla dayanıklılık gösterirken bazı organizmaların ve canlıların toleransı düşük olmaktadır. Bu organizmanın hassas yapısı, suyun içeriği, ağır metalin yoğunluk oranına bağlı olabilir. Sucul canlıların sürekli olarak metallerin düşük konsantrasyonlarına maruz kalmaları sonucunda biyolojik

birikim ve besin zinciri aracılığı ile taşınmasından dolayı kurşun gibi metaller canlılar için oldukça toksiktir (Heath 1995).

Ağır metaller, körfezler, nehirler, göller ve okyanuslar ile bunların dip kısımlarında yayılım gösterirler. Bu metaller insan faaliyetleri sonucunda yoğun olarak üretilip sucul ortama taşınmaları sonucu orada bulunurlar. Son yıllarda hızlı nüfus artışı ve hızlı endüstrileşme sonucu özellikle sucul ortamda toksik ağır metal seviyesinin arttığını gösteren birçok çalışma vardır (Kalay *et al.* 2004, Yazkan vd. 2004).

Kurşunun suda çözünen bileşiklerinin deniz canlıları üzerinde çok zehirli olduğu kabul edilmektedir. Suda çözünmeyen ince dağılmış kurşun sülfürün de balıklar için iki ay içinde öldürücü olduğu tespit edildi. Ağır metallere kurşun için taze balıklarda kabul edilebilir maksimum miktar 0.2 mg/kg olarak belirtildi (TGK 1997). Sulara karışan kurşunun önemli bir kısmı, sularda bulunan karbonat, bikarbonat ve organik maddelerle birleşerek dibe çöker. Böylece büyük oranda sedimentlerde biriken kurşun, flora ve faunaya geçerek birirmektedir. Yapılan analizlerde, dil balıkları gibi sedimentte beslenen balıklarda önemli miktarlarda kurşun birikimine rastlanıldı.

Suda yaşayan canlıların bünyesine ağır metal geçişi daha kolaydır. Bazı canlı organizmalar ağır metalleri kullanmayıp sadece biriktirirler. Sucul canlılarda biriken ağır metaller örnek olarak bakır, alüminyum, kurşun, arsenik, platin, civa gösterilebilir. Dipte yaşayan canlılarda ağır metal birikimi daha fazla olmaktadır. Çünkü deniz dibine çöken ağır metallerle bu canlıların karşılaşma oranı yüksektir. Suyu süzerek beslenen deniz canlıları için ise tehlike daha da yüksek olmaktadır (Yarsan vd. 2000). Biyokimyasal ve fizyolojik belirteçler olan enzimler, sucul organizmaların ciddi bir şekilde kirleticilerden etkilenmeden önce olası bir çevre kirliliğinin belirlenmesinde önemli bir belirteçtir (Jimenez and Stegeman 1990).

Sucul omurgasız canlılar, geniş bir ağır metal birikim konsantrasyonu gösterirler. Belirli omurgasızlar, belirli ağır metalleri farklı oranlarda kullanıp biriktirirler. Omurgasız canlılarda birikmiş metal konsantrasyonları, sucul ortamdaki toksik metalin biokullanılabilirliğinde coğrafik ve geçici değişimler hakkında bilgi potansiyeli sağlarlar. Son yıllarda ağır metaller ve akuatik ekosistemlere etkileri üzerine dünyada ve

ülkemizde birçok araştırma bulunmaktadır. Özellikle de bu araştırmalar, sedimentte, alglerde, omurgalı ve omurgasız hayvanlarda yapılmaktadır.

2.3.2 Kurşun ile Yapılan Çalışmalar

2.3.2.1 Sedimentte Yapılan Kurşun Birikim Çalışmaları

Sedimentler, organizmaların üzerinde veya içinde yaşadığı sucul ortamlara çeşitli kaynaklarla gelen ve burada yaşayan canlıların atıklarında var olan metallerin çökerek biriktikleri yerlerdir. Dolayısıyla sedimentteki metal konsantrasyonları burada yaşayan ve buradan beslenen canlıların bünyelerindeki ağır metal miktarlarını da etkilemektedir. Bu nedenle metallerle ilgili yapılan çalışmalarda su ortamı ve biyotanın yanı sıra sedimentin de araştırılması kirlilik çalışmaları açısından büyük önem taşımaktadır (Bryan and Langston 1992, Szefer *et al.* 1998).

Su ortamları tek başına su kütlelerinden ibaret olmayıp, bünyesinde birçok hayvan ve bitki kökenli yüzen veya dipteki sediment tabakasında yaşayan organizma grupları bulundurmaktadır. Kirleticiler sadece suda çözünmekle kalmayıp, ortam şartlarına göre organizmaya geçmekte, besin zincirinde birikmekte veya dibe çökmektedirler. Dolayısıyla bir kirleticisi sadece suya değil, aynı zamanda o su ortamında bulunan tüm canlıların yapısına geçmektedir. Bu sebeple sucul ortamlarda ağır metaller gibi kirleticiler sadece suda değil sediment ve canlı organizmalarda da bakılmaktadır (Rainbow and Phillips 1993).

Poliketlerin, bentik makroomurgasız faunasının önemli bir bölümünü oluşturması ve sediment ile doğrudan temas halinde olması nedeniyle bu hayvan grupları üzerine toksik maddelerin etkileri ekolojik açıdan önemlidir (Reish and Lemay 1991). Bu organizmalar çevredeki metallerin varlığına oldukça duyarlıdır ve ortamdaki konsantrasyon seviyeleri, bu metalleri yumuşak dokularında bulundururlar (Bryan and Hummerstone 1971).

Organizmaların üzerinde ya da içinde yaşadığı sediment, sucul ortama çeşitli yollarla gelebilen kirleticilerin dipte biriktiği ve organizma atıkları içinde mevcut olan ağır

metallerin bol olarak bulunduğu yerdir. Bu nedenle ağır metaller ile ilgili yapılacak olan araştırmaların, organizmaların yanı sıra sedimentte de yürütölmesi son derece önemlidir.

Seng vd. (1995), Penang Nehri'nde ve nehre dökölün su kaynaklarında Zn, Cu, Pb ve Ni konsantrasyonlarını incelemişlerdir. Çalışma sonunda nehrin dar kesimlerine gidildikçe sedimentteki ağır metal seviyelerinde önemli artışlar olduğunu kaydetmişlerdir. Ayrıca nehirdeki ve nehre giren su kaynaklarındaki kirliliğin antropojenik faaliyetlerden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Rubio vd. (2000), Kuzeybatı İspanya'daki Rio de Vigo kıyılarından aldıkları 66 sediment örneğinde majör ve iz elementlerinin analizini yapmışlardır. Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Co konsantrasyonlarını sırasıyla 10.85; 188; 99.08; 36.16; 160.1; 546; 23.04 ppm olarak bulmuşlardır. Sonuçlara göre Ria'nın güney bölgeleri ile iç kısımlarında kirliliğin yüksek olduğunu saptamışlardır.

Özmen vd. (2004), Hazar Gölü'nün sedimentinde bazı ağır metallerin (Zn, Fe, Mn, Ni, Cu, Cr, Co ve Pb) birikimini araştırmışlardır. Sedimentte Pb dışında tüm metallere rastlamışlardır. Sonuçlara göre sedimentte en fazla Fe'in, en az ise Pb'un biriktiğini kaydetmişlerdir.

Ip vd (2005), Pearl Nehri'ndeki bazı sucul organizmalardaki metal birikimlerini araştırmışlardır. Çalışma sonunda karideslerde ve yengeçlerde Cd metalinin, balıklarda ise Pb metalinin yüksek konsantrasyonda olduğunu bildirmişlerdir.

Türkoğlu (2008)'de çalışmasında, Van Gölü'nden alınan sediment örneklerinde ağır metallerden Cd, Cu, Zn ve Pb konsantrasyonlarını belirlemiştir. Araştırma sonucunda, sedimentte özellikle Pb ve Cd konsantrasyonları yüksek düzeylerde bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Selvi (2012)'de Umurbey çayı ve barajı'nda (Çanakkale) MDS analizlerine göre; suda, sedimentte, bazı makro omurgasız canlılarda ağır metal birikimi ve toksisitesi üzerine

yapmış olduğu çalışmada birbirleriyle ve fiziko-kimyasal parametrelerle birbirleriyle ilişkili bulmuştur.

2.3.2.2 Alglerde Yapılan Kurşun Birikim Çalışmaları

Biyosorpsiyon alanındaki ilk bulgu 1970'lerin başında, nükleer santralden çıkan atık sudaki radyoaktif elementlerin birkaç alg türü üzerinde birikim göstermesidir. Günümüze kadar artarak devam eden araştırmalar biyosorpsiyonun, ağır metalleri sulu çözeltilerden uzaklaştırılması adına ümit verici ve uygun maliyetli bir teknoloji olduğunu belirtilmektedir (Sheng *et al.* 2007, He and Chen 2014).

Haritonidis ve Malea (1999), Thermaikos Körfezi'nde (Yunanistan) yeşil alglerden *Ulva rigida*'da yapmış olduğu çalışmada ağır metal birikimini ve metal yoğunluklarının sıralamasının $Fe > Zn > Pb > Cu > Cd$ şeklinde olduğunu ifade etmişlerdir.

Swadis vd. (2001) yapmış olduğu çalışmada, Ege Denizi'nin farklı bölgelerinde dağılım gösteren kırmızı, kahverengi ve yeşil alglerin en yaygın bulunan türlerinde iz element derişimlerini araştırmışlardır. Çalışma sonunda en yüksek düzeylerin, Cu için *Cladophora* sp.'de 29.3 mg/kg^{-1} , Zn için *Gracilaria verrucosa*'da 155.3 mg/kg^{-1} , Cd için *Corralina officinalis*'de 2.9 mg/kg^{-1} ve Pb için *Cladophora* sp.'de 24.7 mg/kg^{-1} olduğunu belirtmişlerdir.

Topçuoğlu vd. (2001) çalışmasında, Karadeniz'de Şile kıyılarındaki makroalglerde Cd için $0.35\text{-}2.00 \text{ mg/g}^{-1}$; Zn için $24.10\text{-}107.9009 \text{ mg/g}^{-1}$; Fe için $122.30\text{-}106.609 \text{ mg/g}^{-1}$; Pb için $0.50\text{-}23.5 \text{ mg/g}^{-1}$ birikim saptamışlardır.

2.3.2.3 Omurgasız Hayvanlarda Yapılan Kurşun Birikim Çalışmaları

Ağır metallerin toksik etkileri üzerine yapılan bütün çalışmalara bakıldığında; çalışmaların özellikle makro omurgasızlar üzerine yapıldığı görülmektedir.

Freedman vd. (1980), *Hyallela azteca* üzerine kurşun akut toksisitesini araştırmışlar ve ölüm oranlarının artmasının, ortamdaki kurşun konsantrasyonlarının yükselmesiyle arttığını, bu canlıların bünyelerinde kurşunu düzenleyemediğini bildirmişlerdir.

Giordano vd. 1989 yılında, İtalya kıyılarından toplanmış *Mytilus galloprovincialis* örneklerinde civa, kadmiyum ve kurşun miktarlarını belirlemeye çalışmışlar, analizlerini kadmiyum ve kurşun için elektrotermal, civa için soğuk buhar kullanarak yapmışlardır. Sonuçta, metallerin konsantrasyon değerlerinin ortalama değerlerden daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Havens (1993), sucul ekosistemde *Enallagma* sp. *Chironomidae*, *Hyalella* sp. vb. yaygın bulunan canlıların, asidik ortamda alüminyum varlığında ölüm oranı artarken *Hydracarina* bu durumdan etkilenmediği gözlenmiştir.

Sorvari ve Sillanpää (1996); yapmış oldukları çalışmada, *Daphnia magna*'da toksik etki gösteren ağır metal sıralaması $Hg^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Fe^{3+} > Mn^{2+}$ şeklindeyken bu sıralama at nalı yengeci larvasında (*Limulus polyphemus*) $Hg > Cd > Cr > Zn > Pb \geq Cu$ şeklindedir.

Anderson vd. (1997), kurşun birikimi ile ilgili yaptıkları bir araştırmada, *Procambarus clarkii* (Kırmızı Bataklık Kereviti)'nin dokularında kurşun birikiminin ortam derişimindeki artışa ve sürenin uzamasına bağlı olarak arttığını saptamışlardır.

Toramanoğlu (1998) yaptığı çalışmada, omurgasız canlılardan *Gammarus pulex*'lerde bulunan DT-diaforazın kurşun ile olan inhibisyonu araştırılmıştır. *G. pulex*'lerin DT-diaforaz aktivitesini ölçmek için farklı dozlarda Pb konsantrasyonları 96 saat muamele edilmiştir. Deneyler sonunda dozlara göre enzim aktivitesinde azalma olduğu görülmüştür.

Blasco ve Puppo (1999) araştırmalarında, *Ruditapes philippinarium* midye türünde farklı dokularda kurşunun birikimi ile ilgili solungaç ve sindirim bezinde birikimin diğer dokulara oranla yüksek düzeylerde olduğunu belirtmişlerdir.

Labrot vd. (1999), *Bracydanio rerio*, *Corbicula* sp. ve *Eisenia fetida andrei* gibi türler ile yapılan araştırmada Pb birikiminin türe bağlı değişiklik gösterdiğini, *B. reiro*'da ise diğer türlere göre Pb birikiminin daha hızlı olduğunu belirlemişlerdir.

Viyana (Avusturya) şehrinde toplanan zebra midyesinde (*Dreissena polymorpha*) kadmiyum, kurşun, bakır ve çinko birikimi midyenin yumuşakça bölümünden atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) ile ölçülmüştür. Kurşun, bakır ve çinkonun bysus ipliklerinde önemli ölçüde yüksek konsantrasyonlara sahip olduğu tespit etmiştir (Gundacker 1999).

Yarsan vd. (2000), Van Gölü'nden toplanan midye (*Unio stevenianus*) örneklerindeki ağır metal düzeylerini (bakır, kadmiyum, çinko, kurşun) araştırmışlar ve elde edilen sonuçların ülkemiz ve diğer ülkeler için kabul edilen değerler içerisinde olduğunu bildirmişlerdir.

Kahle ve Zauke (2003), *Calanus propinquus*, *Rhincalanus gigas*, *Metridia curticauda* akar türlerindeki Cd, Co, Cu, Ni, Pb, ve Zn miktarlarını atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) kullanarak ölçmüşler ve türlerde en yüksek oranda Cd metali bulunurken, en düşük oranda da Co metalinin olduğunu tespit etmişlerdir.

El-Sikaily vd. (2004), Akdeniz'in Mısır kıyılarından toplanan bivalvelerde (*Modiolus auriculatus* ve *Donax trunculus*) ve Kızıldenizin Mısır kıyılarından toplanan *Brachiodonates* sp. türlerinde Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Zn ağır metallerini ölçmüşlerdir. Birikim durumunu Akdeniz ve Kızıldeniz için $Fe > Zn > Cu > Mn > Ni > Co > Pb > Cd$ olarak bulmuşlardır.

Duman (2005) yılında yapmış olduğu tez çalışmasında, Sapanca ve Abant göllerinde sucul canlı türlerinde (*Phragmites australis*, *Schoenoplectus lacustris*, *Potamogeton lucens* ve *Nuphar lutea*) ağır metal birikiminin mevsimsel değişimini incelemiştir. Bu çalışmada Pb, Cr, Cu, Mn, Ni, Zn ve Cd konsantrasyonları ICP-OES cihazı ile belirlenmiştir. Çalışmasının sonucunda *Phragmites australis*'in Pb, Cr, Cu ve Ni, *Schoenoplectus lacustris*'in ise Mn, Zn ve Cd metallerini önemli ölçüde absorpladığını

saptamıştır.

Küçükgülmez (2005) yapmış olduğu tez çalışmasında, mavi yengecin farklı dokularında ağır metal konsantrasyonları ve mineral madde içeriklerini incelemiştir. Çalışmalarının sonucunda ağır metallerin tüm dokularda bulunma miktarına göre sırasıyla; çinko> bakır> demir> kurşun> kadmiyum > civa şeklinde olduğunu gözlemiştir.

Kayhan vd. (2006), Kadmiyum ve kurşun fazlalığı olan ortamlarda 0.5 ppm kadmiyum konsantrasyonunda midye larvalarının yaklaşık %97 sinde anormallik tespit edilmiş, ergin midyelerin ise kurşundan daha fazla etkilendiği saptanmıştır. Deniz suyundaki 500 mg/L'lik Pb varlığının alglerin büyümesini engellediği tespit edilmiştir (Egemen ve Sunlu 1999).

İstanbul Boğazında yapılan çalışmada ise akdeniz midyelerinde kadmiyum ve kurşunun biyolojik birikimi araştırılmış, mevsimsel olarak toplanan midye örneklerinin ağır metal konsantrasyonları atomik absorpsiyon spektrofotometre (AAC) ile belirlenmiştir. Ölçüm sonuçlarında metallerin konsantrasyonlarının insan tüketimi için kabul edilebilir sınırı aşmış olduğu gözlenmiştir (Kayhan *et al.* 2007).

Ağır metallerin canlı bünyesinde birikmesi ve canlıya olan etkisi türlere göre değişiklik göstermektedir. *Plectrocnemia conspersa*, *Moina monogolic*, *Hydropsyche pellucidula*, *Stenopsyche marmorata* gibi bazı türlere letal etki göstermiştir. LC50 değerleri belirlenerek ve morfolojik değişikliklere bakılarak su kalitesinin belirlenmesinde indikatör tür olarak kullanıldığı görülmüştür (Darligton *et al.* 1987, Vuori and Kukkonen 1996, Aizawa *et al.* 2009, Wang *et al.* 2009).

Aşçı ve arkadaşlarının (2009)'da çalışmasında, su keneleri türlerinin (Hydrachnidae), ağır metal çalışmalarında kirlilik indikatörü olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

El-Sharabasy ve İbrahim (2010), Oribatid akarlar ve Mısır'daki tarım topraklarında ki

akar türlerinde ağır metal birikimini incelemişler ve tarımsal topraklarda metallerin limit değerinin altında olduğunu ancak sulama yapılan suda ağır metal düzeylerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Cd, Pb, Cu, Zn metallerinin analizleri yapılmış ve sonuç $Zn > Pb > Cu > Cd$ bu şekilde belirlenmiştir.

Aşçı vd. (2016), *Hydrodroma despiciens* türünde ağır metal tuzlarının $(Ni(NO_3)_2, Cu(NO_3)_2, Cd(NO_3)_2, Hg(NO_3)_2$ ve $Pb(NO_3)_2$) toksikolojik etkilerini araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda bu ağır metallerin su kenelerinin vücutları içerisine absorbe olduğunu ve canlıda birikim gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Bu çalışmaya göre bu ağır metal tuzlarından toksik etkisi en yüksek olan metal Hg, en düşük olan ise Ni'dir.

Akar (2018)'de yapılan bir çalışmaya göre, kurşun (II) nitrat tuzuna maruz bırakılan *G. pulex* bireyleri çok düşük konsantrasyonlarda tepki vermiştir. Az konsantrasyon oranından çok konsantrasyon oranına göre hareketlerde yavaşlama ve ölümler meydana gelmiştir. *G. pulex* bireylerinin hareketlerinde yavaşlama tespit edilmiştir.

2.3.2.4. Omurgalı Hayvanlarda Yapılan Kurşun Birikim Çalışmaları

Columbano (1983)'nin kurşun (II) nitrat ile muamele ettiği farelerin karaciğer dokusunda, kurşun (II) nitratın nekroz gibi histopatolojik değişikliklere yol açtığını ayrıca karaciğer büyümesine neden olduğunu bildirmiştir.

Fesus (1987), kurşun (II) nitrat uygulanan ratların karaciğer dokusunda kurşunun hiperplazi ile apoptozise neden olduğunu ve hücreleri mitozaya yönlendirdiğini belirtmiştir.

Nayak (1989), kurşun (II) nitratın ratlar üzerindeki embriyotoksik ve genotoksik etkisini incelemiştir. Fetus karaciğerinde kromozomal silinmelere, mikro çekirdekçikte DNA zincirinde kırılmalara, kromozom yapısını değiştirebilen yapılara rastladığını bildirmiştir.

Hamile ratlara kurşun uygulanan bir çalışmada, fetüsün beyin ve diğer organlarında orantısız büyüme olduğu belirtmiştir (Goyer 1990).

Menegazzi (1992) yaptığı çalışmada, kurşun (II) nitrat verilen ratların karaciğerlerinde DNA polimeraz sentezinin arttığını rapor etmiştir. Kurşun verilen ratların karaciğer hepatositlerinde hiperplazi meydana geldiği, hücrelerin mitozaya yöneldiği, DNA ekspresyonunun zarar gördüğü ve tamir için DNA polimeraz sentezinin arttığı belirtilmiştir.

Köck vd. (1996), Avusturya’da oligotrofik bir gölde dağalası (*Salvelinus alpinus*)’nda metal birikimini mevsimsel olarak incelemişler ve suda kadmiyum (Cd) ve kurşun (Pb)’nin maksimum konsantrasyonlarının karların eriyip pH’nın düştüğü dönemde, karaciğer ve böbrekteki metal konsantrasyonlarının ise kışın sonunda en düşük olduğunu ve yaz boyunca arttığını tespit etmişlerdir.

Kurşun hücre yüzeylerine bağlanma isteği yüksek olan toksik bir metaldir. Karaciğer hücrelerine kurşun (II) nitrat uygulanmasıyla karbonhidrat hücre reseptörlerinin etkinlikleri araştırılmıştır. Ratlara verilen kurşun (II) nitratın hepatositleri bağladığı galaktoz ve mannoz hücre reseptörü sayısını azalttığı, hücrelerde hiperplazi meydana getirip onları mitozaya yönlendirdiği ve apoptotik hücreler oluşturduğu belirtilmiştir (Ruzitti *et al.* 1999).

Zyadah ve Chouikhi (1999)’da Ege Denizi’nde bolca avlanarak tüketilen üç ekonomik balık türünde (*Mullus barbatus*, *Merluccius merluccius*, *Boops boops*) Cu, Zn, Cd ve Pb’nin kasta düşük düzeyde olduğu, en fazla birikimin karaciğerde gözlemlendiği, Pb’nin karaciğer ve solungaçlarda diğer organlara nazaran daha yüksek düzeyde biriktiğini belirtmişlerdir. *Boops boops*’un organlarında daha çok metal birikimi tespit edildiği ve tür farklılığının birikimi etkilediği ifade edilmişlerdir.

Kalay ve Canlı (2000), *Tilapia zilli* bakır, çinko, kurşun ve kadmiyumun 1 mg/l⁻¹ derişimlerinde 10 gün süreyle tutarak karaciğer, solungaç, beyin ve kas dokularındaki metal birikimlerini incelemişlerdir. 10 gün sonra balıkları metal içermeyen suya koyarak 1, 7, 15, 30. günlerde belirtilen dokuların metal atılım düzeyini saptamışlardır. Atılım periyodunun 30. günü sonunda solungaç dokusunda Cd, Pb ve Cu metal düzeylerinde azalma olduğunu belirtmişlerdir. Solungaç dokusunun kurşuna göre bakır

ve kadmiyumu elemine ettiğini karaciğer dokusu için de tersi bir durum olduğunu gözlemlemişlerdir.

Aboul-Ela (2002)'de yapılan çalışmasında, kurşun uygulanan ratların kemik iliğinde kromozom bozuklukları oluşturduğu sonucu ortaya konulmuştur.

Karataş ve Kalay (2002), *Tilapia zilli*'de ortamın farklı kurşun konsantrasyonlarının ve etkide kalma sürelerinin solungaç, böbrek, karaciğer ve beyin dokularındaki kurşun birikim üzerine etkilerini araştırmışlardır. 1, 7, 15 ve 30 gün sürelerle 1.0, 2.5 ve 5.0 ppm kurşun derişimine maruz bıraktıkları balıkların dokularındaki kurşun birikim düzeylerinin; Böbrek > Beyin > Solungaç > Karaciğer olarak değişim gösterdiğini tespit etmişlerdir. Böbrek dokusunda kurşun birikiminin fazla miktarda olması kurşun bağlayıcı proteinler içermesinden ve metal atılımının bu doku üzerinde olmasından kaynaklandığını rapor etmişlerdir.

