

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Onur MARULDALI

**KURŞUN VE KURŞUN-SELENYUM'UN ETKİSİNE BIRAKILAN
OREOCHROMIS NILOTICUS (L.)'DA KURŞUNUN KARACİĞER,
BÖBREK, BEYİN VE SOLUNGAÇ DOKULARINDA BİRİKİMİ VE AChE
AKTİVİTESİNE ETKİSİ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2010

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KURŞUN VE KURŞUN-SELENYUM'UN ETKİSİNE BIRAKILAN
***OREOCHROMIS NILOTICUS* (L.)'DA KURŞUNUN KARACİĞER, BÖBREK,**
BEYİN VE SOLUNGAÇ DOKULARINDA BİRİKİMİ VE AChE
AKTİVİTESİNE ETKİSİ

Onur MARULDALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 13/09/2010 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

İmza:.....

Prof. Dr. Ferit KARGIN
DANIŞMAN

İmza:.....

Prof. Dr. İskender EMRE
ÜYE

İmza:.....

Doç. Dr. Ramazan BİLGİN
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: FEF2009YL56

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KURŞUN VE KURŞUN+SELENYUM'UN ETKİSİNE BIRAKILAN
OREOCHROMIS NILOTICUS (L.)'DA KURŞUNUN KARACİĞER, BÖBREK,
BEYİN VE SOLUNGAÇ DOKULARINDA BİRİKİMİ VE AChE
AKTİVİTESİNE ETKİSİ**

Onur MARULDALI

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

Danışman: Prof. Dr. Ferit KARGIN

Yıl:2010 , **Sayfa:** 52

Jüri: Prof. Dr. Ferit KARGIN

Prof. Dr. İskender EMRE

Doç. Dr. Ramazan BİLGİN

Bu araştırmada kurşun ve kurşun+selenyum karışımlarına bırakılan *Oreochromis niloticus*'da kurşunun dokularda birikimi ile AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Balıklar 7, 14 ve 28 gün sürelerle kurşunun 0.1 ve 1.0 Pb mg.L⁻¹ derişimlerine, kurşun + selenyum'un 0.1 Pb+0.5 Se ve 1.0 Pb+5.0 Se mg.L⁻¹ ortam derişimlerinin etkisine bırakılarak karaciğer, böbrek, beyin ve solungaç dokularında kurşun birikimi ile AChE enzim aktivitesine etkisi belirlenmiştir.

Bu çalışmada dokularda kurşun birikimi ortamda kurşun derişiminin artışı ve etkide kalınan sürenin uzamasıyla artmıştır. Kurşun birikimi en fazla böbrek dokusunda bulunmuş, bunu solungaç, karaciğer ve beyin dokusu izlemiştir. Denenen tüm şartlarda Pb+Se karışımına bırakılan balıkların dokularında Pb birikimi yalnız Pb'nun etkisine bırakılan balıklara oranla daha düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. Çalışılan tüm koşullarda Se *O. niloticus*'un tüm dokularında Pb birikimini önemli ölçüde azaltmıştır.

O. niloticus'da Pb ve Pb+Se karışımları AChE enzim aktivitesini böbrek, karaciğer ve solungaç dokularında azaltırken, beyin dokusunda ise artmasına neden olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Kurşun, Selenyum, Birikim, AChE , *Oreochromis niloticus*

ABSTRACT

MSc THESIS

<p>EFFECTS OF LEAD ON AChE ACTIVITY AND ACCUMULATION OF LEAD IN LIVER, KIDNEY, BRAIN AND GILL TISSUES OF <i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i> EXPOSED TO LEAD AND LEAD+SELENIUM COMPLEX</p>
--

Onur MARULDALI

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

Supervisor: Prof. Dr. Ferit KARGIN

Year:2010 , **Pages:** 52

Jury: Prof. Dr. Ferit KARGIN

Prof. Dr. İskender EMRE

Assoc. Prof Dr. Ramazan BİLGİN

In this study, effects of lead on AChE enzyme activity and accumulation in tissues of *Oreochromis niloticus* were investigated in both Pb and Pb+Se mixtures. The fish were exposed to 0.1 mg L⁻¹ and 1.0 mg L⁻¹ Pb and 0.1 mg. L⁻¹ Pb+0.5 mg. L⁻¹ Se and 1.0 mg. L⁻¹ Pb+5.0 mg. L⁻¹ Se mixtures for 7, 14 and 28 days to observe lead accumulation and AChE enzyme activities in kidney, liver, brain and gill tissues.

In this study, lead accumulation in tissues increased with increasing concentrations of lead in the medium and exposure period. Highest accumulation occurred in the kidney followed by gill, liver and brain. In all the concentrations tested, lead accumulation in the tissues of fish exposed to Pb+Se mixtures were lower when compared to those exposed to lead only. In all conditions, Se significantly reduced the accumulation of lead in the tissues of *O. niloticus*.

In *O. niloticus*, Pb and Pb+Se mixtures caused a decrease in AChE activity in the kidney, liver and gill tissues while it caused an increase in brain tissue.

Key Words: Lead, Selenium, Accumulation, AChE, *Oreochromis niloticus*

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın her aşamasında bilimsel desteğini ve öngörülerini hiç esirgemeyen sayın hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Ferit KARGIN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında bana her türlü yardım ve desteğini veren sayın Yrd. Doç.Dr. Hikmet Yeter ÇOĞUN'a çok teşekkür ederim. Yine yardımlarından dolayı sayın Arş. Gör. Tüzin AYTEKİN YÜZEREROĞLU, Uzman Biyolog Sabahattin ASLANYAVRUSU ve Arş. Gör. Gülbin GÖK'e teşekkür ederim.

Bu güne kadar bana her türlü desteği sağlayan ve kararlarımda her zaman yanımda olan başta canım anneme , aileme , tekrar Prof. Dr. Ferit KARGIN'a beni yetiştiren tüm hocalarıma ve canım dostlarıma da teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
3. MATERYAL VE METOD.....	9
4. BULGULAR.....	13
4.1. Kurşun Düzeyleri	13
4.2. Pb ve Pb + Se Karışımının Asetilkolinesteraz Aktivitesi Üzerine Etkileri	24
4.2.1. Karaciğer Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi	24
4.2.2. Böbrek Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi	27
4.2.3. Solungaç Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi.....	31
4.2.4 Beyin Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi.....	34
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	39
KAYNAKLAR.....	47
ÖZ GEÇMİŞ.....	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 4.1. Çizelge 4.1 <i>O niloticus</i> 'da farklı ortam derişimlerinde 7. günde doku ve organlarındaki kurşun birikimi ($\mu\text{g/g}$ k.a.).....	14
Çizelge 4.2. <i>O niloticus</i> 'da farklı ortam derişimlerinde 14. günde doku ve organlarındaki kurşun birikimi ($\mu\text{g/g}$ k.a.).....	15
Çizelge 4.3. <i>O niloticus</i> 'da farklı ortam derişimlerinde 28. günde doku ve organlarındaki kurşun birikimi ($\mu\text{g/g}$ k.a.).....	15
Çizelge 4.4. Kurşun ve kurşun + selenyum karışımının etkisine 7 günlük süreyle bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g}$ k.a.).....	16
Çizelge 4.5. Kurşun ve kurşun + selenyum karışımının etkisine 14 günlük süreyle bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g}$ k.a.).....	17
Çizelge 4.6. Kurşun ve kurşun + selenyum karışımının etkisine 28 günlük süreyle bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g}$ k.a.).....	18
Çizelge 4.7. <i>O. niloticus</i> 'da $0.1 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pb}$ ve $0.1 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pb}+0.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ Se}$ ortam derişimlerinin karaciğer AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.....	24
Çizelge 4.8. <i>O. niloticus</i> 'da $1.0 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pb}$ ve $1.0 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pb}+5 .0 \text{ mg L}^{-1} \text{ Se}$ ortam derişimlerinin karaciğer AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.....	25
Çizelge 4.9. <i>O. niloticus</i> 'da $0.1 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pb}$ ve $0.1 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pb}+0.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ Se}$ ortam derişimlerinin böbrek AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.....	28
Çizelge 4.10 <i>O. niloticus</i> 'da $1.0 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pb}$ ve $1.0 \text{ mg L}^{-1} \text{ Pb}+5 .0 \text{ mg L}^{-1} \text{ Se}$ ortam derişimlerinin böbrek AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.....	28