Çoğun ve Kargın (2008), *Cyprinus carpio* (sazan balığı)'da kurşun birikiminin diğer doku ve organlara göre en fazla miktarda absorblandığı, böbrek dokusunda ise tüm ortam derişimlerinde etkileşim süresinin uzamasıyla solungaç, karaciğer ve kas dokusunda kurşun birikimi saptanmıştır.

Kocatürk D. (2010) çalışmasında, $Pb(NO_3)_2$ 'ın 96 saatlik LC_{50} değerinin tespiti için 10 farklı konsantrasyonda (1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 ve 45 ppm) sazan balığı türünde denenmiştir. Kurşun (II) nitratin letal konsantrasyonunun %10'una 96 saat maruz kalan sazan balıklarında hematokrit (Hct) ve lökokrit (Lct) değerlerinde farklılıklar gözlenmemiş, hemoglobin (Hb) değerinde ise artış görülmüş, total proteinde ise bir farklılık gözlenmemiştir.

Şahin (2011), *Nil tilapia (Oreochromis niloticus)*'sında kas, karaciğer, solungaç ve böbrek dokularında kurşun birikimi üzerine zeolitın etkisi; $0.1 \text{ mg/l}^{-1} Pb^{2+}$, $0.1 \text{ mg/l}^{-1} Pb^{2+}$, 0.1 g/l^{-1} zeolit, $0.1 \text{ mg/l}^{-1} Pb^{2+}$, 0.2 g/l^{-1} zeolit ve $1.0 \text{ mg/l}^{-1} Pb^{2+}$, $1.0 \text{ mg/l}^{-1} Pb^{2+}$, 0.1 g/l^{-1} zeolit ve $1.0 \text{ mg/l}^{-1} Pb^{2+}$, 0.2 g/l^{-1} zeolit ortamlarına 10, 20 ve 30 gün periyotlarla balıkları bırakarak doku ve organlarında kurşun birikimini incelemiştir.

Belirtilen ortam ve sürede maruz kalan balıklarda en yüksek kurşun birikiminin böbrek dokusunda olduğunu ve bunu takiben solungaç, karaciğer ve kas dokusunun izlediğini gözlemlemiştir. Tüm deney gruplarında zeolitin böbrek ve karaciğer dokuda kurşun birikimini önemli derecede azalttığını bildirmiştir.

Çoğun ve Kargın (2011) bir çalışmalarında elde ettikleri bulgular ile *Cyprinus carpio* (sazan balığı) kurşun gibi toksik maddelerin etkisinde ve kas dokusunda iyonların regülasyonu ile osmoregülasyonun da değiştirdiğini ifade etmişlerdir.

Alak vd. (2013), Gökkuşáğı alabalıklarını 21 gün boyunca 0.18 ve 0.35 mg/L kurşun uygulamasına maruz bırakmış ve karaciğer, böbrek ve kas örneklerinde enzimatik ve histopatolojik çalışmalar yapmışlardır. Sonuç olarak antioksidan aktivitesi glutatyon proksidaz, süperoksit dismutaz ve malondialdehit seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Kötemen ve Kargın (2013)'ın yaptığı çalışmada Pb metalinin etkisine 21 gün süre ile bırakılan *Oncorhynchus mykiss* (gökkuşáğı alabalığı)'de Pb birikiminin ortamdaki metal birikiminin artışına bağılı olarak arttığı saptanmıştır (Alves *et al.* 2006). Bu araştırmada *Oncorhynchus niloticus*'un çalışılan dokularında Pb birikimi, etkide kalınan süre ve ortam derişimindeki artışa bağılı olarak artma göstermiş ve denenen tüm ortam derişimlerinde dokulardaki Pb birikimi Zn'nin varlığında azaldığı belirlenmiştir (Daka and Hawkins, 2006).

2.4 Çalışılan Biyomarkırlar

2.4.1 Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Antioksidan savunma sistemi, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Enzimatik sistem, antioksidan enzimler (AOE) olarak bilinen bir dizi enzimi içerir. Enzimatik sistem; Süperoksit dismutaz (SOD), Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), Katalaz (CAT), Glutatyon-S-Transferaz (GST) ve Glutatyon redüktaz

(GR)'dır. Enzimatik olmayan sistem ise; Vitamin E, Vitamin C, Vitamin A gibi vitamin türleri ile Flavinoidler, Melatonin, Hemoglobin, Miyoglobin, Askorbik asit, Transferrin, Laktoferrin, Albümin, Sistein, Bilirubin, Mannitol, Lipoik asit, Hemopeksin, Glutasyon (GSH), Koenzim Q, karotenoidler ve bazı eser elementlerdir (De Zwart *et al.* 1999, Deaton and Marlin 2003, Valavanidis *et al.* 2005).

Antioksidan enzimler her yerde bulunur ve katalitik yapıları bakımından yüksek oranda korunur. Bazıları çoklu formlarda bulunur. Bu kademenin ilk üyesi, $O_2^{\cdot-}$ 'yi H_2O_2 'dan ayıran süperoksit dismutazdır (SOD).

Hidrojen peroksit iki enzim ile nötrleştirilir. Bunlardan biri katalaz (CAT), diğeri glutasyon peroksidazdır (GPx). CAT ve SOD oksijen radikallerine karşı ilk savunma hattını oluşturur ve pestisid toksisitesinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu için önemli markırlar olarak kabul edilirler (Halliwell and Gutteridge 2007).

Katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GPX), glutasyon S-transferaz (GST), glutasyon redüktaz (GR) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimler, çeşitli rahatsızlıklara sebep olan serbest radikaller ile başa çıkmada büyük öneme sahiptir (Pinto *et al.* 2003, Tripathi *et al.* 2006).

Antioksidan sisteminin uyarılması, güvensiz bir ortamın üstesinden gelmek ve toksisiteyi önlemek için organizmaların bir adaptasyonu olarak kabul edilebilir. Enzim aktivitelerindeki bir eksiklik, çevresel strese daha yüksek duyarlılık ile karakterize olan güvensiz bir durum olduğunu ve olası olumsuz etkilerin beklenebileceğini göstermektedir (Barata *et al.* 2005, Atlı and Canlı 2010).

Ağır metaller gibi birçok kimyasal kirletici oksidatif strese neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesine olanak sağlamaktadır (Stohs and Bagchi 1995). Organizmalar, hücrel bileşenlerde oksidatif hasarı en aza indirmek için, antioksidan savunmalar geliştirmiş olup; enzimatik ya da enzimatik olmayan antioksidanlar ile artan ROS üretimine uyum sağlayabilmektedir (Livingstone 2003).

Aşırı ROS üretimi sonucu oluşan antioksidan savunma mekanizmasının yetersizliği, önemli enzim inaktivasyonunu da içeren oksidatif hasarlara, protein bozulmalarına, DNA hasarlarına ve lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedir (Halliwell and Gutteridge 1999).

Kurşun (Pb), civa (Hg) ve kadmiyum (Cd) gibi toksik etkili metallerin hücre içi derişimlerdeki artış ROS oluşumunu artırırken, SOD aktivitesinde inhibisyona neden olmaktadır. SOD aktivitesi sonucu derişimi artan hidrojen peroksit, CAT ve GSH-Px enzimlerinin aktivasyonu ile su ve oksijene dönüştürülerek etkisiz hale getirilir (Diguiseppi and Fridovich 1984, Regoli and Principato 1995).

Antioksidan sistemler metal iyonları tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı biyolojik savunmada önemli rol oynamaktadır (Lopes *et al.* 2001). Oksidatif stres biyomarkırları özellikle de antioksidan enzimler, sulardaki kirliliğin indikatörleri olarak kullanılmaktadır (Pandey *et al.* 2003).

Ekotoksikolojik çalışmalarda antioksidan enzim aktivitesi ölçümleri markır olarak önemi giderek artmaktadır (Lopes *et al.* 2001). Biyomarkırlar hem çevre kalitesini hem de organizmanın ortamına uyumunu gösterirler (Cajaraville *et al.* 2000). Bu enzimler hemen hemen tüm omurgalıların dokularında bulunur; fakat genelde en yüksek aktivitelerini reaktif oksijen türlerinin enzimatik dönüşümleri için karaciğerde gösterirler. Enzimlerden bazıları oksidatif stresin belirgin biyoindikatörleri olup metal ve diğer ksenobiyotikler gibi kirleticilerin etkisindeki popülasyonlarda olumsuz durumlara tepki düzeyini gösterirler.

SOD, GPx, CAT ve GST gibi enzimleri içeren antioksidan sistem farklı hücresel kompartmanlarda yer alırlar (Lemaire *et al.* 1994). Kirleticilerin ekosistemdeki ekolojik etkilerini yeterli düzeyde değerlendirmek için geniş bir tür ve popülasyon yelpazesinde biyolojik izleme gereklidir (Preza and Smith 2001).

Su keneleri ile yapılan bu çalışma, böcekler, yumuşakçalar ve diğer omurgasız grupları

ile karşılaştırıldığında, toksisite testlerinde su kenelerinin kullanımıyla ilgili olarak yeni veriler değerlendirilecektir.

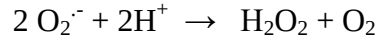
2.4.2 Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzimi

SOD enzimi, ilk olarak 1968 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanıtılan enzimdir. Toksik ve reaktif olan süperoksit anyon radikalının (O_2^-) ondan daha az reaktif olan hidrojen peroksit (H_2O_2) indirgenmesini katalize eder. Hidrojen iyonu kullanır ve oksijen üretir.

Aktif merkezlerinde bulunan geçiş metalinin tipine göre SOD'lar 3 şekilde sınıflandırılabilir. Bunlar; bakır/çinko (Cu/Zn) SOD, mangan (Mn) SOD ve demir (Fe) SOD'dur. Cu/Zn SOD öncelikle ökaryotların sitozolünde, kloroplastlarda ve bazı bakteri türlerinde bulunur, Mn-SOD ökaryotlar ve prokaryotların mitokondrisinde ve Fe-SOD da prokaryotlarda bulunur. Genellikle hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dur (Mruk *et al.* 2002).

SOD ile enzimatik dismutasyonun hız sabiti pH 7.4'de $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1}/\text{sn}^{-1}$ 'dir. Bu da kendiliğinden dismutasyondan 104 kez daha hızlı bir dismutasyon sağlar. Kendiliğinden dismutasyon pH 5.0'da en fazla iken, pH 9.0'da en azdır. Oysa SOD'nin katalizlediği reaksiyon pH 7.8'de ve O_2^- 'nin sabit durum konsantrasyonunda yürür. Bu da reaksiyonun fizyolojik şartlarda O_2^- 'nin hızlı bir şekilde dismutasyona uğramasını sağlar (Ahmad 1995).

Süperoksit dismutaz enzimi, süperoksidin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Bütün canlılardaki süperoksit dismutaz enzimleri, kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre sınıflandırılırlar (Fridovich 1995). SOD enzimi iki tane O_2^- radikalının reaksiyonunu katalizlemekte ve sonuçta ürün olarak H_2O_2 ve H_2O oluşmaktadır.



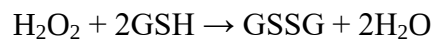
Yakın zamana kadar, ökaryotik organizmalarda önemli antioksidan enzim aileleri süperoksit dismutazlar (SOD), glutatyon peroksidazlar (GPXs) ve katalaz (CAT) olduğu kabul edilmiştir (Southorn and Powis 1988, Sies 1993).

Yapılan çalışmalar sonucunda, Pb^{2+} 'un yüksek konsantrasyonlarda, SOD enzimi aktivitesi için gerekli olan Cu, Fe ve Mn ağır metallerinin yerine geçebildiği (Sharma and Dubey 2005) veya bu metallerin alınımını engellediği bildirildi (Walker *et al.* 1977, Haussling *et al.* 1988).

2.4.3 Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Enzimi

Glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) sitozolde bulunur. Diğer antioksidan enzimlerle birlikte GSH-Px, oksijen tüketiminin hızla arttığı sırada serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır (Bayır 2005, Esenbuğa 2013, Erdoğan 2015).

1921 yılında Hopkins tarafından keşfedilen Glutatyon (γ -glutamilsisteinilglisin: GSH), GSH'nin hemen hemen tüm organizmalarda mevcut olduğu ve oksidatif olayların önlenmesi ve hücre içi protein tiyol gruplarının korunması olmak üzere birçok biyokimyasal reaksiyonda bir indirgeyici görevi gördüğü bilinmektedir. GSH-Px, doku metabolizması sırasında oluşan peroksitlerin, hücre içi metabolitlerinin zararlı etkilerinin önlenmesinde önemli bir rol oynar.

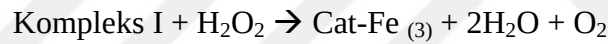
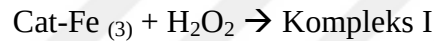
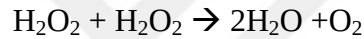


Glutatyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak glutatyonu kullanan hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan enzimdir. Mitokondride, sitozolde ve hücre membranlarında bulunur. Glutatyon peroksidaz enziminin molekül ağırlığı yaklaşık 85000 D.'dur. Tetramerik, 4 selenyum atomu içeren sitozolik bir

enzimdir (Deaton and Marlin 2003).

2.4.4 Katalaz (CAT) enzimi

Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde Katalaz (CAT) enzimi bulunur. CAT, birbirinin aynısı dört alt ünitelerden oluşan yaklaşık 240 kDa ağırlığında tetramerik bir moleküldür. Aktif enzim H_2O_2 ara bileşiği ilk olarak oluşmaktadır ve Kompleks I adını alır. Kompleks I ve H_2O_2 molekülü arasındaki reaksiyon oldukça hızlı yürüyüp denge sabiti 10^7 litre/ mol⁻¹ s⁻¹ dir.



CAT, başlıca peroksizomlarda (hücrelerde hidrojen peroksitleri parçalayan organ) bulunur ve peroksizomlarda uzun zincirli yağ asitlerinin metabolizmasında üretilen H_2O_2 'nin azaltılması için glutatyon peroksidazla birlikte sorumludur. CAT aktivitesindeki azalma enzim aktivitesini inhibe ettiği için belirlenen süperoksit anyon radikalinin Propiconazole (PPC) etkisinde artan üretimiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Hücreler CAT aktivitesindeki azalan aktiviteye bağlı olarak daha savunmasız duruma dönüşebilmektedirler (Ballesteros *et al.* 2009). Balıklarda, amfibilerde ve memelilerde karaciğer, böbrek, kalp ve beyinde azdan çoğa doğru aktivite dağılımı gösterip hiçbir ekstraselüler sıvıda bulunmaz (Ahmad 1995).

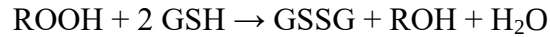
Peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Hidroksil radikali oluşumunu hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalayarak engeller (Valko *et al.* 2007). Katalazlar, hidrojen peroksitin moleküler oksijen ve suya

ayrışmasını katalize eder (Deisseroth and Dounce 1970).

2.4.5 Glutasyon S-Transferaz (GST)

Glutasyon-S-transferaz (GST) reaktif oksijen metabolizmasına karşı hücrelerin korunmasından sorumlu olan antioksidan enzimdir. Çoğu ksenobiyotiğin toksisitesi GST indüksiyonu ile belirlenebilir. GST, redükte glutasyon (GSH) ile elektrofilik bileşiklerin konjugasyonunu katalizleyen sitozolik bir enzimdir. Bu enzimin oksidatif hasara, DNA'nın ve lipidlerin peroksidatif ürünlerine karşı savunmada da kritik bir rolü vardır (Van der Oost 2003).

Glutasyon S-transferaz antioksidan bir enzim ailesi olup indirgenmiş glutasyon konjugasyonunu sağlar. Bu reaksiyon sonunda aktif olmayan, suda çözünebilen daha az zararlı ürünler ortaya çıkar (Dat *et al.* 2000).



GST aktivitesi bitkilerde, böceklerde, mayalarda, bakterilerde ve karaciğerde olmak üzere çoğu memeli dokularında bulunduğu ve detoksifikasyonda anahtar rol oynadığı bilinmektedir (Lo *et al.* 2007).

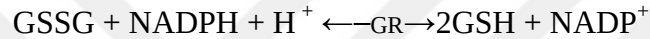
GST'ler, GSH molekülleri ile eşlenerek zararlı organik bileşikleri detoksifiye eden ve çeşitli endojen fonksiyonlarda da rol oynayan çok yaygın bulunan ve her yerde görülen dimerik enzimler ailesidir. Ek olarak GST, lipid peroksidasyonunu veya hidroperoksit ürünlerini hücrelerden uzaklaştırır (Dubovskiy *et al.* 2008, Meng *et al.* 2009).

Toplam antioksidan kapasite (TEAC), bir organizmada bulunan tüm antioksidanların oksidasyonuna karşı koyma kabiliyetinin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Bu enzim, hücre membranlarını, lipid peroksidasyonundan kaynaklanan hasarlardan korur

(Ghiselli *et al.* 2000).

2.4.6 Glutasyon redüktaz (GR) enzimi

Glutasyon redüktaz (GR) enzimi ilk defa 1951’de tanımlanmıştır. Bu enzim düşük veya yüksek molekül ağırlıklı disülfür substratları ile indirgenmiş piridin nükleotidleri arasında elektron transferini katalizler.



Glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği reaksiyonun bilinen en önemli hedeflerinden biri hücre ortamındaki GSH/GSSG oranını korumaktır. Bu oran eritrosit hücrelerinde yaklaşık 1/500’dir. Bu oranın daha düşük olduğu zaman eritrosit hücreleri hemoliz olmaktadır (Keha ve Küfrelioğlu 2000).

Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipid peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatyona dönüşür. GR okside glutasyonu tekrar kullanılmak üzere redükte glutatyona dönüştüren enzimdir. Koenzim olarak NADPH’ı kullanır. Glutasyon redüktaz (GR) hücre içi glutasyon (GSH) seviyelerini korunmasına yardımcı olarak hücre içinde oksidatif hasarın önlenmesi açısından dolayı ama önemli bir rol oynamaktadır (Meister, 1994).

Bir flavoprotein olan GR hidrojen donör olarak β -nikotinamid dinükleotid fosfat (NADPH) kullanarak okside glutasyonu (GSSG) indirgenmiş glutatyona (GSH) katalizler (Massey ve Willams, 1965). Böylelikle güçlü antioksidan etkisine sahip glutasyon muhafaza edilir (Kasnak ve Palamutoğlu 2015). Glutasyon redüktaz, organizmalann hücrelerinde okside glutasyonu redükte glutatyona dönüştürmeden sorumlu bütün dokularda bulunan bir flavoproteindir.

2.4.7 Total Protein

Toplam serum proteini dolaşımdaki tüm proteinlerin toplamıdır ve kanın başlıca bileşenlerinden birini meydana getirir. Toplam protein ölçümleri, karaciğer, böbrek veya kemik iliği ve bunların yanında diğer metabolik bozukluklar, beslenme bozuklukları gibi çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılır (Singh and Reddy 1990).

Plazmada bulunan proteinlerin hepsine birden total protein denir. Klinik olarak farklı hastalıklarını teşhis ve prognozunda önemli bir biyokimyasal parametre olan serum protein miktarları, genellikle beslenme durumunu değerlendirmede, protein metabolizması bozukluklarında, karaciğer, böbrek ve kemik iliği ile ilgili ciddi patolojilerin tanısında önemlidir (Mert 1996).

2.5 Ağır Metal Uygulaması Sonucu Yapılan Enzim Çalışmaları

Bitkiler ile yapılan çalışmalarda, öldürücü olmayan fakat zarar veren dozlardaki ağır metal alınınının, bitkinin türüne ve gelişim sürecine, metalin çeşidine, konsantrasyonuna ve metale maruz kalma süresine bağlı olarak, her metale özgün belirli bir konsantrasyon aralığında antioksidan savunma sistemini teşvik ettiği ve bu sistem içerisindeki enzimlerin aktivitelerinde artışa neden olduğu yapılan araştırmalarla belirlendi (Hegedüs *et al.* 2001, Landberg and Greger 2002, Mascher *et al.* 2002, Schützendübel *et al.* 2002, Tewari *et al.* 2002, Verma and Dubey 2003, Zacchini *et al.* 2003, Qadir *et al.* 2004, Fatima and Ahmad 2005, Sharma *et al.* 2005, Ayhan vd. 2006).

Farklı bitkiler ile yapılan çalışmalarda; Pb ve Cd stresinin, SOD, APX, GR ve POD enzim aktivitelerinde önemli artışlara neden olduğu belirtildi (Baisak *et al.* 1994, Shaw 1995, Shah *et al.* 2001, Sharma and Dubey 2004, Reddy *et al.* 2005).

Fitzgerald (1992)'a göre, yoğun ışıklı ortamlarda yaşayan türler, ultraviyole ışınlarına karşı koruma olarak yüksek SOD aktivitesi göstermiştir. Bazı çalışmalarda ise antioksidan enzimler ve metabolik yoğunluk arasında pozitif bir ilişki göstermiştir

(Cassini *et al.* 1993).

Doyotte vd. (1997), doku ve organlardaki antioksidan enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyonu, ortamda bulunan metale bağılı olarak değişim gösterir. *Perna perna* midyesinde sindirim bezinde belirli sürelerde Cd ve Cu metallerinin ayrı ayrı uygulanmasından sonra MDA düzeylerinde ve CAT aktivitesinde artış, GSH-Px aktivitelerinde ise azalma olduğu aktivitesinde değişiklik gözlenmemiştir.

Bir başka çalışmada ise balıklarda hipoksiye karşı en sık gözlenen yanıt, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan savunmalarıdır. Bu süreç “oksidatif strese hazırlık” olarak adlandırılmıştır (Hermes-Lima *et al.* 2001).

Karaciğer dokusu ağır metal birikiminde büyük öneme sahiptir (Olsvik *et al.* 2001). Bazı çalışmalarda ağır metallerin metabolik aktivitesi yüksek olan organ ve dokularda total protein derişimini arttırdığı rapor edilmiştir (D’Souza *et al.* 2003, Chan and Cherian 1992).

Moreira vd. (2001)’de yapmış oldukları çalışmada, gebelik ve laktasyon döneminde Wistar sıçanlarına 500 ppm kurşun asetat uygulamışlar, sıçanların 23 günlük iken süten kesildiğini ve 70 günlük yavruların hipotalamus, hipokampus ve striatum’larında SOD, GSH-Px ve GR enzim aktivitelerini ve kurşun seviyelerini çalışmışlardır. Araştırmacılar sonuç olarak azalan antioksidan ile oksidatif stresin ortaya çıktığı sonucuna ulaşmışlardır.

Patra vd. (2001), kurşuna maruz kalan sıçanların böbrek, beyin ve karaciğer dokularında askorbik asit (vitamin C), α -tokoferol (vitamin E) ve L-metiyonin gibi antioksidanların oksidatif stres parametreleri üzerine tesirlerini ve kurşun seviyelerini araştırmışlardır. Sonuç olarak araştırmacılar lipit peroksit (LPO) seviyelerini azaltarak kurşun ile indüklenen oksidatif stresi tersine çevirerek antioksidan etkilerini gösterdiğini sonucuna varmışlardır.

Flora vd. (2003) araştırmalarında, kurşuna maruz kalan sıçanların böbrek, beyin, kan ve karaciğer dokularında SOD, CAT, GSH-Px, ALAD, total GSH gibi oksidatif

parametrelerde kurşun seviyelerindeki değişiklikleri kaydetmişlerdir. Çalışmanın sonucunda araştırmacılar C vitamininin, E vitaminine göre oksidatif stresi daha etkili bir şekilde azalttığını, dokulardaki kurşun seviyelerinin daha etkili bir şekilde azaldığını rapor etmişlerdir.

El-Sokkary vd. (2005), kurşun metale maruz bırakılan sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında SOD, total protein, GSH, lipid peroksidasyon (LPO) ürünlerini ve histolojik parametreleri kullanarak melatoninin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Melatonin uygulaması sonucunda lipid peroksidasyonunun azaldığı, SOD aktivitesi ve GSH seviyelerinin düzeldiği ve dokulardaki morfolojik hasarın azalarak kontrol grubuna benzediği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir.

Saliu vd. (2012)'de kurşun ve çinkonun Juvenil *Clarias gariepinus* (karabalık) balığında antioksidan enzim aktiviteleri üzerine toksikolojik etkilerini incelemişler ve $Pb(NO_3)_2$ 'ye maruz kalan balıklarda, GST, GSH, SOD, CAT ve MDA kontrollere kıyasla azaldığını görmüşlerdir.

Akkuş (2016)'da tez çalışmasında, Kepez (Çanakkale) bölgesindeki ağır metal kirliliğinin *M. galloprovincialis* türü midyelerin solungaç, hepatopankreas ve kas dokularındaki SOD, CAT, LPO ve TP düzeylerini mevsimlere ve dokulara göre nasıl değiştirdiği araştırılmıştır. Farklı dokulardaki antioksidan enzim aktiviteleri kirlilik düzeyiyle ve mevsimlerin etkisiyle değiştiğini ifade etmiştir.

Ağır metal uygulaması sonucunda antioksidan enzim aktiviteleri hakkında yapılan çalışmalara bakıldığında omurgalı hayvanlarda birçok çalışma olduğunu fakat omurgasızlar şubesinde ise çalışmaların Acari grubunda bu konu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmadığı gözlemlendi.

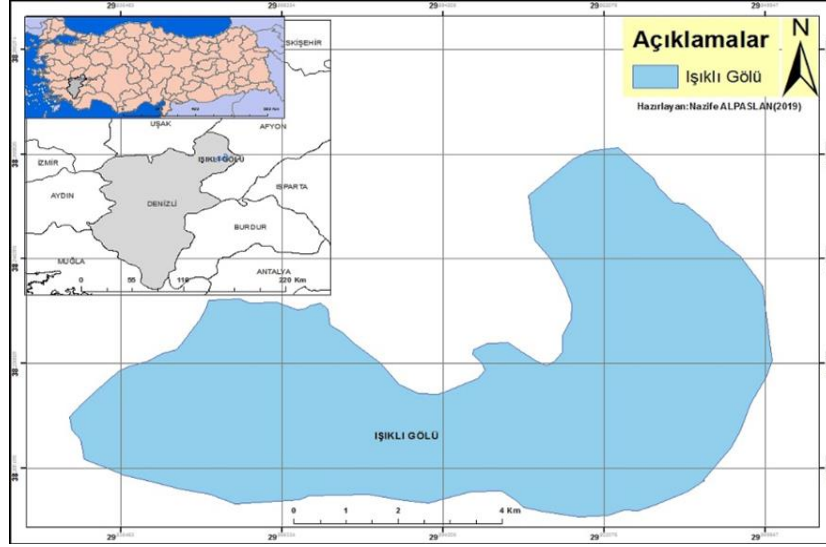
3. MATERYAL ve METOT

3.1 Cihazlar ve Diğer Gereçler

- Benmari (Mettler WB14),
- Homojenizatör (Janke and Kunkel IKA-WERK RW 14 H),
- pH metre (Mettler Toledo MP 220),
- Soğutmalı Santrifüj (Awel MF 20-R),
- Ultraviyole UV (Shimadzu UV-1700 Pharma),
- Vorteks (IKA-RH),
- Stereo mikroskop (Nikon SMZ445),
- Etüv (FN 300/400/500 Kuru Hava Sterilizatörü / Fırın)
- Mikroplaka okuyucu ELİSA (Multiskan TM FC Mikrolevha Fotometresi),
- Analitik Teraziler ‘Dâhili Kalibrasyon’ (SHIMADZU ATX-224),
- Pipetler (otomatik) (Ependorph 1000µL, 250 µL, 500 µL ve Gilson 100µL).

3.2 Çalışma Alanı ve Örneklerin Toplanması

Işıklı Gölü konumu itibarı ile Büyük Menderes Nehri’ni besleyen kaynakların birleşim yerinde ve Akdağ’ın güneyinde yer alan maksimum 7 metre derinliğindeki Akçay, Işıklı Kaynakları, yeraltı suyu ve Büyük Menderes’in yukarı havzasındaki iki büyük kolu tarafından beslenmektedir (Resim 3.1). Işıklı Gölü, Çivril-Dinar tektonik çöküntü havzasında bulunan bir bataklık alanıdır (Lahn 1948).



Resim 3.1 Çalışma alanı: Işıklı Gölü haritası.

Yağışların bol olduğu zamanlarda göl genişliği arttığı için göl baraj gölü olarak adlandırılır (Yarar and Magnin 1997). Işıklı Gölü günümüzde, çevredeki ovalarda yapılan tarım için su depolanan bir rezervuar olarak kullanılmaktadır.

Gölün yüzey alanının yapısı çok değişkendir. Bunun nedeni, göl havzasının yapısından kaynaklanmaktadır. Sulama amaçlı göl olduğu için, sulamanın yapıldığı aylarda su yüksekliği düşmekte, buna paralel olarak yüzey alanı da azalmaktadır (Resim 3.2). Sucul bitkilerin nispeten daha az olduğu kısım Büyük Menderes'in bulunduğu göl yatağıdır. Özellikle Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında göl yüzey alanının yaklaşık % 60- 70'ini sucul bitkiler kaplamaktadır (Boyacı ve Özkan 2003).



Resim 3.2 Işıklı Gölü çalışma alanından genel görünüm.

Işıklı Gölü’nde yapılan çalışmalar; Çivril-Denizli Bentik Faunası (Balık vd. 2000), Işıklı Gölü (Çivril-Denizli) Crustacea Faunası Üzerine Araştırmalar (Aygen ve Balık 2005), Işıklı Gölü (Çivril-Denizli)’nün Mollusca Faunası (Ustaoğlu vd. 2001)’dır (Akbaba 2015). Işıklı Gölü’nde bentik fauna ile çok az çalışma mevcuttur. Araştırmamız bu gölün faunası ve kirlilik durumu hakkında bilgi sağlayacaktır.

Çalışmanın ana materyalini, Acari sınıfından *Eylais setosa* (Acari, Hydrachnidia) türü oluşturmaktadır. Örnekler Işıklı Gölü’nden, tülден yapılmış akvaryum kepçeleri, damlalık ve gözenek çapları 500 ile 3000 mikron arasında değişen elekler kullanılarak toplandı (Resim 3.3).



Resim 3.3 Çalışma alanından örneklerin toplanması.

Çivril-Işıklı Gölü’ndeki sazlıklardan doğal yaşama alanlarının sık olduğu bölgelerden periyodik olarak örnekleme yapıldı. Çalışma ortamından alınan *Eylais setosa* örnekleri laboratuvara getirilerek içerisinde bir miktar su bulunan beyaz zeminli küvetlere konuldu (Boyacı ve Özkan 2003) (Resim 3.4). Steromikroskop altında, tür tanımları yapıldı. Türleri tanımlanan her bir su kenesi örneği bu çalışmada kullanılmak için etiket bilgileri yazılıp akvaryumlara alındı.



Resim 3.4 Çalışma alanından su kenelerinin ayıklanması.

3.3 Analizlerde Kullanılan Ana Materyal

Laboratuvara getirilen *Eylais setosa* sistematığı;

Sistematik

Şube	: Antropoda
Alt Şube	: Chelicerata
Sınıf:	: Arachnida
Alt sınıf	: Acari
Familya	: Hydrachnidia
Cins	: <i>Eylais</i>
Tür	: <i>Eylais setosa</i> (Koenike 1897)

Işıklı Gölü'nde belirlenen noktalardan toplanan su kenesi örnekleri ağır metal birikimlerini tespit etmek amacıyla laboratuvar ortamına getirildi. Farklı noktalardan alınan su kenelerinin vücut dokularında kurşun birikimine karşı enzim düzeylerindeki farklılıkların tespit edilmesi amaçlandı. Laboratuvara getirilen su kenesi örnekleri sistematığı ve genel özellikleri belirtildi (Resim 3.5).



Resim 3.5 *Eylais setosa* dorsal ve ventral görünüm. (Nikon SMZ445 marka mikroskop ile çekilmiştir).

Eylais setosa'nın Türkiye'den tespit edilen vücut büyüklükleri 1250/2760 µm arasındadır. Deri yüzeyi parmak izi gibi çizgilidir bu çizgilerin arası noktalıdır. Göz kapsülleri böbrek biçimde ve birbirine paraleldir, merceklerin bulunduğu kısımlar saydam ve düz, diğer bölgeler çukurluk şeklindedir.

Türkiye'de tespit edilen örneklerin gözler arası uzaklığı 30/48 µm arasındadır. Bacaklarda çok sayıda uzun kıl vardır. Eşeyssel açıklığı birinci grup epimerler arasındadır ve çevresi kıllarla kaplıdır (Uysal 2005). Dış yüzeyinde salgı bezi açıklıkları ve çıkıntılar mevcuttur (Erman 1990, Boyacı 1995, Aşçı 2002).

3.4 Yöntem

3.4.1 Suda Ağır Metal Analizleri

Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında Denizli-Işıklı Gölü'nden belirlenen noktalardan birer kez olmak üzere toplamda 3 kez su örnekleri alınarak laboratuvar ortamına getirildi. Alınan su örnekleri filtre kâğıdı yardımıyla süzüldü. Her ay getirilen su örnekleri laboratuvar ortamında hazırlanan 4 adet akvaryuma konuldu. Ortam 35×35×37 cm boyutlarında 4 adet cam akvaryum içerisine 5 litre göl suyu katılarak 22°C'de hazırlandı. Bu akvaryumlardan biri kontrol grubunu, diğer üçü Durum 1 grubu için ayrılan akvaryuma 1×10^{-5} M $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ilave edildi. Durum 2'yi oluşturan akvaryuma 1×10^{-4} M $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, Durum 3'ü oluşturan çalışma grubuna ise 1×10^{-3} M $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ilavesi yapıldı (Resim 3.6). Oluşturulan bu akvaryumlara, su örnekleri ile su keneleri ilave edildi. Gözlemdeki amaç, su kenelerinin göl suyundaki Pb^{2+} absorblama miktarlarını belirlemektir.

Oluşturulan gruplara daha önceden morfolojik özellikleri yakın ve benzer olacak şekilde ayrılan *Eylais setosa*, ağırlıkları 0.05-0.08 g aralıkta olacak şekilde akvaryumlara eklendi. Kontrol grubunda su kenelerinin Pb^{2+} absorblamasını gözlemlemek amacıyla 20 adet tür konuldu ve su kenelerinin 5'i 0. gün diğer 5 tanesi 7. gün sonunda alınarak +4 C'de saklandı. Durum 1, Durum 2 ve Durum 3'teki akvaryumlara ise 15'er adet su kenesi örneği konuldu.

Sudaki kurşun oranının değişimini belirlemek amacıyla 7. günün sonunda tüm gruplardan 7 mL su örneği alındı. 3mL nitrik asit ilave edilen su örneklerine ICP-MS'te kurşun miktarı tayini için hazır hale getirildi (Núñez- Noguiera 2013). Su Örnekleri +4 °C'de analiz aşamasına kadar muhafaza edildi. Örneklerin hazırlığı tamamlandıktan sonra ICP-MS (Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometer) ile NMLK (1996) ve AOAC (2015) referans metodları kullanılarak analizleri yapıldı. Kalibrasyon eğrisi standart argon (Ar) ana stok çözeltisinden kurşun (Pb^{2+}) ağır metali için 80-100 ppb (6-7 kg/cm²) konsantrasyonu hazırlanarak çizildi.

3.4.2 *Eylais setosa*'da Ağır Metal Analizleri

Işıklı Gölü'nden tür sayısı yoğun olarak bulunan, besin zincirinin önemli bir halkasını oluşturan su keneleri Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında önceden seçilen belirli noktalardan toplandı. Canlılar ortamlarından el kepçesi yardımıyla alındı. Denemeler 3 ay boyunca düzenli serilerde yürütüldü ve her seride 35×35×37 cm boyutlarında 4 adet cam akvaryum içerisine konuldu. Doğal ortamlarından getirilen 5 litre göl suyu 22°C sıcaklık hazırlanarak doğal şartları sağlandı (Resim 3.6).

Laboratuvar ortamına getirilen *Eylais setosa*, hassas terazide yaş ağırlıkları ölçülüp 0.05-0.08 gr ağırlıkları not edildi. Daha önceden hazırlanan kontrol ve durum 1, 2 ve 3 grupları için ayrılan akvaryumlara konuldu. Gözlem için oluşturulan Durum 1 grubu için ayrılan akvaryuma 1×10^{-5} M $Pb(NO_3)_2$ ilave edildi. Durum 2'yi oluşturan akvaryuma 1×10^{-4} M $Pb(NO_3)_2$, Durum 3'ü oluşturan çalışma grubuna ise 1×10^{-3} M $Pb(NO_3)_2$ ilavesi yapıldı. Sırasıyla Durum 1, 2 ve 3'deki derişimler; 0.01656 gram, 0.1656 gram ve 1.656 gram olarak hesaplandı. Kontrol grubuna ise $Pb(NO_3)_2$ ilave edilmedi (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Deneme gruplarında kullanılan kurşun derişimleri ve ağırlıkları.

METAL DERİŞİMİ (Pb^{2+})	AĞIRLIK (g)
Pb Kontrol	-
$Pb^{2+} 1 \times 10^{-5}$ M	0.01656
$Pb^{2+} 1 \times 10^{-4}$ M	0.1656

Kontrol grubu için ayrılan 20 adet *Eylais setosa* türlerinden, Pb^{2+} absorblanmasını gözlemlemek amacıyla 5 tanesi 0. günde alınıp, diğer 5'i 7. günün sonunda alınarak +4 C'de saklandı. Durum 1, Durum 2 ve Durum 3'teki akvaryumlara ise 15'er adet su kenesi örneği konuldu. Durum gruplarındaki su keneleri 7. günün sonunda 5'er su tanesi alınarak gözlem süresince ağır metal birikimi tespiti için ayrıldı. Akvaryumlarda kalan türler daha sonra enzim analizlerinde kullanıldı.

Her bir akvaryumdaki canlı örneklerin morfolojik ve fizyolojik hareketleri çalışma süresince gözlemlendi. Planlanan çalışmada $Pb(NO_3)_2$ yüklemeleri su kenesi türlerinin absorblayabileceği en üst değere kadar götürüldü.



Resim 3.6 Kontrol grubu, Durum 1, Durum 2 ve Durum 3 akvaryumları.

Ortalama olarak 0.05-0.08 gram yaş doku örnekleri alınıp 48 saat boyunca 80°C'de etüvde kurutulmaya bırakıldı (Resim 3.7). Kurutulan dokuların ağırlıkları tartılarak net kuru ağırlıkları tespit edildi. Doku örnekleri krozelere alınıp, 3mL nitrik asit (HNO_3) ilave edilerek 30 dakika süresince 100°C'de hot-plate üzerinde çeker ocak altında yakma yapıldı (Núñez-Nogueira 2013). Örnekler homojen bir şekilde yakıldıktan ve soğutulduktan sonra saf su ile 10 mL ye tamamlandı (Hoyle *et al.* 2007).



Resim 3.7 ICP-MS öncesi etüvde kurutma işlemi.

Dokulardaki metal ölçümleri ICP-MS cihazında gerçekleştirildi. Hazırlanan bu çözelti, ICP- MS ölçümleri öncesinde yapılacak kalibrasyon işlemi için standart çözeltiler hazır hale getirildi. Doku sonuçları referans materyaline göre düzenlendi.

3.5 Antioksidan Enzim Düzeylerinin Ölçümü

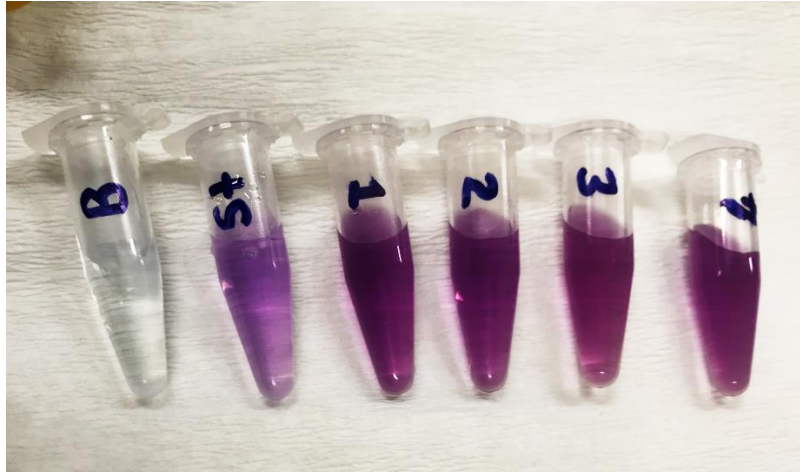
Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında Işıklı Gölü’nden belirli noktalardan alınan *Eylais setosa* ’nın, toplamda 3 kez getirilen su örnekleri alınarak laboratuvar ortamına getirildi. Oluşturulan kontrol grubu ve diğer durumlarda (Durum 1, Durum 2 ve Durum 3) ağır metal maruziyeti sonucu birikim analizi yapıldı. Kalan akvaryumlardaki su kenelerinin kurşun maruziyeti sonucu enzim ve total protein düzeylerini tespit etmek için BioAssay Technology marka kitler kullanılarak enzim aktivitesi tayini yapıldı.

Örneklerin analize hazırlanması için öncelikle 0.3-0.5 mL, 0.1 M, pH 7.4 Phosphate Buffered Saline (PBS) çözelitisi hazırlandı. % 10’luk doku homojenatı hazırlamak için fosfat tamponu (PBS) 1:9 oranında buzlu su altında mekanik bir homojenizatör kullanılarak homojenat elde edildi. Doku homojenatı 4°C’de 15 dakika 14.000 g’de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar buz içerisinde 0-4° C’de muhafaza edildi.

Enzim aktiviteleri Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında alınan örneklerden taze hazırlanan süpernatantlar ile total proteinlerine, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz ve glutatyon redüktaz enzimlerinin aktivite ölçümleri yapıldı. Ölçümlerdeki sonuçlar ve aktivite tayini Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında farklılık gösterdi. Sonuç olarak 3 tekrarlı enzim sonuçlarını mevsim şartlarına, su sıcaklığına ve su kenelerinin nimften erginliğe geçiş dönem şartlarına göre yorumlandı. Durumlar kontrol grupları ile durumların tümü kendi aralarındaki farklılıkları yorumlandı.

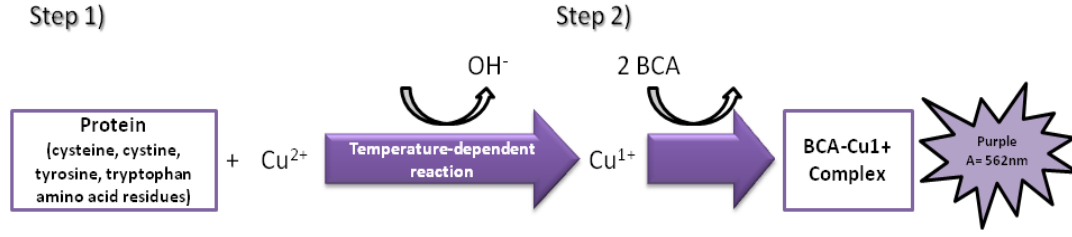
3.5.1 Total Protein (TP) Ölçümü

Bikinkoninik Asit (BCA) Yöntemi: Bu yöntem Smith (1985) tarafından bulunmuştur ve yeni bir yöntemdir. Lowry yöntemine göre farklı bir uygulamadır. Yine iki reaksiyonu vardır. Birinci reaksiyonda biüret reaksiyonudur. Cu^{+2} iyonları peptid azotlarına bağlanır ve Cu^{+1} iyonunu indirgenirler. İkinci reaksiyonda ise bu indirgenmiş Cu^{+1} iyonları BCA ile renkli bir kompleks oluştururlar ve bu rengin şiddeti protein yoğunluğu ile orantılıdır. Oluşan bu renk kompleksi 562 nm'de maksimum absorbanans gösterir (Resim 3.8).



Resim 3.8 Total protein aktivite tayini.

Yöntemin duyarlılığı Lowry yöntemininkine yakındır ancak mikro ölçüm işlemi ile bu duyarlılık çok daha fazla arttırılabilir. İndergen şekerler ve EDTA gibi Cu^{+2} şelatlayıcı maddeler ölçüm sonuçlarına etki edebilir. Total protein sonuçları, BioAssay Technology marka kiti spektrofotometre cihazında 562 nm'de absorbanansı okundu.



Şekil 3.1 Bikinkoninik Asit (BCA) reaksiyon şekli (<http://microamaze.blogspot.com>)

Hesaplama aşağıda belirtilmiştir:

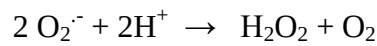
$$C_{\text{protein}} = \frac{OD_{\text{sample}} - OD_{\text{blank}}}{OD_{\text{standart}} - OD_{\text{blank}}} \times C_{\text{standart}} 563 \mu\text{g/mL} \times \text{Dilution factor}$$

$\mu\text{g/mL}$

Not: 563 $\mu\text{g/mL}$ protein standart çözeltisi.

3.5.2 Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi Tayini

Süperoksit dismutaz (SOD) oksidasyon-antioksidasyon dengesinde önemli bir rol oynar. Organizmalar, bu enzimi oluşabilecek hasarlardan uzak tutmak için süperoksit anyon radikallerini ($\text{O}_2^{\cdot-}$) kaldırır.

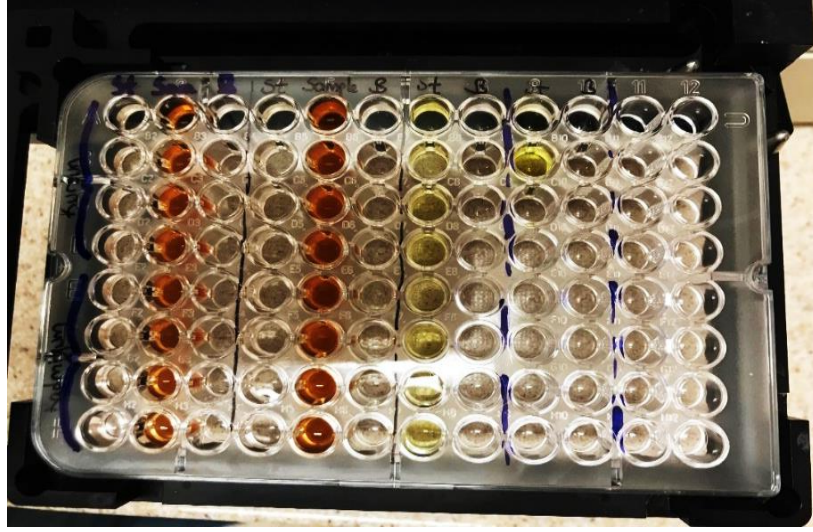


SOD aktivite ünitesi (U) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{SOD inhibisyon oranı (\%)} = \frac{(A_{\text{contrast}} - A_{\text{contrast blank}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}})}{(A_{\text{contrast}} - A_{\text{contrast blank}})} \times 100\%$$

$$\text{SOD aktivitesi (u/mgprot)} = \frac{\text{SOD} \div 50\% \times \text{Reaksiyon (0.24 mL)}}{\text{inhibisyon dilute multi. (0.02 mL)} \times \text{Örnekteki Protein konsant. (mgprot/mL)}}$$

oranı



Resim 3.9 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite tayini.

SOD enzim aktivite tayini için BioAssay Technology marka kiti kullanılmıştır. Küvetlere homojenat ve enzim bileşimi uygulanarak mikropılaka yöntemi ile 450 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır (Resim 3.9). Hesaplamalar yapıldıktan sonra aktivite U/mg protein olarak verilmiştir.

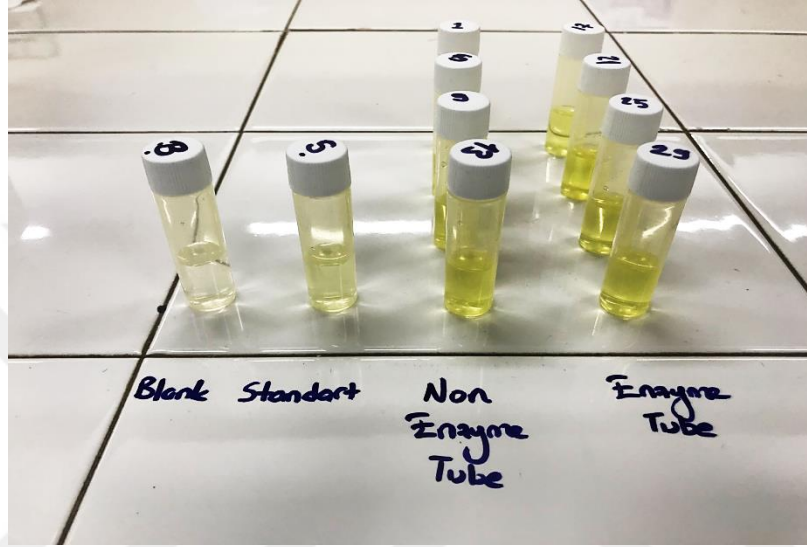
3.5.3 Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Enzim Aktivitesi Tayini

Glutasyon peroksidaz hücrel aktivite tayini kiti, doku ekstratlarında glutasyon peroksidazı ölçmek için kullanılır. Deney, glutasyonun (GSH) okside olmuş glutasyonun (GSSG) oksidasyonuna dayanır. Bu, GSSG'nin geri dönüşümüne bağlanan GPx, glutasyon redüktaz ve NADPH'yi kullanarak Glutasyona katalize eder.