Çizelge 4.11	<i>O. niloticus</i> 'da 0.1 mg L ⁻¹ Pb ve 0.1 mg L ⁻¹ Pb+0.5 mg L ⁻¹ Se ortam derişimlerinin solungaç AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.....	31
Çizelge 4.12	<i>O. niloticus</i> 'da 1.0 mg L ⁻¹ Pb ve 1.0 mg L ⁻¹ Pb+5 .0 mg L ⁻¹ Se ortam derişimlerinin solungaç AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.....	32
Çizelge 4.13	<i>O. niloticus</i> 'da 0.1 mg L ⁻¹ Pb ve 0.1 mg L ⁻¹ Pb+0.5 mg L ⁻¹ Se ortam derişimlerinin beyin AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.....	35
Çizelge 4.14	<i>O. niloticus</i> 'da 1.0 mg L ⁻¹ Pb ve 1.0 mg L ⁻¹ Pb+5 .0 mg L ⁻¹ Se ortam derişimlerinin beyin AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.....	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. Kurşun derişimi ve absorbands arasındaki doğrusal ilişki.	13
Şekil 4.2. <i>O. niloticus</i> 'da beyin dokusunda kurşun birikimi üzerine selenyum ortam derişimleri ve sürenin etkisi.....	20
Şekil 4.3. <i>O. niloticus</i> 'da karaciğer dokusunda kurşun birikimi üzerine selenyum ortam derişimleri ve sürenin etkisi.....	21
Şekil 4.4. <i>O. niloticus</i> 'da solungaç dokusunda kurşun birikimi üzerine selenyum ortam derişimleri ve sürenin etkisi.....	22
Şekil 4.5. <i>O. niloticus</i> 'da böbrek dokusunda kurşun birikimi üzerine selenyum ortam derişimleri ve sürenin etkisi.....	23
Şekil 4.6. 7. günde <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.	26
Şekil 4.7. 14. günde <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisi.....	26
Şekil 4.8. 28. günde <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.....	27
Şekil 4.9. 7. günde <i>O. niloticus</i> 'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.....	29
Şekil 4.10 14. günde <i>O. niloticus</i> 'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.	30
Şekil 4.11 28. günde <i>O. niloticus</i> 'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.....	30
Şekil 4.12 7.günde <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisi.	33
Şekil 4.13 14. günde <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisi.....	33
Şekil 4.14 28. günde <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisi.....	34

Şekil 4.15	7. günde <i>O. niloticus</i> 'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.....	36
Şekil 4.16	14. günde <i>O. niloticus</i> 'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.....	36
Şekil 4.17	28. günde <i>O. niloticus</i> 'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.....	37

1.GİRİŞ

Ağır metallerin ve diğer ksenobiotiklerin neden olduğu çevresel kirlilik dünyada çok önemli bir problem haline gelmiştir. Ağır metaller hemen her akuatik sistemde bulunabilmekte ve organizmalara olası toksik etkileri ve besin zincirinde birikebilme yeteneklerinden dolayı tehlikeli maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bundan dolayı ağır metallerin birçoğu kirleticiler arasında öncelikli olarak kabul edilmektedirler. Ağır metaller diğer organik kirleticiler gibi parçalanamadıkları veya yok edilemedikleri belirtilmiştir (Fonesca ve ark., 2006). Son yıllarda tarım, kimyasal ve endüstriyel proseslerde aşırı derecede kullanımı nedeniyle akuatik ortamlarda metallerin düzeyleri artmıştır. Akuatik ortama çeşitli yollardan giren ağır metaller hemen tüm bitki ve hayvansal organizmalarda depolanabildiği belirtilmiştir (Daka ve Hawkins, 2006).

Redoks-aktif metaller, demir, bakır ve krom gibi metaller olup bunlar redoks siklusuna girerler halbuki redoks inaktif metaller olan kurşun, kadmiyum, civa gibi metaller hücre antioksidantlarını, özellikle tiol içeren antioksidan ve enzimleri yok ettikleri belirtilmiştir (Munoz ve ark., 2007).

Kurşun (Pb), jeolojik materyallerden orijin alan doğal olarak bulunabilen bir element olup hava, toprak ve su biyomasında çok çabuk yayılma özelliğine sahiptir. Kurşun yaygın bir çevresel kirleticidir ve organizmalarda fizyolojik ve biyokimyasal bozukluklara neden olduğu belirtilmiştir (Farmand ve ark., 2005). Kurşun her zaman her yerde bulunabilen bir metal olup organizmalarda birikebilen bir çevresel toksindir (Jing ve ark., 2007). Kurşun akuatik ortama, madencilik, kömür yataklarından, kauçuk sanayinden, benzin katkı maddesi olarak, pil ve boya sanayinin atıklarından girdiği saptanmıştır (Rogers ve ark., 2003). Kurşun ve kadmiyum gibi metallerin hayvan dokularındaki biyolojik yarılanma ömürlerinin oldukça uzun olduğu, kurşunun kemik dokusundaki yarılanma süresinin 10-30 yıl arasında olduğu belirtilmiştir (Anderson ve ark., 1997). Kurşunun etkisi başta besinde, suda ve havada olmak üzere birçok ortamda görülebilir. Kurşunun besin zincirine girmesi bu metalin tam etkisinin görülebilmesi açısından önemlidir.

Kurşunun hemoglobin sentezini, böbrek işlevini, sinir sistemi işlevlerini, ve üremeyi olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir (Anderson ve ark., 1997).