Bu metot okside glutasyon (GS-SG) ve NADPH’ı substrat olarak kullanan glutasyon redüktazın 412 nm’de Nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat (NADPH)’ı okside etmesi ile meydana gelen azalan absorbansın ölçülmesi esasına dayanmaktadır. NADPH’ın NADP (Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat)’a yükseltgenmesi 412 nm’de absorbansın azalmasına sebep olur, böylece dolaylı olarak GPx’in aktivitesinin tespitinde kullanılmaktadır (Resim 3.10).

Glutasyon peroksidaz aktivite hesaplaması aşağıda verilmiştir:

$$\text{Liver tissue GSH-Px activity} = \frac{\text{OD}_{\text{nonenzyme}} - \text{OD}_{\text{enzyme}}}{\text{OD}_{\text{standart}} - \text{OD}_{\text{blank}}} \times \frac{\text{Standart solution concentration}}{\text{Dilution time}} \div \text{Reaction time} \div (\text{sampling volume} \times \text{Protein content in sample})$$



Resim 3.10 Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) aktivite tayini.

Enzimin spesifik aktivitesi nmol/mg protein olarak hesaplandı. GPx enzim aktivitesinin tayini için süpernatantlar 4 °C’de 15 dakika 14.000 g’de santrifüj edildi. GPx aktivitesinin belirlenmesinde BioAssay Technology marka kit kullanarak spektrofotometrede 412 nm olarak absorbansı ölçüldü.

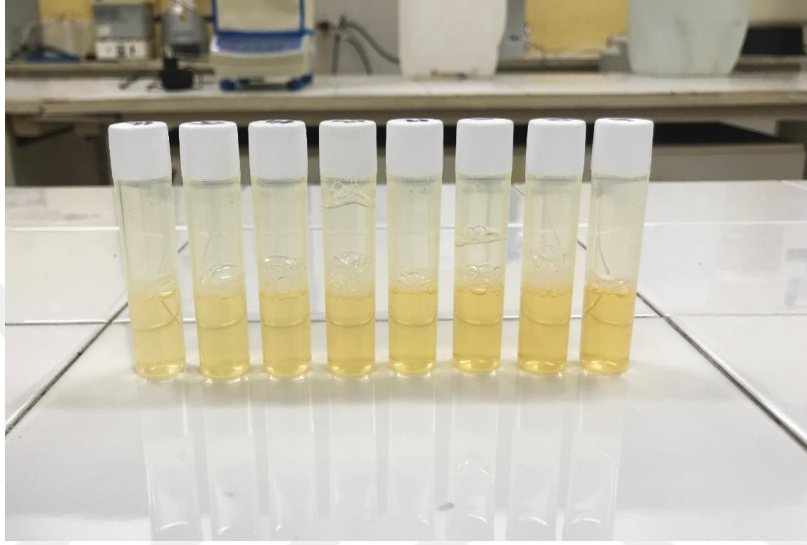
3.5.4 Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi Tayini

Katalazın H₂O₂’yi parçaladığı reaksiyon, amonyum molibdat ile hızlı bir şekilde durdurulabilir. Parçalanmış H₂O₂, sarımsı bir kompleks oluşturmak için amonyum molibdat ile reaksiyona girer. CAT aktivitesi, 405 nm’de sarımsı kompleksin üretilmesiyle hesaplanabilir.

Katalaz aktivite hesaplaması verilmiştir:

$$\text{CAT activity} = (\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{sample}}) \times \frac{271^*}{60 \times \text{The volume of sample}}$$

Note: 271* eğimin tersidir.



Resim 3.11 Katalaz (CAT) aktivite tayini.

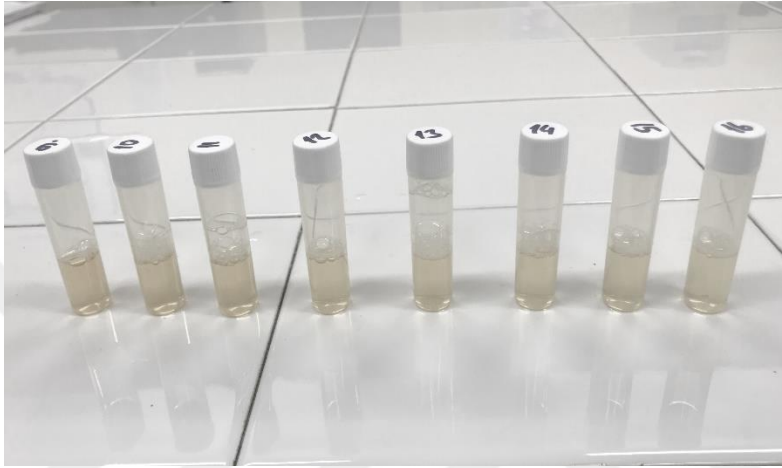
CAT enzim aktivitesinin tayini için süpernatantlar 4°C’de 15 dakika 14.000 g’de santrifüj edildi. Aktivite tayini BioAssay Technology marka kit ile Enzim aktivitesi mmol/mg protein olarak hesaplandı. Katalaz, hidrojen peroksidi enzimatik olarak parçalar ve oluşan reaksiyon ürünü amonyum molibdat kompleksi oluşturur. Peroksizomlardaki CAT’ı açığa çıkarmak amacı ile spektrofotometre cihazında 405 nm’de absorbans ölçümü yapıldı (Resim 3.11).

3.5.5 Glutasyon S-transferaz (GSH-ST) Enzim Aktivitesi Tayini

Glutasyon S-transferaz (GSH-ST), karaciğer hücrelerinde bulunan karaciğer detoksifikasyonuna bağlı bir tür enzimdir. GST, azaltılmış glutasyonun (GSH) 1-klor-2,4-dinitro benzene bağlanmasını katalize eder. Belirli bir reaksiyon süresinde, GST aktivitesi, reaksiyondan sonra substrat konsantrasyonunun değişmesi ile doğrusal olarak ilişkilidir. Bu kit, GSH'nin konsantrasyonunu tespit ederek GST'nin aktivitesinin hesaplanması sağlar.

GST enzim aktivitesi formülü aşağıda verilmiştir:

$$\text{Whole blood GST activity} = \frac{\text{OD contrast} - \text{OD sample}}{\text{OD standart} - \text{OD blank}} \times \text{standart concentration} \times \text{dilution times} \div \text{reaction time length} \div \text{sampling vol.}$$

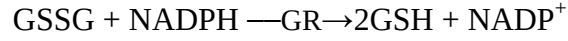


Resim 3.12 Glutasyon S-transferaz aktivite ölçümü.

GST enzim aktivitesinin tayini için süpernatantlar 4 °C’de 15 dakika 14.000 g’de santrifüj edildi. Enzim aktivitesi tayini spektrofotometre cihazında 450 nm’de ölçüldü. GST enzimi tarafından CDNB (1-kloro-2, 4-dinitrobenzen), indirgenen GSH ile konjuge edilerek GSH’ın oksidasyonuna bağlı olarak yapıldı (Resim 3.12). GST aktivitesinin belirlenmesinde BioAssay Technology marka kiti kullanılarak UV ile ölçümleri yapıldı. Sonuçlar µmol/mg protein olarak hesaplandı.

3.5.6 Glutasyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesi Tayini

Glutasyon Redüktaz (GR), koenzim olarak bir molekül flavin adenin dinükleotidi (FAD) içeren flavin proteini olarak bilinen bir enzimdir. İn vivo reaksiyonlara katıldığı zaman, koenzim NADPH hidrojen iyonları sağlayabilir, okside olmuş glutasyon (GSSG) katalitik olarak glutatyona (GSH) indirgenir. GR sitosol ve mikrozomlar bölümünde yayılmış olarak bulunur. GR, çeşitli organların doku hücrelerinde yaygındır, canlı organizmalarda redoks reaksiyonlarında önemli bir rol oynar.



Glutasyon redüktaz hesaplaması aşağıda verilmiştir:

Doku GR = $\frac{(A1 - A2)}{\text{time 2m.} \div [\text{sample vol.} \times \text{conc. of sample}] \times \text{sample dilus.}}$
fact.

activity 6.22 $\times 1 \text{ cm}$ protein

Not: 6.22, 1 nm optik yoldaki 340 nm dalga boyunda 1 mM NADPH'nin sönme katsayısıdır.

GR aktivitesini NADPH absorbans değerlerinin 340 nm'de spektrofotometre cihazında değişimini tespit ederek; GR aktivitesi U/gprot cinsinden BioAssay Technology marka kit formülüne göre hesaplandı.

3.6 İstatistiksel Değerlendirme

Kontrol ve durum gruplarının enzim aktiviteleri ve total proteinlerinin düzeylerinin istatistiksel olarak belirlenmesi ve gruplar arası karşılatırmada Kruskal-Wallis H testi; grup içi karşılaştırmalarda ise Mann-Whitney U testi (SPSS for Windows Paket programında) kullanıldı. Gruplar arası farklar $p < 0.05$ seviyesinde tespit edildi. Bütün istatistiksel hesaplamalar SPSS 17.0 istatistik programı kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Mevcut çalışmada akvaryumlara ağır metal yüklemesi yapıldı ve örnekler 7 gün boyunca gözlemlendi. Ağır metal etkisindeki su kenelerinin ilk günlerde oldukça aktif harekete sahip oldukları dikkat çekti. Kurşuna maruziyet süresi arttıkça 6. ve 7. günlerde su kenelerinin hareketlerinde azalma veya sabit noktada durma gibi değişiklikler saptandı. Uygulama sonunda organizmalarda ağırlık kaybı veya mortalite gibi olumsuz durumlar gözlenmedi. Daha sonra akvaryumlardan alındı ve bu örnekler üzerinden ICP ile ağır metal kurşun birikimi tayin edildi. Eş zamanlı olarak örneklerdeki enzim aktiviteleri uygun deneysel kitlerle ölçüldü. Elde edilen veriler ile ağır metal absorplanması ve enzim aktivitesi arasındaki ilişki düzeyi belirlendi.

4.1 Sudaki Kurşun (II) Nitrat Analiz Değerleri

Doğal ortamda suda bulunan ve suda yaşayan canlılar açısından toksik olmayan kurşun miktarı 0.04-0.198 mg/L olarak bilinmektedir. Işıklı Gölü'nden alınan su kenelerinin kurşun değerleri açısından belirgin fark olup olmadığı su ve doku analizi yapılarak değerlendirildi.

Çalışma bölgesinden alınan suyun kurşun değerleri incelendiğinde; ilk etapta göl suyunun kontrol grubundaki miktarlarının normalin çok üstünde çıktığı 7. günün sonunda alınan su örneklerinin kontrol gruplarındaki miktarlarında azalma olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar kurşun ilavesi yapılmamış kontrol gruplarında kurşun seviyesinin azaldığını ve su kenelerinin vücutlarında absorbe ettiğini göstermektedir.

(Pb(NO₃)₂ ilavesi yapıldıktan sonra en yüksek konsantrasyonlar derişimin yüksek olduğu Pb²⁺ 1×10⁻³ konsantrasyonlarında gözlenirken, en düşük konsantrasyonlar ise kontrol gruplarının 7. günlerinde olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.1, 4.2, 4.3).

Çizelge 4.1 Işıklı Gölü’nden alınan 1. çalışma su analiz sonuçları.

Kurşun konsant. 1. Tekrar	Miktar (ppm)
Pb ⁺² kontrol 1. Gün	0.24
Pb ⁺² kontrol 7. Gün	0.20
Pb ⁺² 1× 10 ⁻⁵	3.80
Pb ⁺² 1× 10 ⁻⁴	21.77
Pb ⁺² 1× 10 ⁻³	104.31

Çalışmanın 1. ve 2. tekrarında da kontrol gruplarının 1. ve 7. günlerdeki farkın belirgin şekilde azalmış olması su kenesi örneklerinin kurşunu belirli dereceye kadar vücutlarına absorbe ettiği görüldü.

Çizelge 4.2 Işıklı Gölü’nden alınan 2. çalışma su analiz sonuçları.

Kurşun konsant. 2. tekrar	Miktar (ppm)
Pb ⁺² kontrol 1. gün	0.23
Pb ⁺² kontrol 7. gün	0.19
Pb ⁺² 1× 10 ⁻⁵	9.85
Pb ⁺² 1× 10 ⁻⁴	44.94
Pb ⁺² 1× 10 ⁻³	86.83

Sonuç olarak; çalışmaların tüm tekrarlarında kontrol gruplarının 1. ve 7. günlerdeki farkın belirgin şekilde azalmış olması su kenelerinin vücutlarına belirli oranlarda kurşunu absorbe ettiklerini göstermektedir. 1., 2. ve 3. çalışmaların en yüksek değerleri artan konsantrasyonlarda uygulama yapıldığı için Pb⁺² 1×10⁻³ derişimlerinde değışiklikler gözlenmiştir.

Gruplar arası farkın önemli ölçüde farklılık gösterdiği ve yüksek derişimlerde bile kurşun metaline karşı su kenelerinin direnç gösterdiğini, absorbe edilen kurşunun bu canlılarda enzim sistemini etkilediği sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.3 Işıklı Gölü’nden alınan 3. çalışma su analiz sonuçları.

Kurşun konsant. 3. tekrar	Miktar (ppm)
Pb ⁺² Kontrol 1. gün	0.35
Pb ⁺² Kontrol 7. gün	0.30
Pb ⁺² 1×10 ⁻⁵	7.74
Pb ⁺² 1×10 ⁻⁴	9.32
Pb ⁺² 1×10 ⁻³	81.36

3. çalışma grubunda göl suyunun Pb²⁺ miktarı 0.135 µg/kg olup, tespit edilen değerin ülkemizdeki su kaynakları kalite kriterlerine (0.50 mg/kg⁻¹) göre tehlikeli olduğunu göstermektedir. Su kenelerinin 7. Gün sonunda kontrol grubundaki kurşun absorplamasının fazla olduğu görüldü.

4.2 *Eylais setosa*’da Ağır Metal Birikim Değerleri

Çalışmanın 1. tekrarında Pb²⁺ uygulaması olmayan kontrol grubundaki kenelerde Işıklı Gölü’ndeki kurşun birikimi değeri tespit edildi. Pb²⁺ 1×10⁻⁵ konsantrasyonu Durum 1 olarak değerlendirildi. Durum 1’deki artış uygulama sonrasında vücut sıvılarında birikim yaptığını göstermektedir. Pb²⁺ 1×10⁻⁴ konsantrasyonu Durum 2 olarak, Pb²⁺ 1×10⁻³ konsantrasyonu ise Durum 3 olarak değerlendirildi. Durum 2 ve 3’te ise kurşunun normal şartlardaki toksik sınırının üstüne çıktığını ve *Eylais setosa*’nın Pb²⁺ birikimlerinde mortalite göstermediği tespit edildi.

Çizelge 4.4 Çalışma alanından alınan *Eylais setosa*’nın 1. örnekteki kurşun değerleri.

Kurşun konsant. 1. Tekrar	Miktar (ppm)
Pb ⁺² Kontrol	0.26
Pb ⁺² 1×10 ⁻⁵	0.41
Pb ⁺² 1×10 ⁻⁴	3.74
Pb ⁺² 1×10 ⁻³	37.21

Çizelge 4.5 Çalışma alanından alınan *Eylais setosa*'nın 2. örneklemdaki kurşun değerleri.

Kurşun konsant. 2. tekrar	Miktar (ppm)
Pb ⁺² Kontrol	0.28
Pb ⁺² 1×10 ⁻⁵	0.94
Pb ⁺² 1×10 ⁻⁴	1.68
Pb ⁺² 1×10 ⁻³	49.02

Çalışmanın 2. tekrarında, Pb²⁺ uygulaması yapılmamış kontrol grubunda, canlıların doğal ortamlarındaki Pb²⁺ birikimi 0.035 µg/kg olarak bulundu. Durum 1 ve Durum 2'de iç sularda kurşun birikim kapasitesinin sınırını geçmediği tespit edildi. Durum 3 derişiminde ise çok yoğun olarak bulunan Pb²⁺ derişiminde birikimlerini üst seviyeye kadar taşıdıkları ve *Eylais setosa* türünde mortalite gözlenmediği sonucuna ulaşıldı.

Çizelge 4.6 Çalışma alanından alınan *Eylais setosa*'nın 3. örneklemdaki kurşun değerleri.

Kurşun konsant. 3. Tekrar	Miktarı (ppm)
Pb ⁺² Kontrol	0.27
Pb ⁺² 1×10 ⁻⁵	0.57
Pb ⁺² 1×10 ⁻⁴	15.76
Pb ⁺² 1×10 ⁻³	81.26

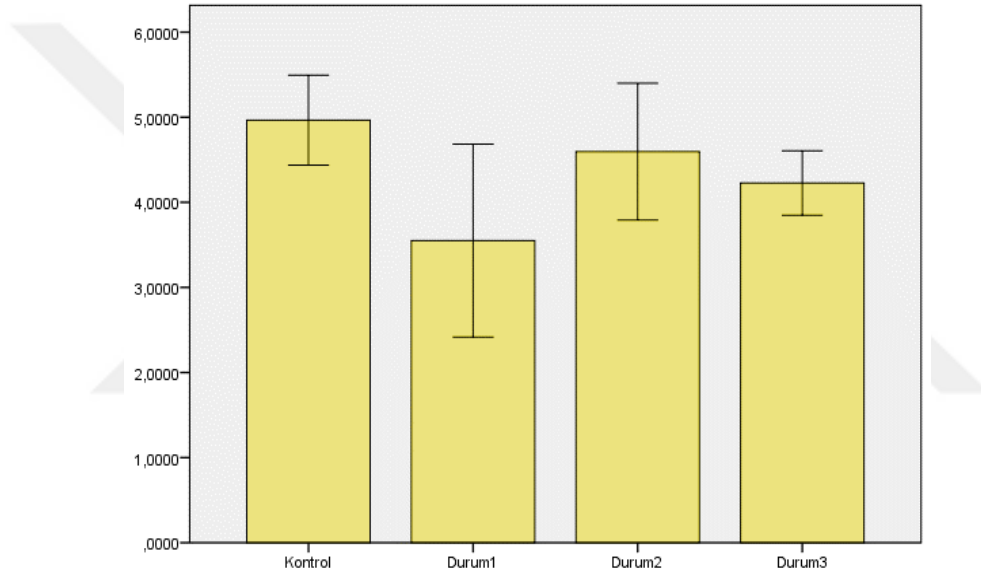
Çalışmanın 3. uygulamasında Pb ilavesi yapılmayan kontrol grubunda vücut sıvılarında 0.072 ppm Pb birikimi bulundu. Durumlar arasında artan konsantrasyonlarda su kenelerinin vücut sıvılarında artma olduğu gözlemlendi.

Uygulamalar kontrol grupları ile kıyaslandığında birikim değerlerinin Durum 3'te yüksek olduğu tespit edilmiştir. Su kenelerinde Pb²⁺ uygulamaları içinde en yüksek konsantrasyon durum 3'teki derişiminde elde edilmiştir. Analiz sonucunda, toksik bir metal olan kurşunun *Eylais setosa* tarafından yoğun olarak absorbe edildiğini gösterdi. Durum 3'teki konsantrasyonlarda 3 çalışmanın da sonucuna bakarak canlıların en toksik derişimlerde bile bu metalin bu türde ölümcül olmadığı görüldü.

4.3 *Eylais setosa*'da Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Hücrede, süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve suya dismutasyonunu katalizleyen Süperoksit Dismutaz enziminin (SOD) aktivitesindeki değişiklikler kontrol grubu ile Pb(NO₃)₂ konsantrasyonları (Durum 1, Durum 2 ve Durum 3) karşılaştırılarak değerlendirildi (Şekil 4.1).

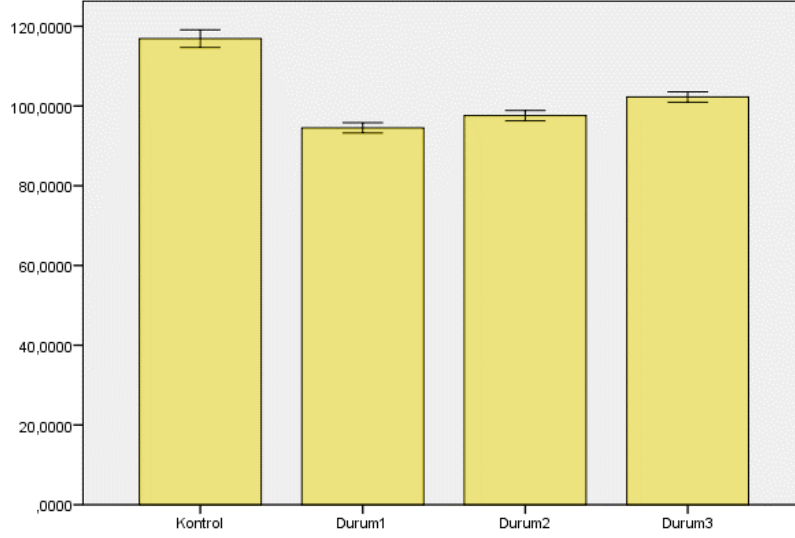
Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan sonuçların anlamlı olduğu ($p < 0.019$) saptandı.



Şekil 4.1 Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim aktivite sonuçları.

4.4 *Eylais setosa*'da Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Reaktif oksijen türlerinin, zararlı etkilerine karşı hücre içi savunmada yer alan glutasyon peroksidaz enziminin miktarında ki artış veya azalış, türün oksidatif strese karşı verdiği yanıtın bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

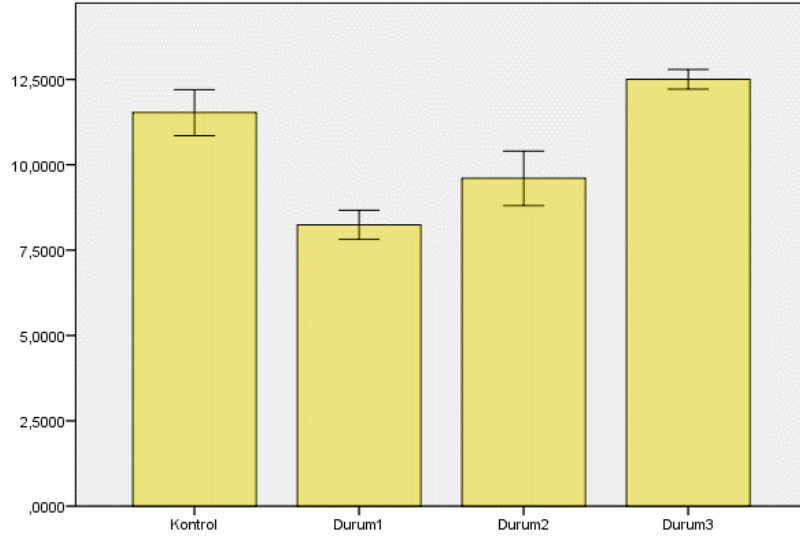


Şekil 4.2 Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) aktivite sonuçları.

Glutatyon peroksidaz enziminin (GSH-Px) aktivitesindeki değişiklikler kontrol grubu ile karşılaştırılarak durum 1, durum 2 ve durum 3 izlendi (Şekil 4.2). Buna göre kurşunun 3 farklı konsantrasyonundaki GSH-Px aktivitesi değerlerinde kontrol grubunun verilerine göre istatistiksel olarak önemli bir fark saptandı ($p < 0.015$).

4.5 *Eylais setosa*'da Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Hücrede hidrojen peroksitin (H_2O_2) suya ve oksijene indirgenmesini katalizleyen katalaz enziminin aktivitesi kontrol grubu baz alınarak değerlendirildi. Buna göre; kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan önemli bir fark görüldü ($p < 0.016$).

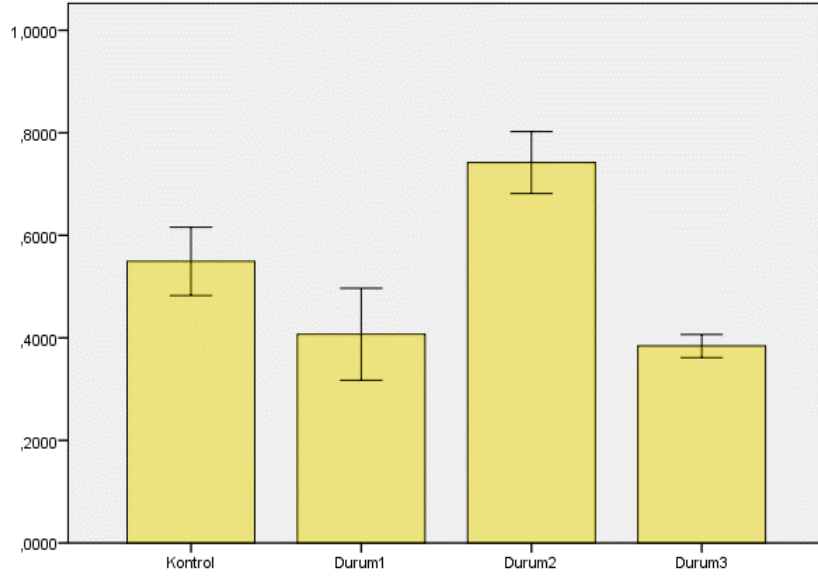


Şekil 4.3 Katalaz (CAT) aktivite sonuçları.

Katalaz enzim aktivitesi, kontrol ve diğer durumlar karşılaştırıldığında en fazla yükselişin durum 3'te olduğu gözlemlendi ($p < 0.016$). Ayrıca Durum1, Durum 2 ve Durum 3 arasında da $Pb(NO_3)_2$ ilavesi ile durumlar arası belirgin farklılıklar görüldü (Şekil 4.3). Durum 1'in su kenelerinde aktivite 2.0 mmol/mg gözlenirken, Durum 2'nin su keneleri örneklerinde 5.0 mmol/mg yükseldiği, Durum 3'te ise belirgin bir artış ile 11.0 mmol/mg protein olduğu görüldü.

4.6 *Eylais setosa*'da Glutasyon S-transferaz (GST) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

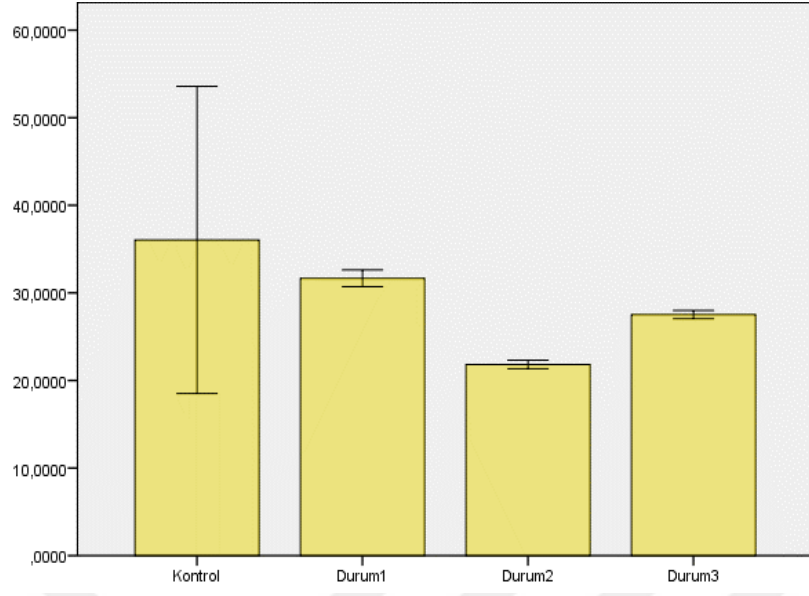
Yapmış olduğumuz GST enzim aktivitesinde; Kontrol grubu, Durum 1, Durum 2 ve Durum 3 konsantrasyonlarında ölçümler yapıldı (Şekil 4.4). Çıkan sonuçlar sırasıyla 8.0 $\mu\text{mol/mg}$, 4.0 $\mu\text{mol/mg}$, 11.0 $\mu\text{mol/mg}$ ve 3.0 $\mu\text{mol/mg}$ bulundu. En yüksek aktivite Durum 2'de gözlenirken, en düşük konsantrasyon Durum 3'te gözlemlendi. İstatistiksel açıdan GST enziminin önem düzeyi $p < 0.024$ tespit edildi.



Şekil 4.4 Glutatyon S-transferaz (GST) aktivite sonuçları.

4.7 *Eylais setosa*'da Glutatyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Glutatyon redüktaz enziminde Kontrol grubu, Durum 1, Durum 2 ve Durum 3 grupları karşılaştırıldı (Şekil 4.5). Çıkan sonuçlar sırasıyla kontrol grubunda 10.0 U/gprot, Durum 1'de 9.0 U/gprot, Durum 2'de 2.0 U/gprot, Durum 3'te 5.0 U/gprot olarak hesaplandı. Durum 1, durum 2 ve durum 3'teki Pb^{2+} konsantrasyonlarına verilen tepkilerde sonuçların birbirine gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.024$).



Şekil 4.5 Glutasyon redüktaz (GR) aktivite sonuçları.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde, biyosorpsiyon ekonomik ve çevre dostu özellikleriyle alternatif bir arıtım yöntemi haline gelmiştir. Biyosorpsiyon yöntemi ile organik ve inorganik kirleticilerin sulu çözeltilerden istenilen düşük derişimlere kadar uzaklaştırılması mümkün olmaktadır (Golie and Upadhyayula 2017). İç sulardaki kirlenmenin temel nedenlerinden biri olan endüstriyel atıklar, akuatik ortamlarda yüksek miktarda toksik metal bırakırlar. Bu durum sulardaki canlılar için toksik etkiye neden olur. Bu kimyasallar tatlı su ekosistemlerini büyük oranda olumsuz etkiler. İç sularda yaşayan fungus, alg, bitki, omurgalı ve omurgasız canlılarda kirliliğe karşı su kalitesini izlemek için biyosorpsiyon yöntemi kullanılmaktadır. Günümüzde bu yöntem biyoindikatör olarak sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (Aydın 2018).

Sulardaki inorganik kirlenmenin en önemli sebebini ağır metaller oluşturur. Bu ağır metaller uygun konsantrasyonlarda canlı yaşamı için gerekli olup eksikliklerinde çeşitli semptomatik bozukluklar ortaya çıkar. Ancak bu metaller doğal konsantrasyonlarındaki miktarları aşıldığında önemli bir enzim engelleyici grubu oluştururlar. Gümüş, civa, bakır, kadmiyum ve kurşun gibi metaller canlılar için bu nedenle zehirlidir (Förstner and Wittmann 1981).

Sucul omurgasızlarda, çeşitli yollardan canlı bünyesine alınan ağır metaller her organ ve dokuda farklı düzeylerde birikirler (Kayhan vd. 2009). Omurgasız hayvan türleri tarafından absorblanan ağır metaller, bu organizmaların vücutlarında birikerek besin zinciri vasıtasıyla sucul ortamdaki diğer canlılara hatta insanlara kadar aktarılmaktadır. Ağır metallerin, canlıları giderek daha fazla oranda etkilemesi nedeniyle literatürde ağır metaller ile indüklenen toksisite ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır. Özellikle kurşun, kadmiyum ve civa gibi endüstriyel boyutta kullanımı olan ağır metallerin canlılara olan etkisi yaygın bir şekilde araştırmacılar tarafından çalışılmaktadır. Ancak ağır metallerin neden oldukları toksisitenin ortaya çıkmasında rolü olan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılabilmiş değildir.

Bununla birlikte deneysel çalışmalardan elde edilen veriler, ağır metal toksisitesinde indüklenen oksidatif hasarın, toksik etkilerin ortaya çıkmasında rol alabileceğini göstermektedir (Casolino *et al.* 2002, Shalan *et al.* 2005).

Kimyasal stres altında antioksidan sistemler indüklenabilir veya inhibe edilebilirler. İndüklenme adaptasyondur ve organizma güvensiz kirli ortamında kısmen veya tamamen stres ile baş edebilir demektir. Diğer durumda organizma toksik ajana daha duyarlı hale gelir ve toksisite başlar. Bu nedenle antioksidan sistemler sadece kontaminant etkisine değil toksisitede biyomarkır olurlar (Cossu *et al.* 1997). Bu biyomarkırlar çevre kirleticilerin arazide değerlendirilmesinde güvenli göstergelerdir (Walker 1995).

Ağır metal stresine bağılı oluşan oksidatif strese karşı antioksidanların oluşturduğu direnç mekanizmaları birçok türde metal toleranslarını güçlendirmek için organizmaya önemli avantaj sağlamaktadır. Metal stresine karşı oluşturulan antioksidan aktivite değışimlerinin sebebinin bilinmesi daha sonraki biyosorplama çalışmaları için de önem taşımaktadır. Sucul organizmalarda, antioksidan savunma sistemleri, çevre şartlarına göre değışmekte ve adaptif bazı yanıtlar geliştirmektedirler. Sucul canlıların doku ve organlarında görülebilen yanıtlar, aslında ekosistemin olumsuz etkilendiğinin bir göstergesidir (Akbulut vd. 2014).

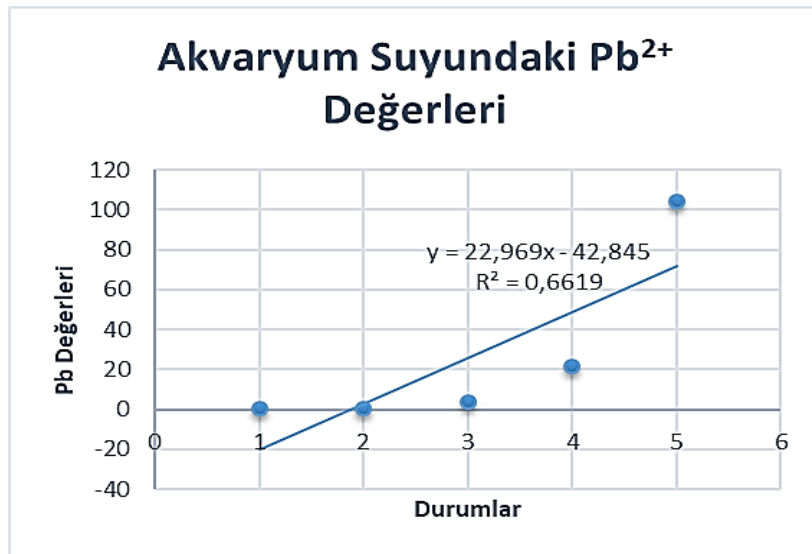
Bu sebeple sucul ortamlarda ağır metallerin ve biyomarkırların, birçok su ürünü ve balık türündeki birikimleri üzerine araştırmalar yapılmıştır (Bryan 1976, Dirilgen 2001, İnan 1995, Canlı 1998, Canyurt 1982, Kaya 2012, Işık 2007, Hoyle *et al.* 2007, Federici 2007, Özdemir 2014).

Aşçı ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları “Study on the Impact of Elements in Water on the Diversity of Water Mites (Acari, Hydrachnidia) Species” başlıklı çalışmada Karamık Gölü’nden toplanan su kenesi örnekleri üzerinde ekolojik bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada tür dağılımı üzerindeki iklimik fraktörlerin ve element düzeylerinin etki düzeylerine bakılmıştır (Aşçı vd. 2015)

Diğer bir çalışmada ise yine Aşçı ve arkadaşlarının (2016) Karamık Gölü'nden toplanan çok yaygın bulunan bir su kenesi türü olan *Hydrodroma despiciens* ile ağır metallerin toksik etkisi üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada gölden toplanan canlı örnekler laboratuvara getirilip akvaryumlara konulup üzerlerine değişik konsantrasyonlarda tekrarlı olarak farklı ağır metal tuzları ilave edilmiştir. Daha sonra akvaryumdaki su keneleri izlenmiş ve bu metal tuzlarına karşı dayanıklılıkları gözlenmiştir.

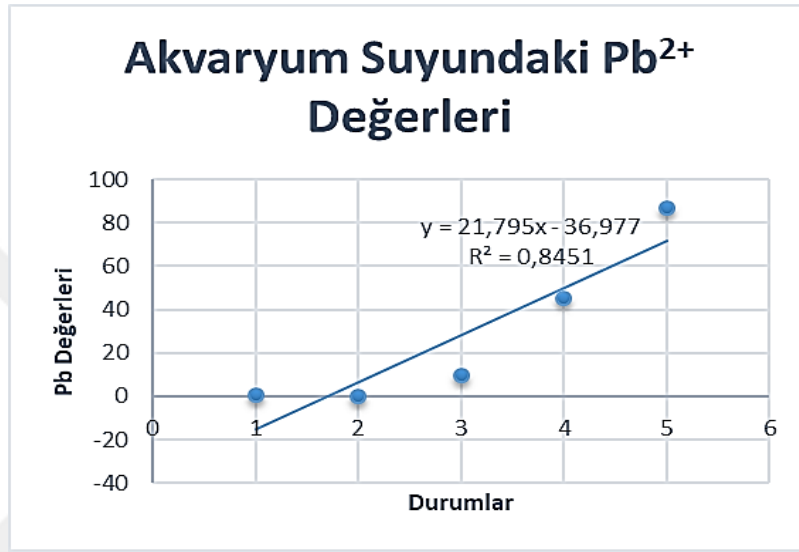
Bazı araştırmacılar, bu antioksidan enzimlerin inhibisyonunun ve indüklenmesinin, suda yaşayan hayvanlarda kurşun kirliliği için potansiyel bir gösterge olduğunu öne sürmüştür (Company *et al.* 2004, Timofeyev *et al.* 2008). Yapılan literatür taramalarında daha önce su kenelerinde antioksidan enzimler ile yapılan bir çalışma olmaması bu çalışmanın önemini artırmaktadır.

Bu çalışma ile Işıklı Gölü'nden Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında alınan *Eylais setosa*'da ve su örneklerinden kurşun birikimi tespit edildi. $Pb(NO_3)_2$ ilavesi olan Durum 1, Durum 2 ve Durum 3 akvaryumlarına alınan örneklerin absoplama miktarını belirlemek amacıyla 0. gün ve 7. günlerde su örnekleri analiz edildi. 7. günün sonunda Pb^{2+} miktarında azalmaların olduğu gözlemlendi. Sonuçlar, *Eylais setosa*'nın kurşunu bünyelerine aldıkları ve artan konsantrasyonun türlere ölümcül etkilerinin olmadığı sonucunu gösterdi.



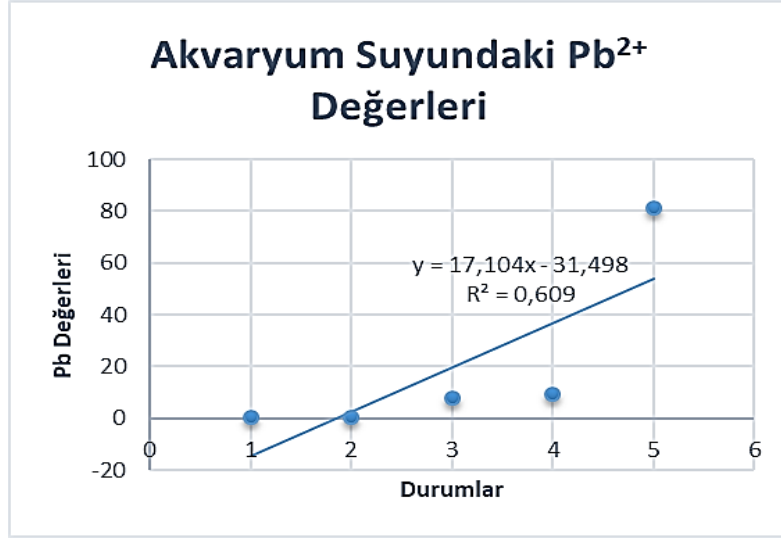
Şekil 5.1 Işıklı Gölü’nden getirilen 1. çalışma su örnekleri.

Çalışmanın 1. örneklemesinde, Pb^{2+} kontrol grubu baz alınarak, durumlar arasında göl suyu ile laboratuvar ortamında ilave edilen Pb^{2+} miktarı değerlendirildi. *Eylais setosa*’nın Pb^{2+} absoplama değerleri interpolasyon grafiği ile yorumlandı. Eğim $R^2=0.6619$ olarak belirlendi. Bu grafik sonucuna göre, ortama verilen Pb^{2+} miktarı, ortamdaki bireyler tarafından artan oranda absorplandığını göstermektedir.



Şekil 5.2 Işıklı Gölü’nden getirilen 2. çalışma su örnekleri.

Çalışmanın 2. tekrarında, Işıklı Gölü’nden alınan su ile laboratuvar ortamında akvaryumlara ilave edilen kurşunun karşılaştırılması yapıldı. Oluşturulan interpolasyon grafiğinde eğim $R^2=0.8451$ bulundu. Bu R^2 değeri, artan kurşun miktarı ile bunun bireyler tarafından absorplanmasının doğrusal oranda olduğunu göstermektedir.

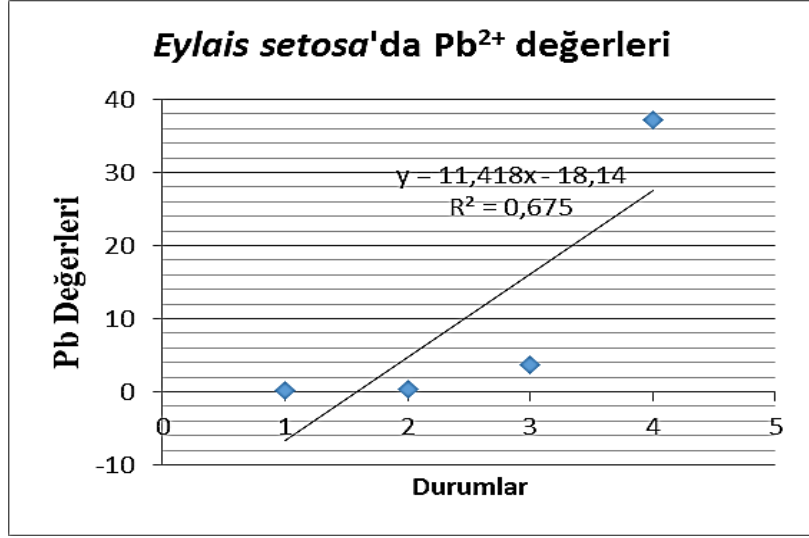


Şekil 5.3 Işıklı Gölü’nden getirilen 3. çalışma su örnekleri.

Çalışmanın 3. örnekleminde, Pb(NO₃)₂ ilavesi olmayan kontrol grubu ile durumlar değerlendirildi. Pb²⁺ absorplama düzeyi oluşturulan grafikte R²=0.609 eğim bulundu. Bu ölçümlerin 3’ünde de interpolasyon grafiğinin doğrusal olması, her üç deneyde de ortama verilen kurşun miktarı ile *Eylais setosa* örneklerinin absorplama oranlarının aynı oranlarda olduğunu göstermektedir.

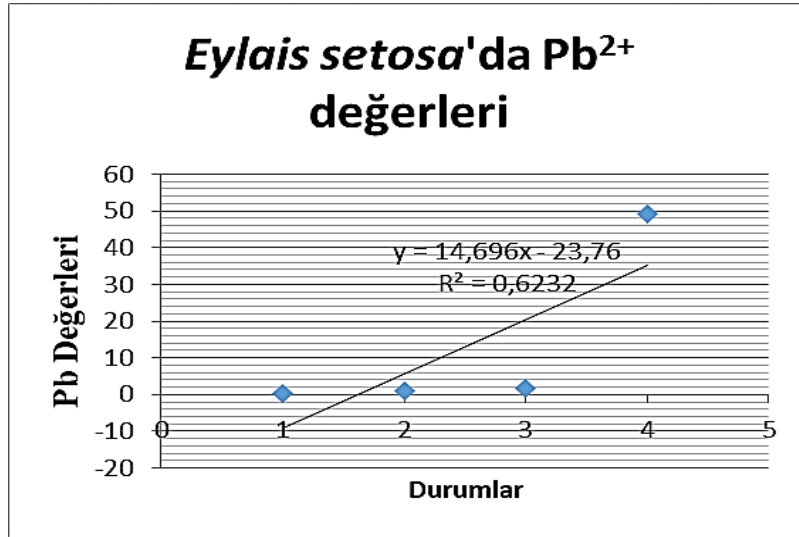
Sonuçlar, Pb(NO₃)₂’nin *Eylais setosa* türü için yüksek miktarda toksik olduğunu göstermektedir. Deneme süresince kontrol grubunda mortalite gözlenmedi. Örneklerin doğal ortamındaki normal hareketlerine devam ettiği tespit edildi. Bu çalışma sonunda, *Eylais setosa*’nın kurşuna maruz kalma süresi arttıkça kurşun birikiminin kademeli olarak arttığı bulundu. Bu çalışma ile ilk kez Pb²⁺’na maruz bırakılan *Eylais setosa*’da bu metalin bu türdeki antioksidan enzim faaliyetleri üzerindeki etkileri çalışıldı.

Eylais setosa için optimum şartlarda yürütülen çalışmada kontrol grubu ile durum 1, durum 2 ve durum 3 derişimlerinde akvaryumlar oluşturuldu. Kontrol grubu ile diğer durumlarda belirlenen akvaryumlara 3 tekrarlı yürütülecek şekilde *Eylais setosa* türleri ilave edildi. Kurşuna maruziyet sonucunda kontrol grubundaki *Eylais setosa* ile farklı konsantrasyon derişimlerine maruz kalan çalışılan türler aralarındaki değişiklikler karşılaştırıldı.



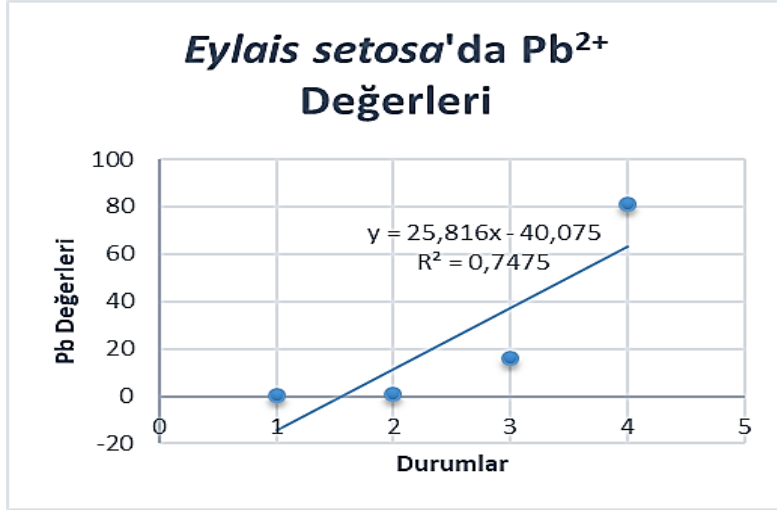
Şekil 5.4 *Eylais setosa*'da 1. örneklemdaki Pb^{2+} birikim değerleri.

Çalışmanın 1. örnekleminde, akvaryumlara $(Pb(NO_3)_2)$ ilave edildikten sonra kontrol grubu ile durum 1 arasındaki birikim oranlarında artma olduğu görüldü. Durumlarda kurşun miktarı arttıkça birikimlerinde kademeli olarak arttığı tespit edildi. İnterporasyon grafiğinde eğim $R^2 = 0.675$ bulundu.



Şekil 5.5 *Eylais setosa*'da 2. örneklemdaki Pb^{2+} birikim değerleri.

Çalışmanın 2. örnekleminde, kontrol grubu ile durumlar arasında belirgin bir artış olduğu görüldü. İnterpolasyon grafiğine göre eğim $R^2 = 0.6232$ olarak bulundu.



Şekil 5.6 *Eylais setosa*'da 3.örneklemdaki Pb^{2+} birikim değerleri.

Çalışmanın 3. örnekleminde *Eylais setosa*'nın vücut dokularında Kontrol grubu, Durum 1 Durum 2 ve Durum 3'te Pb^{2+} miktarının belirgin olarak arttığı gözlemlendi. İnterpolasyon grafik değeri ise $R^2=0.7475$ olarak bulundu. Uygulamaların tümü incelendiğinde eğimin en yüksek çalışmanın 3. örnekleminde olduğu görüldü. Tüm verilere bakıldığında, ortama verilen Pb^{2+} ile absorplanan miktarların doğrusal bir ilişki içinde olduğu görüldü. Bu sonuçlar, daha önceki literatür çalışmalarına uygunluk göstermektedir.