Balıklar su ortamındaki besin kaynakları arasında en fazla tüketilen canlılar olarak kabul edilmektedirler. Bu nedenle akuatik ortamda bulunan ağır metaller balıklarda birikerek potansiyel bir risk oluşturabilmektedir. Balıklar besin zincirinin bir parçası olması nedeniyle akuatik ortamda bulunabilen kurşunun etkilerinin belirlenebilmesi için öncelikli çalışılması gerektiği belirtilmiştir (Anderson ve ark., 1997; Bervoets ve ark., 2009).

Spesifik organlardaki morfoljik hasarlar organizmanın sağlık durumunu ifade eder ve süreye bağlı olarak organizma üzerindeki iç ve dış etkileri gösterir (Alves Costa ve ark., 2007). Karaciğer kirleticilerin etkilerinin araştırılmasında önemli bir hedef organ olarak düşünülmektedir. Akuatik organizmalarda karaciğer organik ve inorganik kirleticiler için aktif bir organ olarak görev yapmaktadır. Balıklarda metal alınımına bağlı olarak karaciğerdeki morfoljik değişiklikler ve yapısal bozukluklar toksolojik çalışmalarda çok yararlı olduğu belirlenmiştir (Rabito ve ark., 2005; Alves Costa ve ark., 2007). Ağır metallerin balıklar tarafından vücuda alınması solungaçların üzerindeki özelleşmiş bölgeler aracılığıyla olduğu belirtilmiştir (McDonald ve ark., 2002). Karaciğer ve böbrekler, akuatik hayvanlarda çeşitli kirleticileri depolanmasında ve atılımında görev yapan çok önemli organlardır (Mazon ve Fernandez,1999).

Selenyum (Se) siyah katmanlarda çıkarılan topraklarda, fosfat kayalarında ve kömürlerde doğal olarak bulunmakta, kömür yakan fabrikaların külleri ve fosil yakıtların işleme tabii tutuldukları fabrikalar ise antropojenik kaynaklarını oluşturmaktadır (Miller ve ark., 2007).

Selenyum, selenite, selenate, selenomethionine ve selenocysteine gibi farklı formlarda bulunur ve glutathione peroxidase (GSHPx), iodothyronine ve S'-deiosinoase gibi bir çok enzimin yapısında bulunması nedeniyle canlı organizmalar için gerekli bir iz elementtir (Su ve ark., 2008). Se aynı zamanda thioredoxin reductase'ın bir bileşenidir ki bu enzim DNA sentezinde, oksidatif strese karşı savunmada rol oynayan ve protein onarımında gerekli olan önemli bir enzimdir (Miller ve ark., 2007). İnsan ve hayvanların besinlerinde selenyuma gereksinim

duydukları belirtilmiştir. Organoselenyum bileşikleri (selenoamino asit) besindeki selenyumun kimyasal bir formudur.

Se canlılarda düşük derişimlerde antioksidant role sahipken, yüksek derişimlerde ise toksik olduğu belirtilmiştir (Tran ve ark., 2007). Se antioksidan savunmayla ilgili enzimlerde gerekli bir kofaktördür. Özellikle selenyuma bağlı glutation peroxidase (Se-GPx)' da çok önemli bir bileşen olduğu belirtilmiştir (Tran ve ark., 2007). Akuatik organizmalar ile yapılan araştırmalarda selenyumun toksik metalleri bağlamada ve toksisiteyi azaltmada çok önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (Klaverkamp ve ark., 1983; Talas ve ark., 2008; Kehrig ve ark., 2009).

Memeli hayvanlarda ve bir çok balık türünde selenyumun koruyucu etkisiyle ilgili yapılan araştırmalarda selenoproteinlerin kanser, nörolojik hastalıklar, ateşli hastalıklar ve enfeksiyon hastalıklarında engelleyici rol oynadığı belirtilmiştir (Kaur ve Sandhu, 2008). Yapılan araştırmalarda ağır metallerin detoksifikasyonunda Selenyumun rolünün olduğu saptanmıştır (Klaverkamp ve ark., 1983; Diplock ve ark., 1986; Su ve ark., 2008).

Son yıllarda akuatik organizmalarda ksenobiyotiklerin etkinin belirlenmesi için biyomarkırların kullanımında önemli artışlar meydana gelmiştir. Çünkü bu ksenobiyotiklerin biyolojik etkisi genellikle ilk olarak moleküler/biyokimyasal düzeyde kendini göstermekte olup çevre kirliliğinde biyomarkırlar olarak biyokimyasal değişikliklerin kullanımı olası etkilerin neler olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Ksenobiyotikler, superoksit anyonu (O_2^-), hidrojenperoksit (H_2O_2) ve hidroksil (OH) gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna ve hücre ve doku hasarlarına neden olurlar (Monteiro ve ark., 2009). Ağır metaller toksik ajanlardır balık dokularında birçok hasarın oluşmasında ve hastalıkların meydana gelmesinde önemli bir role sahiptir. Metal stresi enzim aktivitelerini de içeren birçok biyokimyasal parametrelerde değişikliklere ve lipid peroksidasyonunun oluşumuna neden olmaktadır (Munoz ve ark., 1991).