Elde edilen sonuçlara göre, ekotoksikolojik olarak ağır metal stresine verilen cevaplar ağır metalin değişen konsantrasyonlarına ve uygulama süresine bağlı olarak değiştiği göstermektedir. Bu ve benzer çalışmalar, iç sular bakımından zengin olan Türkiye'nin çeşitli nedenlerle su kaynaklarının gittikçe kirlendiği düşünülürse besin zincirinin en alt tabakasından başlayarak en üst canlı grubuna kadar metal kirliliğinin etki düzeylerini belirlemede oldukça önemlidir.

Bulgulara paralel olarak *Eylais setosa* türüne uygulanan kurşun (II) nitratın, SOD, GSH-Px ve CAT aktivitelerinde artışlara neden olduğu ve metal stresine karşı toleransın bu artışlara sebep olduğu düşünülmüştür. Bununla birlikte GST ve GR enzimlerinde ise azalışlar olduğu ve diğer artan enzimlere göre strese neden oldukları ve daha fazla tolerans gösterebildiği belirlenmiştir.

Hücrelerdeki süperoksit radikalini parçalamadan sorumlu olan SOD enzimi aktivitesi ağır metalin konsantrasyonuna, uygulama süresine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Çalışmada kurşunun, kontrol grubunda SOD aktivitesinin diğer enzimlere oranla daha yüksek olduğu tespit edildi. Yapılan tekrarlı gözlemlerde enzimin en az aktivite gösterdiği grubun Durum 1’de olduğu, artan konsantrasyon seviyelerindeki durumlarda enzim seviyesinin bir önceki gruba oranla daha yüksek olduğu ve SOD aktivitesine tolerans gösterebildiği belirlendi.

Uygulama sonucu çıkan değerlerde SOD enzimi aktivitesi sırasıyla kontrol grubunda 10.67 U/mg, Durum 1’de 2.0 U/mg, Durum 2’de 8.33 U/mg ve Durum 3’te ise 5.0 U/mg protein olarak bulundu. SOD aktivite sonuçları, kurşun uygulanmayan su kenelerinde en yüksek (10.67 U/mg) aktiviteyi gösterdiği, Durum 1’de ise (2.0 U/mg) enzimin aktivitesinin yavaşlaması ve artan kurşun miktarında stres oluşturması ile enzim aktivitesini durdurduğu anlaşılmaktadır. Durum 2’de 8.33 U/mg’e yükselerek metal etkisine bağlı olarak su kenelerinin savunma mekanizması geliştirdiği gözlemlendi. Normal şartlarda iç sularda gözlenmeyecek kadar yüksek derişim konsantrasyonuna sahip olan Durum 3’te *Eylais setosa* bireylerinin hala hayatta kalması ve enzim aktivitelerini az da olsa devam ettirildiği görüldü.

Gruplar arası karşılaştırmalarda Durum 2’nin SOD enzim değerlerinin Durum 1 ve Durum 3’e göre yüksek olduğu, belirgin farklılıkların olduğu gözlemlendi. En düşük değer Durum 3’te olduğu saptandı. İstatistiksel değerlendirmelerde gruplar arasındaki farklılık $p<0.019$ olarak anlamlı bulunmuştur. Artan süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzim aktivitelerinin ağır metalin neden olduğu reaktif oksijen türlerinin yok edilmesinde etkili olduğu bilinmektedir (Uraguchi vd. 2006).

GSH-Px enzimi, kurşun uygulaması sonucu *Eylais setosa*’nın kontrol grubunda en yüksek derişimde gözlenmekte iken en az derişimin Durum 1’de inhibe ettiği artan konsantrasyonlarda ise kademeli artışların olduğu saptanmaktadır. Su kenelerinin kurşuna maruz kalması, GSH-Px düzeyinin artmasına neden olmuştur. Ayrıca kontrol, Durum 1, Durum 2 ve Durum 3 grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak önemli bir farkın olduğu tespit edilmiştir ($p<0.015$).

En yüksek sonucun kurşun uygulaması yapılmayan kontrol grubunda çıkması su kenelerinde GSH-Px enzim aktivitesinin doğada normal şartlarda adaptif olduğu ve aktivitesinin 11.0 nmol/mg olduğunu göstermektedir. İlk örneklemedeki akvaryum Durum 1'deki aktivite sonucu 2.0 nmol/mg bulundu. Belirgin bir azalmanın sebebinin normal şartlardaki kurşun miktarından fazla çıkması ile su kenelerinin metal stresine karşı oksidatif strese neden olduğu ve enzimin aktivitesini yavaşlattığı görüldü.

GSH-Px enzim sonuçlarına göre, enzimin kontrol grubunda 11.0 nmol/mg, Durum 1'de 2.0 nmol/mg, Durum 2'de 5.0 nmol/mg ve Durum 3 derişiminde ise 8.0 nmol/mg protein bulunmuştur. Durum 2 olarak belirlenen akvaryuma kurşun ilave edildiğinde 5.0 nmol/mg çıkması artan konsantrasyona doğru su kenelerinin enzimlerinde stres sonrası tekrar yükseldiği görülmüştür. Durum 3'te bulunan su kenelerinin Pb^{2+} ilavesinde yaşamlarına devam etmiş ve enzim aktivitesi 8.0 nmol/mg'a kadar yükselmiştir. Bu sonuçlar oluşan strese rağmen canlıların yüksek toksik derişimlerde bile enzim aktivitelerinin devam ettiğini göstermiştir.

Erdem (2002) yaptığı çalışmada, omurgasız canlılardan *Gammarus* spp.'de Se-bağımlı ve Se bağımsız Glutasyon proksidaz enzimin kurşun ile olan inhibisyonu ve bazı biyokimyasal özellikleri incelemiştir. EC50 değeri *Gammarus* spp.'lara uygulanarak, kurşunun in vivo'da glutasyon peroksidazlar (GPx) üzerine olan geciktirici etkisi saptanmış ve zamana göre değişimi incelenmiştir. GPx geciktirmesinin zamana ve kurşun miktarına bağlı olarak arttığı bulunmuştur.

Katalaz enzim aktivitesi, kontrol ve diğer durumlar karşılaştırıldığında en yüksek derişimin Durum 3'te 11.0 mmol/mg olduğu gözlenmiştir. Durum 3'teki derişimin en aktif olduğu ve su kenelerinin strese bağlı olarak savunma mekanizması oluşturduğunu göstermektedir. Ayrıca, $Pb(NO_3)_2$ ilavesi ile durumlar arası belirgin farklılıklar oluşmuştur. Hiçbir Pb^{2+} uygulaması olmayan kontrol grubunda 8.0 mmol/mg olurken, 1. Durumun su kenelerinde aktivite 2.0 mmol/mg gözlenmiştir. 2. Durumun su keneleri örnekleri 5.0 mmol/mg yükselirken, 3. Durumun örneklerinde belirgin bir enzim aktivite artışı görüldü. Bunun sebebi olarak metal birikiminde oluşan strese karşı su keneleri türlerinde savunma mekanizması geliştirdikleri düşünüldü.

Oluşturulan bu savunma mekanizması enzimi aktifleştirerek, metal stresine karşı canlının korunma içgüdüğü olarak değerlendirildi. CAT ve SOD enzim aktiviteleri kontrole göre önemli oranda değişkenlik göstermiştir. Gözlenen bu artış ve azalışlar metallerin neden olduğu oksidatif stres sonucu su kenelerinin çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik adaptasyon tepkisi olarak gözlendi.

GST enzimi doğada aerobik mikroorganizmalar, bitkiler, böcekler, balıklar, kuşlar, omurgalı ve omurgasız hayvanlarda bulunmaktadır (Konanz and Nauen, 2004). GST'ler vücuda alınan yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli bir role sahip enzimlerdir. Çalışmada, su kenesi populasyonlarının her birine ait GST enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

Popülasyonların GST enzimlerinin kuvarz küvetlerinde spektrofotometrik ölçüm ile okunması sonucunda, elde edilen protein miktarları ($\mu\text{g/mL}$ protein) olarak hesaplanmıştır. Çıkan sonuçlarda, kurşun kontrole göre konsantrasyon arttıkça enzim aktivitesinde azalışa neden olmuştur. Kontrol grubu, Durum 1, Durum 2 ve Durum 3 konsantrasyonlarında sırasıyla $8.0 \mu\text{mol/mg}$, $4.0 \mu\text{mol/mg}$, $11.0 \mu\text{mol/mg}$ ve $3.0 \mu\text{mol/mg}$ olarak elde edildi.

En yüksek aktivite Durum 2 konsantrasyonunda gözlenirken, en düşük konsantrasyon Durum 3'te bulundu. İstatiksel açıdan GST enziminin önem düzeyi $p<0.024$ bulunmuştur. Sonuçlarda azalma gösteren enzimlerden GST, Durum 2 konsantrasyonunda savunma mekanizmasını geliştirerek bir sonraki artan derişimde enzimin aktivitesinin düştüğünü göstermektedir.

Benzer sonuçlar Yan vd. (2016), *Danio rerio* balıklarında da gözlenmiştir. Bu araştırmada CAT aktivitesindeki bu azalma PPC'nin CAT düzeylerini değiştirerek karaciğerde peroksidatif hasara neden olduğunu gösterir. GST kirleticilerin etkisinde biyomarkır olarak kullanımı kirliliğin izlenmesinde güvenli bir parametre olarak dikkati çekmektedir.

Sonuçlara paralel olarak, Dere vd. (2007) yaptıkları çalışmada, Marmara Bölgesi'nin güney bölgesindeki altı istasyondan toplanan *Ulva rigida* türünde Glutasyon S-Transferaz enzim aktivitesini tespit etmişler ve enzim aktivitesinin su kirliliği ve abiyotik faktörlerle ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Böylece kurşunun neden olduğu ağır metal stresine SOD, katalaz ve glutasyon peroksidaz (GPX) gibi antioksidan enzimlerin savunma mekanizması oluşturdıklarına yönelik bulgular oluşmuştur. Kurşun toksisitesine karşı SOD enzimi, katalaz enzimi ve glutasyon peroksidaz aktivitelerini artırarak ağır metal stresine daha dirençli hale gelmektedir. Glutasyon redüktaz enzim aktivitesinin belirlenmesi reaksiyon ortamına katılan GR enzimi NADPH'ın azalmasına sebep olmaktadır. Bu azalma spektrofotometrik olarak 340 nm'de takip edilmektedir (Carlberg and Mannervik 1985).

Glutasyon redüktaz aktivite sonuçlarına göre, kurşun uygunlanmayan kontrol grubunda reaksiyon gösterdiği saptandı. Ortama ilave edilen kurşunun su kenesi türlerinde enzim reaksiyonunu inaktif ettiği bulundu. Sonuçlar sırasıyla kontrol grubunda 10.0 U/gprot, Durum 1'de 9.0 U/gprot, Durum 2'de 2.0 U/gprot, Durum 3'te 5.0 U/gprot olarak hesaplandı.

GR enzimi kontrol grupları arasında değişiklikler göstermektedir. Artan konsantrasyonlarda ise kontrole göre azalışlar görülmektedir. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında, kontrol gruplarındaki GR aktivitesinin miktarlarının yüksek olduğu tespit edildi. Glutasyon redüktaz okside olmuş hücrelerin detoksifikasyonunda görevli enzimdir. Çalışmada kurşun uygulamaları sonucu enzimin baskılandığı ve aktive olmadığı görüldü.

Sonuçlara ek olarak yapılan çalışmalarda; Hamed vd. (2003), endüstriyel ve çevresel atıklarla kirlenen Nil nehrinin belirli bölgelerinden yakalanan balık türlerinde kirliliğin belirteçleri olan çeşitli antioksidan enzim aktivitelerindeki değişimleri üzerine çalışılmıştır. İncelenen türlerden *Oreochromis niloticus*'un karaciğer ve böbrek dokularındaki GR, GST ve GSH-Px aktivitesinin kirlenmiş bölgelerdeki balıklarda

kontrol grubu balıklarına oranla daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Bu tez kapsamında ilk kez, farklı dozlarda ağır metallere (Pb^{2+}) maruz bırakılan *Eylais setosa* türünde kurşunun antioksidan sistemler üzerindeki etkileri değerlendirildi. Bu çalışma açıkça serbest radikal kaynaklı toksisiteye karşı savunma yapısını ve hücrelerin adaptif mekanizmasını açıkça göstermektedir. Tüm sonuçlar $p<0.005$ 'te istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar vermiştir. Bu çalışma ile ağır metallerle kirlenmiş bir su ekosisteminde kirliliğe maruz kalan, su keneleri (*Eylais setosa*) türlerinin belirli dozlara kadar enzimatik savunma sistemlerini harekete geçirdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışma kapsamında farklı dozlarda kurşun (Pb^{2+})'a maruz bırakılan su keneleri (Acari, Hydrachnidia) türlerinde kurşun toksisitesine karşı en duyarlı indikatör enzimin katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimi olduğu bulunmuştur. Enzim aktiviteleri ile sucul kirlilik arasındaki ilişkinin kullanışlı biyobelirteçler olduğu, bu tez çalışmasıyla ortaya konulmuştur. Ancak aktiviteleri etkileyen değişkenlerin farklı parametrelerin ileriki çalışmalarda detaylı olarak araştırılması konunun daha anlaşılır olması açısından önem arzedecektir. Çalışmanın detaylandırılması, dişi ve erkek bireyler arasındaki farklar ayrıca, diğer ağır metallerin de çalışılması ve mevsimsel farklılıklar da dikkate alınarak yapılacak çalışmalar konunun daha iyi anlaşılması açısından yararlı olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Aboul-Ela, E.I. (2002). The protective effect of calcium against genotoxicity of lead acetate administration on bone marrow and spermatocyte cells of mice in vivo. *Mutation Research*, **516**: 1-9.
- Ağcasulu Ö. (2007). Sakarya Nehri Çeltikçe Çayı'nda yaşayan *Capoeta tinca* (Heckel, 1843)'nın dokularında ağır metal birikiminin incelenmesi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Ahmad, S. (1995). Oxidative stress and antioxidant defenses in biology chapman and hall, *Springer Science & Business Media*, **447**. New York.
- Aizawa, S., Tsunoda, A., Yasuda, M., Tsunoda, K. and Itabashi, H. (2009). Concentrations of heavy metals in caddisfly larvae of the tone river system and their seasonal variations, *Bunseki Kagaku*, **58**: 273-285.
- Akbaba, G. (2015). Işıklı Gölü (Denizli) bentik faunasının mevsimsel değişimi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta.
- Akbulut, C., Kaymak, G., Esmer, H.E., Yön, N.D.ve Kayhan, F.E. (2014). Balıklarda ağır metal ve pestisitler tarafından indüklenen oksidatif stres mekanizmaları. *Su Ürünleri Dergisi*, **31**: 155-160.
- Akkuş, G. (2016). Çanakkale Boğazı (Kepez) midye (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) örneklerinde ağır metal (Cd, Pb, Cu, Zn, Fe) ve temel antioksidant enzim düzeylerinin mevsimsel değişimi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale.
- Aksungur, N. ve Firidin, Ş. (2008). Su kaynaklarının kullanımı ve sürdürülebilirlik, *Yunus Araştırma Bülteni*, **8**: 9-11.
- Alak, G., Atamanalp, M., Topal, A., Arslan, H., Oruç, E. and Altun, S. (2013). Histopathological and biochemical effects of humic acid against cadmium toxicity in brown trout gills and muscles. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **13**: 315-320.

- Al-Rub, F.A., El-Naas, M.H., Benyahia, F. and Ashour, I. (2004). Biosorption of nickel on blank alginate beads, free and immobilized algal cells. *Process Biochemistry*, **39**: 1767-1773.
- Alves, L.C., Glover, C.N. and Wood, C.M. (2006). Dietary Pb accumulation in juvenile freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Archives of environmental contamination and toxicology*, **51**: 615.
- Anderson, M.B., Preslan, J.E., Jolibois, L., Bollinger, J.E. and George, W.J. (1997). Bioaccumulation of lead nitrate in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Journal of Hazardous Materials*, **54**: 15-29.
- Aşçı, F. (2002). Kars, Ardahan, Artvin ve Rize illeri su kenelerinin (Acari, Hydrachnellae) sistematik yönden incelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Erzurum.
- Aşçı, F., Fıçıcı, E.K. ve Konuk, M. (2009). Eber ve Karamık göllerindeki kontaminasyonun belirlenmesine yeni bir yaklaşım. Kafkas Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **2**: 1-4.
- Aşçı, F., Bahadır, M., and Akkuş, G.U. (2015). Study on the impact of elements in water on the diversity of water mites (Acari, Hydrachnidia) species. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, **6**: 259.
- Aşçı, F., Akkuş, G.U. and Yaman, İ. (2016). Accumulation of heavy metals by a common water mite *Hydrodroma despiciens* (Müller, 1776) in laboratory condition. *Pakistan Journal of Zoology*, **48**.
- Argese, E.C., Bettiol, C., Rigo, S., Bertini, S., Colomban P. and Ghetti, F. (2005). Distribution of arsenic compound in *Mytilus galloprovincialis* of the Venice Lagoon, Italy. *Science of the Total Environment*, **15**: 267- 277.
- Atlı, G. and Canlı, M. (2010). Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **73**: 1884-1889.
- Atlı, G. and Canlı, M. (2011). Essential metal (Cu, Zn) exposures alter the activity of

atpases in gill, kidney and muscle of tilapia *Oreochromis Niloticus*. *Ecotoxicology*, **20**: 1861-1869.

Aydın, P. (2018). Bitkisel biyokütle üzerine pasif immobilize *Phlebia gigantea*'nın Pb²⁺ biyosorpsiyonu karakteristikleri. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.

Aygen, C. ve Balık, S. (2005). Işıklı Gölü ve kaynaklarının (Çivril-Denizli) Crustacea faunası. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **22**: 371-375.

Ayhan, B., Ekmekçi Y. ve Tanyolaç, D. (2006). Bitkilerde metal zararları ve metal zararlarından korunma mekanizmaları, *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, **1**: 1-16.

Axtell, N.R., Sternberg, S.P.K. and Claussen, K. (2003). Lead and Nickel Removal sing microspora and *Lemna minor*. *Bioresource Technology*, **89**: 41-48.

Baisak, R., Rana, D., Acharya, P. and Kar, M. (1994). Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stres, *Plant and cell physiology*, **35**: 489-495.

Balık, S., Ustaoglu, M. R., Taşdemir, A. ve Yıldız, S. (2000). Işıklı Gölü'nün (Çivril-Denizli) Bentik Faunası. *XV. Ulusal Biyoloji Kongresi*, **1**: 210-216.

Balkıs, N. ve Algan, O. (2005). Marmara Denizi yüzey sedimentlerinde metallerin birikimi ve denetleyen mekanizmalar. *Deniz Kirliliği Tüdev Yayınları*, İstanbul. **21**: 512.

Ballesteros, M.L., Wunderlin, D.A. and Bistoni, M.A. (2009). Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72**: 199-205.

Balseiro, E.G. (1992). The role of pelagic water mites in the control of cladoceran population in a temperate lake of the southern Andes. *Journal of Plankton Research*, **14**: 1267-1277.

Barata, C., Varo, I., Navarro, J. C., Arun, S. and Porte, C. (2005). Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the freshwater cladoceran *Daphnia magna* exposed to redox cycling compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology*

- Bayir, A. (2005). The investigation of seasonal changes in antioxidant enzyme activities, serum lipids, lipoproteins and hematological parameters of siraz fish (*Capoeta capoeta umbla*) living in Hınıs Stream (Murat Basin). PhD Thesis, Atatürk University, Erzurum, Turkey.
- Benaduce, A.P.S., Kochhann, D., Flores, E.M.M., Dressler, V.L. and Baldisserotto, B. (2008). Toxicity of cadmium for silver catfish *Rhamdia quelen* (Heptapteridae) embryos and larvae at different alkalinities, *Archives of environmental contamination and toxicology*, **54**: 274-282.
- Berg, V., Erikson, G.S. and Iverson, P.E. (1997). Strategies for monitoring of contaminants in marine organisms in Norwegian harbours and fjords, *Norwegian State Food Control Reports*, **94**: 300-321.
- Blasco, J. and Puppo, J. (1999). Effect of heavy metals (Cu, Cd and Pb) on aspartate and alanine aminotransferase in *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, **122**: 253-263.
- Boyacı, Y.Ö. (1995). Konya ili ve çevresi su kenelerinin (Acari, Hydrachnellae) sistematik yönden incelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.
- Boyacı, Y.Ö. ve Özkan, M. (2003). Işıklı Gölü (Denizli) faunası su keneleri (Acari, Hydrachnellae). *Su Ürünleri Dergisi*, **20**.
- Bryan, G.W. (1971). The effects of heavy metals (other than mercury) on marine and estuarine organisms. Proceedings of the Royal Society of London. *Series B. Biological Sciences*, **177**: 389-410.
- Bryan, G.W. and Hummerstone, L.G. (1971). Adaptation of the polychaete *Nereis diversicolor* to estuarine sediments containing high concentrations of heavy metals. I. General observations and adaptation to copper. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **51**: 845-863.

- Bryan, G.W. (1976). Some Aspects of heavy metal tolerance in aquatic organisms, in: lockwood (Ed.), *Effects of Pollutants on Aquatic Organisms*, 7-34.
- Bryan, G.W. and Langston, W.J. (1992). Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environmental pollution*, **76**: 89-131.
- Bunn, S.E., Davies, P.M. and Mosisch, T.D. (1999). Ecosystem measures of river health and their response to riparian and catchment degradation, *Freshwater Biology*, **41**: 333-345.
- Butler, M.I. and Burns, C.W. (1991). Prey selectivity of *Piona exigua*, a planktonic water mite. *Oecologia*, **86**: 210-222.
- Cajaraville, M.P., Bebianno, M.J., Blasco, J., Porte, C., Sarasquete, C. and Viarengo, A. (2000). The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: A practical approach. *The Science of The Total Environment*, **247**: 295-311.
- Canli, M., Ay, Ö. and Kalay, M. (1998). Levels of heavy metals (Cd, Pb, Cu, Cr and Ni) in tissue of *Cyprinus carpio*, *Barbus capito* and *Chondrostoma regium* from the Seyhan River, Turkey. *Turkish journal of zoology*, **22**: 149-158.
- Canyurt, M.A. (1982). Bazı tarım ilaçlarının aynalı sazan, *tilapia* ve yılan balıkları için toksik konsantrasyonları üzerine araştırmalar. Ege Üniversitesi, Doktora Tezi, İzmir.
- Carlberg, I. and Mannervik, B. (1985). Glutathione reductase. In *Methods in enzymology*. Academic press, **113**: 484-490.
- Casalino, E., Calzaretti, G., Sblano, C. and Landriscina, C. (2002). Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium, *Toxicology*, **179**: 37-50.
- Cassano, C.R., Castilho-Noll, M.M. and Arcifa, M.S. (2002). Water mite predation on zooplankton of a tropical lake. *Brazilian Journal of Biology*, **62**: 565-571.
- Cassini, A., Favero, M. and Albergoni, V. (1993). Comparative studies of antioxidant

- enzymes in red-blooded and white-blooded Antarctic teleost fish. *Pagothenia bernacchii* and *Chionodraco hamatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, **106**: 333-336.
- Chan, H.M. and Cherian. M.G. (1992). Protective roles of MT and glutathione in hepatotoxicity of Cadmium. *Toxicology*, **72**: 281-290.
- Columbano, A., Ledda, M.G., Sırgu, P., Perra, T. and Pani, P. (1983). Liver cell proliferation induced by a single dose of lead nitrate. *American Association of Pathologists*, **110**: 83-88.
- Company R, Serafim A, Bebianno MJ, Cosson R, Shillito B, and Fiala Me'dioni A (2004). Effect of cadmium, copper and mercury on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus*. *Marine Environment Research* **58**: 377-381.
- Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M.C., Babut, M., Exinger, A. and Vasseur, P. (1997). Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione 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.
- Çoğun, H.Y. ve Kargın, F. (2008). *Cyprinus carpio*'da solungaç, kas, karaciğer ve böbrek dokularında kurşun birikimi. *Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Dergisi*, 17-2.
- Çoğun, H.Y. ve Kargın, F. (2011). Kurşunun *Cyprinus carpio* kas dokusunda iyon parametrelerine etkisi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, **2**: 1-7.
- Çolak, Ş. (2015). Süloğlu Barajı Gölü (Edirne) zooplankton (Rotifera, Cladocera, Copepoda) faunası. Trakya Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Daka, E.R. and Hawkins, S.J. (2006). Interactive effects of copper, cadmium and lead on zinc accumulation in the gastropod mollusc *Littorina saxatilis*. *Water, Air and Soil Pollution*, **171**: 19-28.
- Darlington, S.T., Gower, A.M. and Ebdon, L. (1987). Studies on plectrocnemia conspersa (curtis) in copper contaminated streams in South West England,

Proceedings of the Fifth International Symposium on Trichoptera Series Entomologica, **39**: 353-357.

Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Breuegem, F. (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses, *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, **57**: 779-795.

Davids, C., Ten Winkel, E.H. and De Groot, C.J. (1994). Temporal and spatial patterns of water mites in Lake Maarsseveen I. *Netherland Journal of Aquatic Ecology*, **28**: 11-17.

Davis, C. (1997). The influence of larval parasitism on the life history strateies in water mites (Acari, Hydrachnidia). *Archiv fur Hydrobiologie*, **141**: 35-43.

Deaton C.M. and Marlin D.J. (2003). Exercise-associated oxidative stress, *Clinical Techniques In Equine Practice*, **2**: 278-291.

De Conto Cinier, C., Ramel, M.P., Faure, R. and Garin, D. (1997). Cadmium bioaccumulation in carp (*Cyprinus carpio*) tissues during long-term high exposure: Analysis by inductively coupled plasma-massspectrometry. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **38**: 137-143.

De Conto Cinier, C., Ramel., M.P. Faure., R. Garin D. and Bouvet, Y. (1999). Kinetics of Cd accumulation and elimination in Carp (*Cyprinus carpio*) tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **122**: 345-352.

Deisseroth, A. and Dounce, A.L. (1970). Catalase: physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. *Physiological reviews*, **50**: 319-75.

Depledge, M.H. and Fossi, M.C. (1994). The role of biomarkers in environmental assessment invertebrates. *Ecotoxicology*, **3**: 161-172.

Dere, E., Yıldız, G., Dalkıran, N., Karacaoğlu, D. and Dere, Ş. (2007). Changes in Glutathione S-transferase enzyme activity in *Ulva rigida* according to abiotic factors and locations. *Ecology*, **64**:1-8.

De Zwart L.L., Meerman J.H.N., Commandeur J.N.M. and Vermeulen N.P.E. (1999). Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in

- humans, *Free Radical Biology and Medicine*, **26**: 202-226.
- Diguiseppi, J., Fridovich, I. and McCord, J.M. (1984). The toxicology of molecular oxygen. *CRC critical reviews in toxicology*, **12**: 315-342.
- Dirilgen, N. (2001). Accumulation of heavy metal in freshwater organism: assessment of toxic interactions. *Turkish. Journal Chemisrty*, **25**: 173-179.
- Di Sabatino, A., Gerecke, R. and Martin, P. (2000). The biology and ecology of lotic water mites (Hydrachnidia). *Freshwater Biology*, **44**: 47-62.
- Di Sabatino, A., Cicolani, B. and Gerecke, R. (2003). Biodiversity and distribution of water mites (Acari, Hydrachnidia) in spring habitats. *Freshwater Biology*, **48**: 2163-2173.
- Di Sabatino, A., Smit, H., Gerecke, R., Goldschmidt, T., Matsumoto, N. and Cicolani, B. (2008). Global diversity of water mites (Acari, Hydrachnidia) in freshwater. *Hydrobiologia*, **595**: 303-315.
- Dodson, S.L., Arnott, S.E. and Cottingham, K.L. (2000). The relationship in lake communities between primary productivity and species richness. *Ecology*, **81**: 2662-2679.
- Doğru, M.G. (2007). Ağır metal ve adrenomedullin uygulamasının bazı sıçan dokularında antioksidan savunma sistemi üzerine etkilerinin araştırılması, İnönü Üniversitesi, Doktora Tezi, Malatya.
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M.C., Babut, M. and Vasseur, 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 tumidu. *Aquatic Toxicology*, **39**: 93-110.
- Dökmeci, İ. (1988). Çevre kirlenmesinde rol oynayan toksik maddeler. 488-489.
- D'Souza, S.H., Menezes G. and Venkatesh, T. (2003). Role of essential trace minerals on the absorption of heavy metals with special reference to lead. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, **18**: 154-160.
- Dubovskiy, I.M., Martemyanov, V.V., Vorontsova, Y.L., Rantala, M.J., Gryzanova,

- E.V. and Glupov, V.V. (2008). Effect of bacterial infection on antioxidant activity and lipid peroxidation in the midgut of *Galleria mellonella* larvae (Lepidoptera, Pyralidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, **148**: 1-5.
- Duman F. (2005). Sapanca ve Abant gölü su, sediment ve sucul bitki örneklerinde ağır metal konsantrasyonlarının karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Duran, M., Tuzen, M. and Kayım, M. (2003). Exploration of biological richness and water quality of stream Kelkit, Tokat-Turkey, *Fresenius Environmental Bulletin*, **12**: 368-375.
- Duran, M. (2006). Monitoring water quality using benthic macroinvertebrates and physicochemical parameters of the Behzat Stream (Tokat, N TURKEY). *Polish Journal of Environmental Studies*, **15**: 709-717.
- Duran, M., Akyıldız, G. K. ve Özdemir, A. (2007). Gökpınar Çayı'nın büyük omurgasız faunası ve su kalitesinin değerlendirilmesi. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, **5**: 577-583.
- Dündar, Y. ve Aslan, R. (2005). Yaşamı kuşatan ağır metal kurşunun etkileri. *Kocatepe Tıp Dergisi*, **6**: 1-5.
- Dügel, M. and Kazancı N. (2004). Assessment of water quality of the Büyük Menderes river (Turkey) by using ordination and classification of macroinvertebrates and environmental variables. *Journal of Freshwater Ecology*, **4**: 605-612.
- Eaton D.A., Clesceri L. S. and Greenberg A.E. (1995). Standard methods, 19th edition for the examination of water and wastewater, American Public Health Association. Fifteenth Street, NW Washington, DC. 1015.
- Egemen, Ö. ve Sunlu, U. (1999). Su kalitesi (Ders Kitabı). III. Baskı Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayın No:14, Ege Üniversitesi Basımevi Bornova-İzmir, **148**.
- El-Naggar, A.M., Mahmoud, S.A. and Tayel, S.I. (2009). Bioaccumulation of some heavy metals and histopathological alterations in liver of *Oreochromis niloticus* in relation to water quality at different localities along the River Nile, Egypt", *World Journal of Fish and Marine Sciences*, **1**: 105-114.

- El-Sikaily, A., Khaled, A. and El-Nemr, A. (2004). Heavy metals monitoring using bivalves from Mediterranean Sea and Red Sea. *Environmental Monitoring and Assessment*, **98**:41-58.
- El-sharabasy, H.M. and Ibrahim. A. (2010) . Communities of oribatid mites and heavy metal accumulation in oribatid species in agricultural soils in Egypt. *Impacted by Wastewater*, **46**: 159-170.
- El-Sokkary, G.H., Abdel-Rahman, G.H. and Kamel, E.S. (2005). Melatonin protects against lead-induced hepatic and renal toxicity in male rats, *Toxicology*, **213**: 25-33.
- Erdem, M. (2002). Çeşitli çevresel kirleticilerin *Gammarus pulex*'deki Se-bağımlı ve Se-bağımsız Glutasyon Peroksidaz enzim aktivitelerine olan etkileri ve enzimin bazı biyokimyasal özellikleri. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.
- Erdoğan, M.D. (2015). Munzur akarsuyunda yaşayan alabalıklarda (*Salmo trutta macrostigma*) antioksidan enzim aktivitelerinin mevsimsel değişimlerinin araştırılması. Tunceli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Tunceli.
- Ernsting, B.R., Edwards, D.D., Vidrine, M.F., Myers, K.S. and Harmon, C.M. (2006). Phylogenetic relationships among species of the Subgenus Parasitax (Acari: Unionicolidae: Unionicola) based on DNA sequence of the mitochondrial cytochrome oxidase I gene. *International Journal of Acarology*, **32**: 195-202.
- Erman, O. Tellioğlu, A., Orhan, O., Çitil, C. ve Özkan, M. (2006). Hazar Gölü ve Behremaz Çayı su kenesi (Hydrachnidia: Acari) faunası ve mevsimsel dağılımı, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **18**: 1-10.
- Esen, Y. (2011). Bingöl ili su kenelerinin (Acari, Hydrachnidia) sistematik yönden incelenmesi. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Esen, Y. and Erman, O. (2016). Türkiye su kenesi faunası için yeni bir kayıt: *Atractides spinipes* Koch (Acari, Hydrachnidia). *Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi*, **7**: 32-36.

- Esenbuğa, H. (2013). Sds (sodium dodecyl sulphate)'nin farklı dozlarının Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin yüzme performansı, hematoloji parametreleri ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Fatima, R.A. and Ahmad, M. (2005). Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater, *Science of the Total Environment*, **346**: 256-273.
- Federici G., Shaw B. and Handy. (2007). Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress and other physiological effects. *Aquatic Toxicology*, **84**: 415-430.
- Fernandez M., Cuesta S., Jimene O., Garcia M.A., Hernandez L.M., Marina M.L. and Gonzalez M.J. (2000). Organochlorine and heavy metal residues in the water/sediment system of the Southeast Regional Park in Madrid, Spain. *Chemosphere* **41**: 801-812.
- Fesus, L., Thomazy, V. and Falus, A. (1987). Induction and activation of tissue transglutaminase during programmed cell death. *Published by Elsevier Science Publishers* **224**: 104-108.
- Fitzgerald, J.P. (1992). Comparative analysis of superoxide dismutase activity in a range of temperate and tropical teleost fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, **101**: 111-114.
- Flora, S.J., Pande, M. and Mehta, A. (2003). Beneficial effect of combined administration of some naturally occurring antioxidants (vitamins) and thiol chelators in the treatment of chronic lead intoxication. *Chemico-Biological Interactions*, **145**: 267-280.
- Freedman, M.L., Cunningham, P.M., Schindler, J.E. and Zimmerman, M.J. (1980). Effect of lead speciation on toxicity. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, **25**: 389-393.
- Förstner, G. and Wittmann, T. (1981). Metal pollution in the aquatic environment, Berlin Heidelberg. *Newyork Springer Verlag*, **3**: 271-318.

- Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, **64**: 97-112.
- Gerlach, S.A. (1981). Marine pollution, *Springer-Verlag*, Berlin Heidelberg, New York.
- Gerson, U. and Smiley, R.L. (1990). *Acarina Biocontrol Agents*. Chapman and Hall, London, 174 p.
- Gerson, U., Smiley, R.L. and Ochoa, R. (2003). Mites (Acari) for Pest Control. Blackwell Publishing, UK.
- Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F. and Scaccini, C. (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Biology and Medicine* **29**: 1106-1114.
- Giordano, R., Arata, P., Rinaldi, S., Ciaralli, L., Giani, M., Rubbiani, M. and Costantini, S. (1989). Mercury, cadmium and lead levels in marine organisms (*Mytilus galloprovincialis*) collected along the Italian coasts. *Annali Dell Istituto Superiore Di Sanita*, **25**: 511-516.
- Goldschmidt, T. (2002). The biodiversity of Neotropical water mites. In *Acarid Phylogeny and Evolution: Adaptation in Mites and Ticks*. Springer, 91-99.
- Golie, W.M. and Upadhyayula, S. (2017). An investigation on biosorption of nitrate from water by chitosan based organic-inorganic hybrid biocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules*, **97**: 489-502.
- Goyer, R.A. (1990). Transplacental transport of lead. *Environmental Health Perspectives*, **89**: 101-105.
- Göksu, M.Z.L., Çevik, F., Fındık, Ö. ve Sarıhan, E. (2003). Seyhan Baraj Gölü'ndeki Aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758) ve Sudak (*Stizostedion lucioperca* L. 1758)'larda Fe, Zn, Cd düzeylerinin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **20**: 69-74.
- Guevara, S.R., Bubach, D., Vigliano, P., Lippolt, G. and Arribere, M. (2004). Heavy metal and other trace elements in native mussel *Diplodon chilensis* from Northern Patagonia Lakes, Argentina. *Biological Trace Element Research*, **102**: 245-263.

- Gundacker, C. (1999). Tissue-specific heavy metal (Cd, Pb, Cu, Zn) deposition in a natural population of the zebra mussel *Dreissena polymorpha* Pallas, *Chemosphere* **38**: 3339-3356.
- Guy, R.H., Hostynek, J.J. and Hinz, R.S. (1999). *Metals and the skin: topical effects and systemic absorption*, CRC Press, New York, United States, 325-344.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1999). *Free radicals in biology and medicine*. 3rd ed. Oxford University Press, New York, 936.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*, 5th ed.; Oxford University Press: New York, USA.
- Hamed, R.R., Farid, N.M., Elowa, S.H.F. and Abdalla, A.M. (2003). Glutathione related enzyme levels of freshwater fish as bioindicators of pollution. *The Environmentalist*, **23**: 313-322.
- Haritonidis, S. and Malea, P. (1999). Bioaccumulation of metals by the green alga *Ulva rigida* from Thermaikos Gulf, Greece. *Environmental Pollution* **104**: 365-372.
- Harvey, M.S. (1998). *The Australian water mites: a guide to families and genera*. csiro publishing, 4. Edition, Collingwood, Australia.
- Hausling, M., Jorns, C.A., Lehmbecker, G., Hecht-Buchholz, C. and Marschner, H. (1988). Ion and water uptake in relation to root development of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst), *Journal Plant Physiology*, **133**: 486-491.
- Havens, K.E. (1993). Acid and aluminum effects on the survival of littoral macro-invertebrates during acute bioassays. *Environmental Pollution*, **80**: 95-100.
- He, J. and Chen, J.P. (2014). A comprehensive review on biosorption of heavy metals by algal biomass: materials, performances, chemistry, and modeling simulation tools, *Bioresource Technology*, **160**: 67-78.
- Heath, A.G. (1995). *Water Pollution and Fish Physiology*. 2. Baski, CRC Press Inc., Florida, **359**.
- Hermes-Lima, M., Storey, J.M. and Storey, K.B. (2001). Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress. *In Cell and*

Molecular Response to Stress, **2**: 263-287.

- Hegedüs A., Erdei, S. and Horváth, G. (2001). Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress, *Plant Science*, **160**: 1085-1093.
- Hickeys, C.W. and Clements, W.H. (1998). Effect of heavy metals on benthic macroinvertebrate communities in New Zealand streams, *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, **17**: 2338-2346.
- Hoy, M.A. (2011). *Agricultural Acarology: Introduction to Integrated Mite Management*. CRC Press, Florida, USA.
- Hoyle, I., Shaw, B.J. and Handy, R.D. (2007). Dietary copper exposure in the african walking catfish, *Clarias gariepinus*: transient osmoregulatory disturbances and oxidative stress. *Aquatic Toxicology*, **83**: 62-72.
- Ip, C.C.M., Li, X.D., Zhang, G., Wong, C.S.C. and Zhang, W.L. (2005). Heavy metal and Pb isotopic compositions of aquatic organisms in the Pearl River estuary, South China. *Environmental Pollution*, **138**: 495-505.
- Işık, İ. (2007). Bazı zirai mücadele ilaçlarının balıkların solungaç karaciğer ve kas dokularındaki antioksidan enzim aktivitelerinin glutasyon ve lipid peroksidasyon seviyeleri üzerine etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Sivas.
- İlhan, A.İ., Dündar, C., Öz, N.ve Kılınç, H. (2006). Hava kirliliği ve asit yağmurlarının çevre ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Meteoroloji genel müdürlüğü yayınları*, 5-8.
- İnan, V. ve Uysal, H. (1995). Batı Anadolu Gölleri'nde (Apolyon, Manyas, Eğirdir, Çivril ve Marmara) yaşayan tatlısu ıstakozunda (*A. Ieptodactylus* ESCH, 1823) bazı ağır metal birikimleri ve bu elementlerin toksik etkilerinin araştırılması. *Turkish Journal of Biology*, **19**: 55-65.
- Jeppson, L.R., Keifer, H.H. and Barker, E.W. (1975). *Mites Injurious to Economic Plants*. University of California Press, California, USA.
- Jiminez, B.D. and Stegeman, J.J. (1990). Detoxification enzymes as indicator of environmental stress on fishes. *In American Fish Society Symposium*, **8**: 69-79.

- Kahle, J. and Zauke, G.P. (2003). Trace metals in Antarctic copepods from the Weddell Sea (Antarctica). *Chemosphere*, **51**: 409-417.
- Kalay, M. and Canlı, M. (2000). Elimination of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) metals from tissues of a freshwater fish *Tilapia zilli*. *Turkish Journal of Zoology*, **24**: 429-436.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A. ve Timur, S. (2001). Metallerin çevresel etkileri-I. *Metalurji dergisi*, **136**: 47-53.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A. ve Timur, S. (2006). Metallerin çevresel etkileri. İTÜ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü.
- Kalay, M., Koyuncu, C.E. and Dönmez, A.E. (2004). Comparison of Cd levels in the muscle and liver tissues of *Mullus barbatus* and *Sparus aurata* caught from the Mersin Gulf, (In Turkish). *Ekoloji Çevre Dergisi*, **13**: 23-27.
- Kaptan, H. ve Tekin-Özan, S. (2014). Eğirdir Gölü'nün (Isparta) suyunda, sedimentinde ve gölde yaşayan Sazan'ın (*Cyprinus carpio* L., 1758) bazı doku ve organlarındaki ağır metal düzeylerinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, **9**: 44-60.
- Karataş, S. ve Kalay, M. (2002). *Tilapia zilli*'nin solungaç, karaciğer, böbrek ve beyin dokularında kurşun birikimi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **26**, 471-477
- Kasnak, C. ve Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, **3**: 226-234.
- Katalay, S. and Parlak, H. (2004). The effects of cadmium on erythrocyte structure of black goby (*Gobius niger* L,1758). *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **21**: 99-102.
- Katalay, S., Parlak, H. ve Arslan, Ö.Ç. (2005). Ege Denizi'nde yaşayan kaya balıklarının (*Gobius niger* L., 1758) karaciğer dokusunda bazı ağır metallerin birikimi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **22**: 385-388.
- Kaya, H. (2012). *Tilapia*'da (*Oreochromis mossambicus*) kurşun toksisitesi: oksidatif

- stres ve bazı fizyolojik etkiler. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Doktora Tezi.
- Kaya, H., Selvi, K., Akbulut, M., Duysak, M. ve Aydın, F. (2013). Kirli ve temiz bölgelerden toplanan *Dreissena polymorpha* bireylerinde ağır metal birikimi ve oksidatif stres duyarlılığının belirlenmesi. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, **1**: 9-14.
- Kayhan, F.E., Balkıs, N. ve Aksu, A. (2006). İstanbul balık halinden alınan Akdeniz midyelerinde (*Mytilus galloprovincialis*) arsenik düzeyleri. *Ekoloji*, **61**: 1-5.
- Kayhan, F.E., Gülsoy, N., Balkıs, N. and Yüce, R. (2007). Cadmium and lead levels of Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Bosphorus, İstanbul, Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **10**: 915-919.
- Kayhan, F.E., Muşlu, M.N. ve Koç, N.D. (2009). Bazı ağır metallerin sucul organizmalar üzerinde yarattığı stres ve biyolojik yanıtlar. *Journal of Fisheries Sciences*, **3**: 153-162.
- Kazancı, G., Girgin, S., Dügel, M. ve Oğuzkurt, D. (1997). Akarsuların çevre kalitesi yönünden değerlendirilmesinde ve izlenmesinde biyotik indeks yöntemi. *İmaj Yayıncılık*. 100.
- Kazancı, G. and Dügel, M. (2000). An evaluation of the water quality of Yuvarlakçay stream, in the Köyceğiz-Dalyan protected area, SW Turkey, *Turkish Journal of Zoology*, **24**: 69-80.
- Keha, E. ve Küfrevioğlu, Ö.İ. (2004). Biyokimya, Aktif Yayınevi, Erzurum.
- Khamar, M., Bouya, D. and Ronneau, C. (2000). Methalic and organic pollutants associated with urban wastewater in the waters and sediments of a Moroccan river, *Water Quality Research Journal of Canada*, **35**:147-161.
- Kime, D.E. (1998). Endocrine disruption in fish, Boston: Kluwer academic publishers. 396.
- Kirubakaran, R. and Joy, K.P. (1992). Toxic effects of mercury on testicular activity in the freshwater teleost, *Clarias batrachus*. *Journal of Fish Biology*, **41**: 305-315.
- Kitman, J.L. (2000). The secret history of lead. *Nation-New York*, **270**: 11-11.

- Koboza, K. (2018). Aras Nehri'nden (Erzurum) örneklenen tatlı su midyesinde (*Unio Crassus*) deneysel ortamda kurşun ıı asetat birikim düzeylerinin araştırılması. Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
- Kocatürk-Döngel, A.K. (2010). Kurşun (II) nitrata maruz bırakılan sazan balıklarının LC50 değerinin belirlenmesi ve bazı kan parametrelerinin incelenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Konanz, S. and Nauen, R. (2004). Purification and partial characterization of a glutathione S-transferase from the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **79**: 49-57.
- Kötemen, Y. ve Kargın, F. (2013). *Oreochromis niloticus*'da karaciğer, böbrek, solungaç ve kas dokularında kurşunun birikimi üzerine çinkonun etkisi. *Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 29-3.
- Köck, G., Triendl, M. and Hofer, R. (1996). Seasonal patterns of metal accumulation in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) from an oligotrophic Alpine lake related to temperature. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **53**: 780-786.
- Krantz, G.W. and Walter D.E. (2009). A manual of acarology: third edition. Texas Tech University Press, Lubbock, Texas.
- Kristensen, P. and Hansen, H.O. (1994). European rivers and lakes, assessment of their environmental state. *European Environmental Agency, EEA environmental monographs*, **1**: 122.
- Kumar, A. and Mathur, R.P. (1996). Bioconcentration kinetics and organ distribution of cadmium in a fresh water teleost *Colisafasciatus*. *Environmental Technology*, **17**: 391-398.
- Küçükgülmez, A. (2005). Akyatan Lagün'ünden avlanan pastörize edilmiş mavi yengeç (*Callinectes sapidus*, Rathbun, 1896) etinin ağır metal ve mineral madde içerikleri. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.

- Labrot, F., Narbonne, J.F., Ville, P., Denis, M. and Ribera, D. (1999). Acute toxicity, toxicokinetics, and tissue target of lead and uranium in the clam *Corbicula fluminea* and the Worm *Eisenia fertida*: comparison with the fish *Brachydanio rerio*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, **36**: 167-178.
- Lahn, E. (1948). A study about the geology and geomorphology of the lakes of Turkey, *MTA Institute Publications, Series B*, No **12**, Ankara.
- Landberg, T. and Greger, M. (2002). Differences in oxidative stress in heavy metal resistant and sensitive clones of *Salix viminalis*. *Journal Plant Physiology*, **159**: 69-75.
- Lemaire, P., Matthews, A., Forlin, L. and Livingstone, Dr. (1994). Stimulation of oxyradical production of hepatic microsomes of flounder (*Platichthys flesus*) and perc (*Perca fluviatilis*) by model and pollutant xenobiotics. *Archives of environmental contamination and toxicology*, **26**: 191-200.
- Lenhardt, M. (1992). Seasonal changes in some blood chemistry parameters and in relative liver and gonad weights of pike (*Esox lucius*) from the River Danube, *Journal of Fish Biology*, **40**: 709-718.
- Livingstone, D.R. (2001). Contaminated-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin Journal*, **42**: 656-666.
- Livingstone, D.R. (2003). Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue De Medecine Veterinaire*, **154**: 427-430.
- Lo, W.J., Chiou, Y.C., Hsu, Y.T., Lam, W.S., Chang, M.Y., Jao, S.C. and Li, W.S. (2007). Enzymatic and nonenzymatic synthesis of glutathione conjugates: application to the understanding of a parasite's defense system and alternative to the discovery of potent Glutathione S-Transferase inhibitors. *Bioconjugate Chemistry*, **18**: 109-120.
- Lopes, P.A., Pinheiro, T., Santos, M.C., da Luz Mathias, M., Collares-Pereira, M.J. and Viegas-Crespo, A.M. (2001). Response of antioxidant enzymes in freshwater fish populations (*Leuciscus alburnoides complex*) to inorganic pollutants exposure. *Science of the total environment*, **280**: 153-163.