AChE sinir impulslarının iletiminde gerekli bir enzimdir ve nörotoksik etkilerinin bir indikatörü olarak geniş bir şekilde kullanılmaktadır (Moreira ve Guilhermino, 2005). AChE akuatik organizmalarda genel fizyolojik stresin belirlenmesinde faydalı bir biyomarkır olduğu belirtilmiştir (Leinio ve Lethonen,

2005). AChE aktivitesi metal (Alves Costa ve ark., 2007), pestisidler (Leinio ve Lethonen, 2005), deterjanların (Guilhermino ve ark., 2000) etkisinde inhibe olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda AChE inhibüsyonunun akuatik organizmalarda ölüme neden olduğu bir çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Zinkl ve ark., 1991; Legierse, 1998). Kontamine alanlardan yakalanan balıkların dokularında AChE'in tepkisi kirliliğin belirlenmesinde önemli, bir yoldur (De La Torre ve ark., 2002).

Bu çalışmada *Oreochromis niloticus*'un karaciğer, böbrek, solungaç ve beyin dokularında kurşun birikimi üzerine selenyumun etkisi ile bu dokularda kurşun ve kurşun+selenyumun AChE aktivitesine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Flora ve ark. (1982), Kadmiyumun etkisine bıraktıkları farelerde oluşan olumsuz değişikliklerin Se ilavesiyle azaldığı ve kadmiyumun dokularda neden olduğu toksisiteye karşı koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Thomas ve ark. (1985), Kadmiyumun *Salmo gairdneri*'de dokularda birikimi ile ilgili yaptıkları bir araştırmada kadmiyumun % 99'unun böbrek, karaciğer ve solungaç gibi metabolik olarak aktif dokularda biriktiğini saptanmışlardır.

Tulasi ve ark. (1992), *Anabas testudineus* 'da dokularda Pb birikimi ile ilgili yapılan bir çalışmada 30. gününün sonunda kurşun birikimi en fazla böbrek dokusunda bulunmuş, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlemiştir.

Anderson ve ark. (1997), *Procambarus clarkii*'de dokularda kurşun birikimi ile yaptıkları bir araştırmada, kurşun birikiminin derişim artışına ve sürenin uzamasına bağlı olarak arttığını belirlemişlerdir.

Blasco ve Puppo, (1999), *Ruditapes philippinarium*'da kurşunun dokularda birikimi ile ilgili yapılan bir çalışmada solungaç ve sindirim bezinde birikimin yüksek düzeylerde olduğunu belirtmişlerdir.

Dethloff ve ark. (1999), Cu, Cu+Zn karışımına bırakılan *Oncorhynchus mykiss*'de beyin AChE aktivitesinin arttığını ve bu artışın sürenin uzamasına bağlı olarak daha yüksek düzeylere ulaştığını belirtmişlerdir.

Kargin ve Çoğun (1999), *Tilapia nilotica*'da çinko ve kadmiyum etkileşiminde doku ve organlarda metal birikimi ve eliminasyonu ile ilgili yaptıkları bir araştırmada, çinkonun kadmiyum birikimi üzerine antagonistik etki yaptığı ve çinko bulunan ortamda dokularda kadmiyum birikiminin oldukça azaldığını belirtmişlerdir.

Kirby ve ark. (2001), Cd, Cu, Zn, Se gibi metallerin *Mugil cephalus*'da birikimi ile ilgili yaptıkları bir araştırmada hemen tüm metallerin karaciğerde yüksek düzeyde biriktiğini, kas dokusunda ise birikimin az olduğunu belirtmişlerdir

Wicklund Glynn (2001), Dokularda kadmiyum birikimine çinkonun etkisiyle ilgili yapılan bir araştırmada *Danio rerio*'da solungaçlarda kadmiyum alınımının çinkonun varlığında azaldığını belirtmişlerdir

Elumalai ve ark. (2002), bakır ve kromun etkisine bıraktıkları *Carcinus means*'in serumunda AChE ve hepatopankreas dokusunda GST enzim aktivitelerinin azaldığını belirtmişlerdir

Rogers ve ark. (2003), *O. mykiss*'de kurşunun dokulara etkisi ile ilgili yaptıkları bir araştırmada diğer dokulara oranla solungaçların kurşunun toksik etkisinde ilk hedef organ olduğunu ve birikimin bu dokuda yüksek düzeye ulaştığını belirtmişlerdir.

Campana ve ark. (2003), Pb'un etkisine bırakılan *Halobatrachus didactylus*'un kanında ALA-D aktivitesinin inhübüsyonu gözlemişlerdir. Araştırmacılar bunun büyük bir olasılıkla kurşunun etkisinde kaldıktan hemen sonra kandaki kurşun düzeyinin hızlı bir şekilde artışından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Roex ve ark. (2003), Parathionun etkisine bırakılan *D. rerio* balıklarında AChE aktivitesi kontrol balıklarına göre azaldığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar parathionun artışına paralel olarak dokularda AChE aktivitesindeki azalmanın yüksek oranlara ulaştığını belirtmişlerdir.

Daka ve Hawkins (2006), *Littorina saxatilis*'de çinkonun kadmiyum, bakır ve kurşun birikimi üzerine antagonistik bir etki gösterdiğini ve çinkonun dokularda kadmiyum birikimini oldukça azalttığını belirtmişlerdir.

Alves Costa ve ark. (2007), Kurşun etkisine bırakılan *Hoplais malabaricus* balığında morfoljik değişimlerin meydana geldiği, eritrosit &-aminolevonik asit dehidrat (ALA-D) aktivitesi inhibe olmuştur.

Jing ve ark. (2007), Kurşunun etkisine 72 saat süreyle bırakılan *Pinctada fucata*'ın dokularında Pb birikimi süreye ve derişime bağlı olarak artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar kurşunun antioksidant enzim aktivitelerinde değiştirdiğini belirtmişlerdir.

El-Sharaky ve ark. (2007), Se düşük derişimlerde bir iz element olduğu , aynı zamanda GP_X enziminin bir bileşeni olduğunu belirtmişlerdir. Se eksikliğinin lipid peroksidasyonun artışıyla birlikte olduğunu bunun sonucunda hücre membran bütünlüğünün bozulduğunu saptamışlardır.

Orun ve ark. (2008), Ortamda yeteri düzeyde Se bulunduğunda ağır metallerin antioksidant enzim aktiviteleri üzerine inhübüsyon etkilerinin engellendiği

belirtilmiştir. Araştırmacılar bu etkinin büyük bir olasılıkla ağır metallerin Se tarafından detoksifiye edilmesi ile ilgili olabileceğini belirtmişlerdir.

Su ve ark. (2008), Se ve Hg'nin birlikte fareler üzerine etkisiyle ilgili yaptıkları bir araştırmada Se'un civanın toksisitesini azalttığı ve Hg detoksifikasyonunda önemli bir rol oynadığını belirtmişlerdir.

Bervoets ve ark. (2009), Kurşun birikim ile ilgili *C. carpio*'da yaptıkları bir çalışmada dokularda kurşun birikiminin farklılık gösterdiğini ve böbrek ile karaciğer gibi organlarda kurşun birikiminin yüksek düzeylere ulaştığını belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

Bu araştırmada kullanılan *O.niloticus*'lar Çukurova Üniversitesi Su rnleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından alınarak laboratuara getirilen balıklar iki ay süre ile 40X120X40 cm boyutlarındaki on stok akvaryum içersinde laboratuar koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. *O. niloticus*'lar bu sürenin sonunda 12.86 ± 0.78 cm boy ve 26.57 ± 1.23 g ağırlığa ulaşmışlardır.

Deneyler 25 ± 1 °C sıcaklıkta yürütülmüş, akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmış ve günde sekiz saat aydınlanma (8 saat gündüz / 16 saat gece) periyodu uygulanmıştır. Balıklar, günde iki kez olmak üzere balık ağırlığının % 1'i kadar hazır balık yemi (Pınar Balık Yemi, Türkiye) ile beslenmişlerdir.

Deney süresince ortam suyunun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri aşağıda verilmiştir.

Toplam sertlik:	264.81 ± 0.32 ppm CaCO ₃
pH:	8.12 ± 0.08
znmş Oksijen:	7.46 ± 0.09 mg/ L

Deneyler, kurşun ve kurşun+selenyum karışımının ortam derişimleri dikkate alınarak iki seri olarak yürütülmüştür. Balıklar birinci seride kurşunun 0.1 ve 1.0 Pb mg.L⁻¹ derişimlerine, ikinci seride kurşun + selenyum'un 0.1 Pb+0.5 Se ve 1.0 Pb+5.0 Se mg.L⁻¹ ortam derişimlerinin etkisine 7, 14 ve 28 gün sürelerle bırakılmıştır.