- Martin, P. and Smit, H. (2002). The larval morphology and host of the Australian water mite *Limnochares australica* (Acari: Hydrachnidia: Limnocharidae). *Records of the Western Australian Museum*, **20**: 409-414.
- Martin, P. (2003). Larval morphology of spring-living water mites (Hydrachnidia, Acari) from the Alps. In *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology* **39**: 363-393.
- Martin, P. and Stur, E. (2006). Parasite-host associations and life cycles of spring-living water mites (Hydrachnidia, Acari) from Luxembourg. *Hydrobiologia*, **573**: 17-37.
- Martin, P. and Gerecke, R. (2009). Diptera as hosts of water mite larvae-an interesting relationship with many open questions. *Lauterbornia*, **68**: 95-103.
- Mascher, R., Lippmann, B., Holzinger, S. and Bergmann, H. (2002). Arsenate toxicity: effects on oxidative stress response molecules and enzymes in red clover plants, *Plant Science*, **163**: 961-969.
- Massey, V. and Willams, C.H. (1965). On the reaction mechanism of yeast Glutathione Reductas. *Journal of Biological Chemistry*, **240**: 4470-4480.
- Masters, G.M. and Ela, W.P. (1991). *Introduction to environmental engineering and science* (Vol. 3). Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.
- Masoumi, F., Khadivinia, E., Alidoust, L., Mansourinejad, Z. and Shahryari, S. (2016). Nickel and lead biosorption by *Curtobacterium* sp. FM01, an indigenous bacterium isolated from farmland soils of northeast Iran, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **1**: 950–957.
- Meister, A. (1994). The glutathione-ascorbic acid antioxidant systems in animal. *Journal of Biological Chemistry*, **269**: 9397-9400.
- Meng, J.Y., Zhang, C.Y., Zhu, F., Wang, X.P. and Lei, C.L. (2009). Ultraviolet light-induced oxidative stress: effects on antioxidant response of *Helicoverpa armigera* adults. *Journal of Insect Physiology*, **55**: 588-592.
- Menegazzi, M., Prati, A.C., Ogurab, T., Columbano, A., Columbano, G.M.L., Libonati, M., Esumib, H. and Suziki, H. (1992). Involvement of DNA polymerase beta in proliferation of rat liver induced by lead nitrate or partial hepatectomy. *Federation*

of European Biochemical Societies, **310**: 135-138.

Mert, N. (1996). Veteriner Klinik Biyokimya, UÜ G Vakfı Yayın No: 16.

Metcalfe, J.L. (1998). Biological water quality assessment of running waters based on Macroinvertebrate communities: history and present status in Europe, *Environmental pollution*, **60**: 101-139.

Moreira, E.G., Magalhaes Rosa, G.J., Barros, S.B.M., Vassilieff, V S. and Vassillieff, I. (2001). Antioxidant defense in rat brain regions after developmental lead exposure, *Toxicology*, **169**: 145-151.

Morosanu, I., Teodosiu, C., Paduraru, C., Ibanescu, D. and Tofan, L. (2017). Biosorption of lead ions from aqueous effluents by rapeseed biomass, *New Biotechnology*, **39**: 110-124.

Mruk, D.D., Silvestrini, B., Meng-yun, Mo. and Cheng, C.Y. (2002). Antioxidant superoxide dismutase a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility, *Contraception*, **65**: 305-311.

Nayak, B.N., Ray, M., Persaud, T.V.N. and Nigli, M. (1989). Relationship of embryotoxicity to, genotoxicity of lead nitrate in mice. *International Journal of Experimental Pathology*, **36**: 65-73.

Nriagu, J. (1983). Saturnine gout among roman aristocrats: Did lead poisoning contribute to the fall of the empire? *Ne J M*, **308**.

Núñez-Nogueira, G. (2013). Ni accumulation and regulation after experimental exposure to a Cd, Pb, and Zn mixture in the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. *Water, Air, & Soil Pollution*, **224**: 1644.

Olsvik, P.A., Gundersen, P., Andersen, R.A. and Zachariassen, K.E. (2001). Metal accumulation and metallothionein in two populations of brown trout, *Salmo trutta*, exposed to different natural water environments during a run-off episode. comparative biochemistry and physiology, *Toxicology and Pharmacology*, **128**: 189-201.

- Okçu, M., Tozlu, E., Kumlay, A.M. ve Pehlivan, M. (2009). Ağır metallerin bitkiler üzerine etkileri. *Alınleri Zirai Bilimler Dergisi*, **17**: 14-26.
- Özdemir, M.A., Aşçı, F. and Bahadır, M. (2010). The effect of climatic factors of Karamık and Acıgöl Lakes on the distribution of the species of water mites (Acari, Hydrachnida). *Journal of Biology and Life Sciences*, **1**: 27-35.
- Özdemir, Z.K. (2014). Kocabaş Çay'ındaki (Çanakkale) evsel ve endüstriyel kirliliğin tatlı su kefali (*Leuciscus cephalus* L. 1758) üzerindeki etkilerinin biyomarkırlar kullanılarak araştırılması. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale.
- Özhan, D. (2007). Karakaya Baraj gölü su kalitesinin zooplankton kompozisyonu ile değerlendirilmesi. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Malatya.
- Özmen, H., Külahçı, F., Çukurovalı, A. and Doğru, M. (2004). Concentrations of heavy metal and radioactivity in surface water and Sediment of Hazar Lake (Elazığ, Turkey). *Chemosphere*. **55**: 401-408.
- Preza, D.L.C and Smith, D.H. (2001). Use of newborn *Girardia tigrina* (Girard, 1850) in acute toxicity tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **50**: 1-3.
- 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*. *Science of the total environment*, **309**: 105-115.
- Panesar, A.R. (2000). Evolution in water mites (Hydrachnellae, Actinedida, Acari) and a new taxonomy of the Antisitsiellidae-Limnesiidae-Complex: A Revision of the Antisitsiellidae Koenike, 1910 (Doctoral dissertation, Verlag nicht ermittelbar).
- Patra, R.C., Swarup, D. and Dwivedi, S.K. (2001). Antioxidant effects of a tocopherol, ascorbic acid and l-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology*, **162**: 81-88.
- Pennak, R.W. (1991). Fresh-water invertabrates of united state protozoa to mollusca. a wiley-interscience publication, 3. edition, Colorado, USA.

- Pinto, E., Sigaud-Kutner, T.C., Leitaó, M.A, Okamoto, O.K., Morse, D. and Colepicolo, P. (2003). Heavy metal-induced oxidative stress in algae. 1. *Journal of phycology*, **39**: 1008-1018.
- Proctor, H.C. and Garga, N. (2004). Red, distasteful water mites: did fish make them that way? *Experimental and Applied Acarology*, **34**: 127-147.
- Qadir, S., Qureshi, M.I., Javed, S. and Abdin, M.Z. (2004). Genotypic variation in phytoremediation potential of *Brassica juncea* cultivars exposed to Cd stress, *Plant Sciences*, **167**: 1171-1181.
- Rainbow, P.S. and Phillips, D.J.H. (1993). Cosmopolitan Biomonitors of Trace Metals, *Marine Pollution Bulletin*, **11**: 593-601.
- Rainbow, P.S. (1995). Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment, *Marine Pollution Bulletin*, **31**: 183-192.
- Rainbow, P.S. (1997). Trace metal accumulation in marine invertebrates: marine biology or marine chemistry? *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **77**: 195-210.
- Reddy, A.M., Kumar, S.G., Jyothsnakumari, G., Thimmanaik, S. and Sudhakar, C. (2005). Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (*Macrotyloma uniflorum*) and bengalgram (*Cicer arietinum* L.). *Chemosphere*, **60**: 97-104.
- 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.
- Reish, D.J. and LeMay, J.A. (1991). Toxicity and bioconcentration of metals and organic compounds by Polychaeta. *OPHELIA International Journal of Marine Biology, Supplement*, **5**: 653-660.
- Rubio, B., Nombela, M.A. and Vilas, F. (2000). Geochemistry of major and trace elements in sediments of the ría de vigo (NW Spain): an assessment of metal pollution. *Marine Pollution Bulletin*, **40**: 968-980.

- Ruzitti, M., Carla, C.E., Montinari, M.R., Maietta, G. and Dini, L. (1999). Modulation of cell surface expression of liver carbohydrate receptors during in vivo induction of apoptosis with lead nitrate. *Springer-Verlag*, **298**: 105-112.
- Sağlamtimur, B., Cicik, B. and Erdem, C. (2003), Effects of different concentrations of Cu alone and Cu⁺, Cd mixture on the accumulation of Cu in the gill, liver, kidney and muscle tissues of *Oreochromis niloticus*. (In Turkish). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **27**: 813-820.
- Saliu, J.K. and Bawa-Allah, K.A. (2012). Toxicological effects of lead and zinc on the antioxidant enzyme activities of post juvenile *Clarias gariepinus*. *Resources and Environment*, **2**: 21-26.
- Schützendübel, A., Nikolova, P., Rudolf, C. and Polle, A. (2002). Cadmium and H₂O₂ induced oxidative stress in *Populus canescens* roots, *Plant Physiology and Biochemistry*, **40**: 577-584.
- Selvi, K. (2012). Umurbey Çayı ve barajında (Çanakkale) suda, sedimentte, bazı makro omurgasız canlılarda ağır metal birikimi ve toksisitesi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Çanakkale.
- Seng, C.E., Lim, P.E., Chong, P.K. and Wong, L.M. (1995). Heavy metal pollution in sediments and waters of the Penang River, Malaysia. *Water Quality Research Journal*, **30**: 39-44.
- Shah, K., Kumar, R.G., Verma, S. and Dubey, R.S. (2001). Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings, *Plant Science*, **161**: 1135-1144.
- Shalan, M.G., Mostafa, M.S., Hassouna, M.M., Hassab El-Nabi, S.E. and El- Refaie, A. (2005). Amelioration of lead toxicity on rat liver with vitamin C and silymarin supplements. *Toxicology*, **206**: 11-15.
- Sharma, P. and Dubey, R.S. (2004). Ascorbate peroxidase from rice seedlings: properties of enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of osmolytes. *Plant Science*, **167**: 541-550.

- Sharma, P. and Dubey, R.S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian journal of plant physiology*, **17**: 35- 52.
- Sharma, N.C., Sahi, S.V. and Jain, J.C. (2005). *Sesbania drummondii* cell cultures: ICP-MS determination of the accumulation of Pb and Cu, *Microchemical. Journal*, **81**:163-169.
- Shaw, B.P. (1995). Effects of mercury and cadmium on the activities of antioxidative enzymes in the seedlings of *Phaseolus aureus*, *Biologia Plantarum*, **37**: 587-596.
- Sheata, S.A., Lasheen, M.R., Kobbia, I.A. and Ali, G.H. (1999). Toxic effect of certain metals mixture on some physiological and morphological characteristics of freshwater algae, *Water, Air, and Soil Pollution*, **110**: 119-135.
- Sheedy, B.R., Lazorchak, J.M., Grunwald, D.J., Pickering, Q.H., Pilli, A., Hall, D. and Webb, R. (1991). Effects of pollution on freshwater organisms. *Research journal of the water pollution control federation*, **63**: 619-696.
- Sheng, P.X., Ting, Y.P. and Chen, J.P. (2007), Biosorption of heavy metal ions (Pb, Cu, and Cd) from aqueous solutions by the marine alga *Sargassum sp.* in single and multiple metal systems, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **46**: 2438-2444.
- Sies, H. (1993). Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry*, **215**: 213-9.
- Singh, H.S. and Reddy, T.V. (1990). Effect of copper sulfate on hematology, blood chemistry, and hepatosomatic index of an indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), and its recovery. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **20**: 30-35.
- Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Gartner, F.H., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J. and Klenk, D.C. (1985). Bikininonik asit kullanılarak protein ölçümü. *Analytical Biochemistry*, **150**: 76-85.
- Smith, B.P. (1998). Loss of larval parasitism in parasitengonine mites. *Experimental and Applied Acarology*, **22**: 187-199.

- Solimini, A.G., Gulia, P., Monfrinotti, M. and Carchini, G. (2000). Performance of different biotic indices and sampling methods in assessing water quality in the lowland stretch of the Tiber river, *Hydrobiologia*, **422/423**: 197-208.
- Sorvari, J. and Sillanpää, M. (1996). Influence of metal complex formation on heavy metal and free EDTA and DTPA acute toxicity determined by *Daphnia magna*, *Chemosphere*, **33**: 1119-1127.
- Southorn, P.A. and Powis, G. (1988). Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clinic Proceedings*, **63**: 381-9.
- Sönmez, A.Y., Hisar, O., Karataş, M., Arslan, G. ve Aras, M.S. (2008). *Sular Bilgisi, Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi*, Nobel Basımevi, **64**: 201. Ankara.
- Stohs, S.J. and Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metals ions. *Free Radical Biology and Medicine*, **2**: 321-336.
- Strmack, M. and Braunbeck, T. (2000). Isolated hepatocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a tool to discriminate between differently contaminated small river system, *Toxicol. In vitro*, **14**: 361-377.
- Swadis, T., Brown M. T., Zachariadis, G. and Sratis, I. (2001). Trace metal concentrations in marine macroalgae from different biotopes in the Aegean Sea. *Environment International*, **27**: 43-47.
- Szefer, P., Geldon, J., Anis, A.A., Paez, O.F., Ruiz-Fernandes, A.C. and Guerrero-Galvan, S.R. (1998). Distribution and association of trace metals in soft tissue and byssus of *Mytella strigata* and other benthic organisms from Mazatlan harbour, mangrove lagoon of the northwest coast of Mexico. *Environment International*, **24**: 359-374.
- Şahin, M. (2011). *Oreochromis niloticus*'da kurşun toksisitesinin azalmasında zeolitin etkisi, Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kilis.
- Tao, S., Liu, C., Dawson, R., Cao, J. and Li, B. (1999). Uptake of Particulate lead via the gills of fish (*Carassius auratus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **37**: 352-357.

- Taşar, Ş., Kaya, F. and Özer, A. (2014). Biosorption of lead (II) ions from aqueous solution by peanut shells: equilibrium, thermodynamic and kinetic studies, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **2**: 1018-1026.
- Taylan, Z. ve Özkoç H. (2007). Potansiyel ağır metal kirliliğinin belirlenmesinde akuatik organizmaların biokullanılabilirliği. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **9**: 17-33.
- Tewari, R.K., Kumar, P., Sharma, P.N. and Bisht, S.S. (2002). Modulation of oxidative stress responsive enzymes by excess cobalt. *Plant Science*, **162**: 381-388.
- TGK. (1997). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, *Dünya Yayıncılık*, İstanbul, Türkiye, 214.
- Thorne, R.S. and Williams, W.P. (1997). The response of benthic macroinvertebrate to pollution in developing countries: A multimetric system of bioassessment, *Freshwater Biology*, **13**: 57-73.
- Timofeyev, M.A., Shatilina, Z.M. and Bedulina, D.S. (2008). Evaluation of biochemical responses in Palearctic and Lake Baikal endemic amphipod species exposed to CdCl₂. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **70**: 99-105.
- Tripathi, B.N., Mehta, S.K., Amar, A. and Gaur, J.P. (2006). Oxidative stress in *Scenedesmus* sp. during short and long-term exposure to Cu²⁺ and Zn²⁺. *Chemosphere*, **62**: 538-544.
- Topçuoğlu, S., Güven, K.C., Kırbaoğlu, Ç., Güngör, N., Ünlü, S. and Yılmaz, Y.Z. (2001). Heavy metals in marine algae from Şile in the Black Sea, 1994-1997. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*. **67**: 288-294.
- Toramanoğlu, M. (1998). *Gammarus pulex*'te çeşitli çevresel kirleticilerin meydana getirdikleri enzimsel değişiklikler. Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.
- Türkmen, A. (2003). İskenderun Körfezi'nde deniz suyu, askıdaki katı madde, sediment ve dikenli taş istiridyesi'nde (*Spondylus Spinosus Schreibers*, 1793) oluşan ağır metal birikimi üzerine araştırma. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.

- Türkoğlu, M. (2008). Van Gölü'nden alınan su, sediment ve inci kefalı (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811) örneklerinde bazı ağır metal düzeylerinin araştırılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van.
- Uraguchi, S., Watanabe, I., Yoshitomi, A., Kiyono, M. and Kuno, K. (2006). Characteristics of cadmium accumulation and tolerance in novel Cd-accumulating crops, *Avena strigosa* and *Crotalaria juncea*. *Journal of Experimental Botany*, **57**: 2955-2965.
- Ustaoğlu, M.R., Balık, S. ve Özbek, M. (2001). Işıklı Gölü (Çivril-Denizli)'nün Mollusca Faunası. *Su Ürünleri Dergisi*, **18**.
- Uysal, G. (2005). Karamık gölü su keneleri (Acari; Hydrachnellae) üzerine sistematik bir çalışma. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar.
- Uzunoglu, O. (1999). Gediz Nehri'nden alınan su ve sediment örneklerinde bazı ağır metal konsantrasyonlarının belirlenmesi. Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Manisa.
- Vacante, V. (2010). Citrus mites: İdentification, *Biomy and Control*. MPG Books Group, Preston, UK.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. Ans Scoullou, M. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and environmental safety*, **64**: 178-189.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. The international journal of biochemistry & cell biology*, **39**: 44-84.
- Van der Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N.P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, **13**: 57-149.
- Verma, S. and Dubey, R.S. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters

the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science*, **164**: 645-655.

Viets, K. (1956). *Die Milben des Süßwassers und des Meeres. Hydrachnellae et Halacaridae* (Acari), Bibliographie, Katalog Nomenklator, Veb Gustav Fischer Verlag, Jena.

Vuori, K.M. and Kukkonen, J. (1996). Metal concentrations in *Hydropsyche pellucidula* larvae (Trichoptera, Hydropsychidae) in relation to the anal Papillae Abnormalities and Age of Exocuticle, *Water Research*, **30**: 2265-2272.

Vural, H. (1993). Ağır metal iyonlarının gıdalarda oluşturduğu kirlilikler. *Çevre Dergisi*, **3**: 4-6.

Walker, C.H. (1995). Biochemical biomarkers in ecotoxicology-some recent developments. *The Science of The Total Environment*, **171**: 189-195.

Walker, W.M., Miller, J.E. and Hassett, J.J. (1977). Effect of lead and cadmium upon the calcium, magnesium, potassium and phosphorus concentration in young corn plants. *Soil science*, **124**: 145-151.

Wang, W.X. and Fisher, N.S. (1999). Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates. *The Science of Total Environment*, **237**: 459-472.

Wang, Z., Yan, C. and Zhan, X. (2009). Acute and chronic cadmium toxicity to a saltwater cladoceran *moina monogolica* daday and its relative importance, *Ecotoxicology*, **18**: 47-54.

Whiles, M.R., Brock, B.L., Franzen, A.C. and Dinsmore, S.C. (2000). Stream invertebrate communities, water quality and land-use pattern in an agricultural drainage basin of northeastern Nebraska, USA. *Environmental Management*, **26**: 563-576.

Williams, P.L. and Dusenbery, D.B. (1990). Aquatic toxicity testing using the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Environmental toxicology and chemistry*, **9**: 1285-1290.

- Yan, S.H., Wang, J.H., Zhu, L.S., Chen, A.M. and Wang, J. (2016). Thiamethoxam induces oxidative stress and antioxidant response in zebra fish (*Danio rerio*) livers, *Environmental Toxicology*, **31**: 2006-20015.
- Yarar, M. and Magnin, G. (1997). Important bird areas in Turkey (in Turkish). *Doğal Hayatı Koruma Derneği*, **313**.
- Yarsan, E., Bilgili, A. and Türel, I. (2000). Heavy metal levels in mussels (*Unio stevenianus krynicki*) obtained from Van Lake. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **24**: 93-96.
- Yazkan, M., Özdemir, F. ve Gölükcü, M. (2004). Antalya Körfezinde avlanan bazı yumuşakçalar ve karideste Cu, Zn, Pb ve Cd içeriği. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, **28**: 95-100.
- Yıldırım, H. (2016). Tatlısu ekosistemlerinde ağır metaller. Çağhan Ofset Matbaacılık Ltd. Şti. **15**: 128. Ankara.
- Yıldız, N. (2004). Toprak ve bitki ekosistemindeki ağır metaller. ZT-531. Yüksek Lisans Ders Notları. Erzurum.
- Yu, M.H. (2005). *Environmental toxicology*: Biological and health effects of pollutants. CRC press, Boca Raton.
- Zhang, Z. (2003). Mites of greenhouses: identification, biology and control. *CABI Publishing*, Wallingford, UK.
- Zacchini, M., Rea, E., Tullio, M. and Agazio, M. (2003). Increased antioxidative capacity in maize calli during and after oxidative stress induced by a long lead treatment, *Plant Physiology and Biochemistry*, **41**: 49-54.
- Zweig, L.D. and Rabeni, C.F. (2001). Biomonitoring for deposited using benthic invertebrates: a test on 4 Missouri streams, *Journal of the North American Benthological Society*, **20**: 643-657.
- Zyadah, M. and Chouikhi, A., (1999). Heavy metal accumulation in *M.barbatus*, *M.merluccius* and *B.boops* fish from Aegean Sea, Turkey. *International journal of food sciences and nutrition*, **50**: 429-434.

İnternet Kaynakları

- 1) <http://tr.wikipedia.org/wiki/kurşun/html>., Erişim Tarihi: 26.09.2016.
- 2) <http://microamaze.blogspot.com/2015/10/bicinchoninic-acid-bca-assay-for.html>, Erişim Tarihi: 29.5.2019.
- 3) Anonim. (2016). <http://tr.wikipedia.org/wiki/kurşun/html>. Erişim Tarihi: 26.09.2016.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nazife ALPASLAN
Doğum Yeri ve Tarihi : Antalya 16.06.1992
Yabancı Dili : İngilizce
İletişim (Telefon/e-posta) : 0546 489 03 42 / alpaslannazifenaz@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Akdeniz Lisesi, (2006-2010)
Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü,
(2010-2016)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Pi Analitik Dershanesi
Eğitimciler Kurs Merkezi

Yayınları (SCI ve diğer) :

1. Aşçı, F., Korcan E., Akkuş, G., Aydın, B. and Alpaslan, N. (2018). “Organize Sanayi Bölgesi (Uşak) Atıklarından Elde Edilen Küf İzolatının İdentifikasyonu ve Kurşun Toleransının Belirlenmesi” 24. Ulusal Biyoloji Kongresi Sözlü Bildiri.
2. Aşçı, F., Çetin, G. K., Alpaslan, N. ve Boyacı, Y. Ö. (2018). Türkiye Faunası İçin; Yeni Bir Su Kenesi Türü *Lebertia* (Pilolebertia) *pachydermis* Koenike, 1908 (Acari, Hydrachnidia) *Uşak Üniversitesi Fen ve Doğa Bilimleri Dergisi*.
3. Aşçı, F., Boyacı, Y. Ö., Alpaslan, N. ve Çetin, G. K. (2019). Türkiye Su Kenesi (Acari, Hydrachnidia) Faunası İçin Yeni Bir Kayıt; *Atractides gracilipes* (Angelier, 1951). *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Doğa Bilimleri Dergisi*.
4. Aşçı, F., Boyacı, Y. Ö., Çetin, G. K. ve Alpaslan, N. (2019). Türkiye Su Kenesi (Acari, Hydrachnidia) Faunası İçin Yeni Bir Tür; *Arrenurus* (Micruracarus) *biscissus*, *ACTA Aquatica* dergisi.
5. Ferruh Aşçı, Nazife Alpaslan, Gamze Kübra Çetin (2019). “Lead (Pb) applications in the species of water mites (Acari, Hydrachnidia) and determination of enzyme activities.” 3rd International Congress on Advances in

Bioscience and Biotechnology. Sözlü bildiri.

6. Ferruh Aşçı, Gamze Kübra Çetin, Nazife Alpaslan (2019). “Cadmium (Cd) applications in the species of water mites (Acari, Hydrachnidia) and determination of antioxidant enzyme activities”. 3rd International Congress on Advances in Bioscience and Biotechnology. Sözlü bildiri.