Deneylerin her bir serisinde 40X120X40 cm. boyutlarında olan ve her birinin içerisinde 18 balık bulunan 3 cam akvaryum kullanılmıştır. Birinci seride bu akvaryumlardan ne 120'şer litre 0.1 ve 1.0 mg.L⁻¹ kurşun zelteleri, ikinci seride kurşun + selenyum karışımının 0.1 Pb+0.5 Se ve 1.0 Pb+5.0 Se mg.L⁻¹ lik zeltelerinden 120'şer litre konulmuştur. Her seride nc akvaryum kontrol olarak kullanılmıştır. Deneyler üç tekrarlı olarak yürütülmüştür ve her tekrarda iki balık kullanılmıştır.

Deney ortamında kurşun derişimlerinde zamana bağlı değişimler olabileceği dikkate alınarak deney süresince akvaryum zelteleri iki günde bir değiştirilmiştir.

Deneyleerde kullanılan kurşun ($PbNO_3$) çözeltilerinin akvaryumlarda homojen dağılması ve çökelmeyi önlemek için trisodyumsitrat ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ Merck) çözeltisi kullanılmıştır.

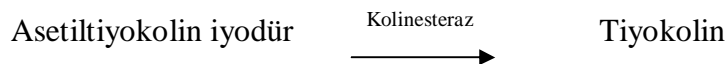
Belirlenen her sürenin sonunda balıklar çeşme suyu ile iyice yıkanmış ve kurutma kâğıdı ile yüzeylerinde bulunan su damlacıkları alınmıştır. Karaciğer, böbrek, beyin ve solungaç dokuları disekte edilmiştir. Dokuların bir kısmı AChE enzim analizi için $-80^\circ C$ 'de saklanmıştır. Metal analizleri için dokuların geri kalan kısmı petri kabına aktararak etüvde $150^\circ C$ de 48 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. Süre sonunda kuru ağırlıkları belirlenen dokular deney tüplerine aktararak 2 mL nitrik asit (Merck, %65, d:1.40) ve 1 mL perklorik asit (Merck, %60, d:1.53) eklenerek 3 saat süreyle yakılmıştır. Yakımı tamamlanan örnekler kapaklı tüplere aktarılmış, saf su ile 5 mL ye tamamlanarak kurşun analizi için hazır hale getirilmiştir. Doku ve organlardaki metal analizi Perkin Elmer marka Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi ile yapılmıştır.

Deneyleerden elde edilen verilerin istatistik analizleri “ Regresyon analizi” ve “Student-Newman Keul’s Test (SNK)” testleri bilgisayarda SPSS 10.0 paket programı uygulanarak yapılmıştır.

AChE enzim aktivitesinin belirlenmesi için derin dondurucudan çıkartılan dokular üzerine 1/10 oranında 0.25 M sükröz ($pH=7.4$) içeren 0.05 M Na-P tamponu ile ($pH 7.4$) ultra-turrax homojenizatörde 10.000 rpm’de 3 dk buz içersinde homojenize edildikten sonra $+4^\circ C$ ’de 9.500 g’de 30 dk santrifüjlenerek elde edilen süpernantlarda AChE enzim aktivitesi spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

3.1. Asetilkolinesteraz Yöntemi

Prensip: Kolinesterazlar, asetilkolinin tiyokolin ve asetata parçalanması reaksiyonunu katalizler. Ürün olarak açığa çıkan tiyokolin oranı ile DTNB’nin reaksiyonu sonucu sarı renk veren 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit oluşur. Oluşan rengin şiddeti $pH 8$ ’de 412 nm dalga boyunda ölçülür (Ellman ve ark., 1961).



Tiyokolin + DTNB ———>5-tiyo-2 nitrobenzoik asit (sarı renk)

Yöntem

Asetilkolinesteraz enzim aktivitesini ölçmek için çözeltiler kör ve örnek küvetlerine tablodaki sırada eklenir (Çizelge).

Çizelge 3.1 Asetilkolinesteraz Yöntemi

Çözeltiler ve Ayıraçlar	Kör (µL)	Örnek (µL)
Fosfat Tamponu (0.1M, pH 8.0)	2700	2550
Örnek	200	200
DTNB (0.01M) (0.1M, pH 7.0 Na-K Fosfat	100	100
Etopropazin (8.52x10 ⁻³ M)	---	50
Çalkalanır ve 30°C'de 5 dakika inkübe edilir.		
Asetilkolintiyoiyodür (0.015M)	---	100

412 nm dalga boyunda 0. ve 5. dakikalarda örnek ve kör küvetlerinin absorbansları ölçülür.

Hesaplama

$$\text{AChE aktivitesi (U/mL)} = \frac{\Delta\text{OD}}{t} \times \frac{V_t}{V_0} \times 13.6$$

ΔOD = Zamana göre absorbans değişimi

t = Zaman

V_t = Toplam hacim

V_0 = Örnek hacmi

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

3.2. Protein Yöntemi

Prensip: Proteinler alkali ortamda bakır sülfat ilavesiyle fosfotungstik-fosfomolibdik asidi redükleyerek mavi renk verirler. Renklendirilmiş çözeltinin absorbansı 750 nm dalga boyunda ölçülerek protein miktarı belirlenir (Lowry ve ark.,1951).

Ayıraçlar

1. Alkali Na_2CO_3 Çözeltisi
2. Bakır Sülfat-Sodyum Potasyum Tartarat Çözeltisi
 - % 1 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
 - % 2 Na-K tartarat
3. Alkali Çözelti (Günlük olarak hazırlanır.): 50 mL alkali Na_2CO_3 çözeltisi 1 mL Bakır Sülfat-Sodyum Potasyum Tartarat çözeltisi ile karıştırılarak hazırlanır.
4. Folin-Ciocalteu Ayıracı: 1 mL Folin-Ciocalteu, 1.5 mL saf su ile seyreltilerek hazırlanır.

Yöntem

Çizelge. 3.2 Lowry Yöntemi ile Protein Tayini

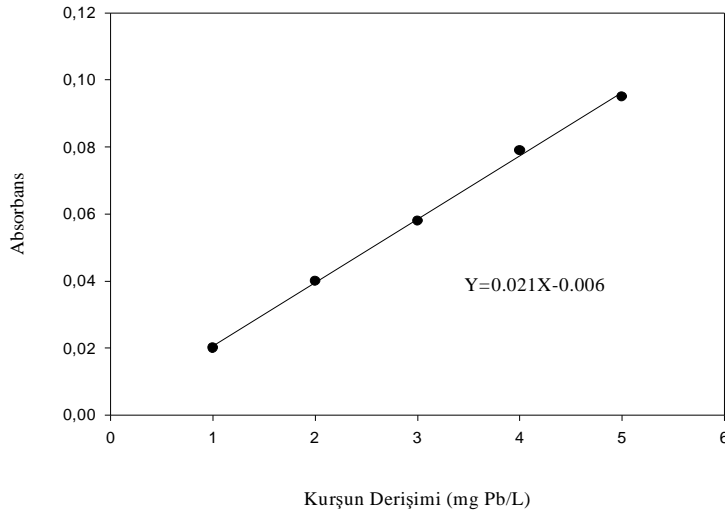
Çözeltiler	Kör (mL)	Örnek (mL)
Saf Su	0.3	-
Örnek	-	0.3
Alkali Çözeltisi	3.0	3.0
Oda sıcaklığında 15 dakika bekletilir.		
Folin-Ciocalteu	0.3	0.3

Oda ısısında 30 dakika bekletildikten sonra ve spektrofotometrede 750 nm'de absorbans değerleri ölçülür. Örneklerin içerdiği protein miktarları sığır serum albumini kullanılarak hazırlanan standart grafikten değerlendirilir.

4. BULGULAR

4.1. Kurşun Düzeyleri

O. niloticus dokularında kurşun düzeylerini saptamak amacıyla kurşun standartları ve absorbans arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon doğrusu kullanılmıştır (Şekil 4.1). Kurşun standartlarının absorbans değerlerinden $Y=0.021X-0.006$ formülü elde edilmiştir. Burada X kurşun derişimini, Y absorbansı göstermektedir. Balıkların beyin, karaciğer, solungaç ve böbrek dokularındaki kurşun düzeyleri bu regresyon formülü kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.1. Kurşun derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki.

O. niloticus 'da belirlenen derişim ve sürelerde bir doku için üç tekrarlı olarak saptanan kurşun düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları çizelge 4.1-3'de verilmiştir. Belirli bir süre sonunda ve aynı derişimde kurşun birikimi bakımından dokular arasındaki ayrımı belirlemek, aynı şekilde belirli bir süre sonunda artan derişimin bir doku ve organdaki kurşun birikimine etkisini belirlemek amacı ile veriler SNK testi (Student Newman Keul's Test) ile analiz edilmiş ve sonuçlar çizelge 4.1-3'de verilmiştir. Bu çizelgelerde x, y, z ve t harfleri doku ve organlardaki, a ve b harfleri ise derişimlerin etkisini göstermek amacıyla

kullanılmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Denenen her bir sürede ortamda bulunan Pb derişimi arttıkça dokulardaki Pb birikiminin de arttığı saptanmıştır. Belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında doku ve organlardaki Pb birikiminin farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Denenen her iki ortam derişiminde en yüksek Pb birikimi böbreklerde olmuş bunu solungaç, karaciğer ve beyin dokusu izlemiştir (Çizelge 4.1-4.3, SNK; $P<0.05$). Ortam derişiminde 10 katlık bir artış dokulardaki Pb birikiminde yaklaşık 1.5 katlık bir artışa neden olmuştur.

Belirli bir ortam derişiminde etkide kalınan sürenin uzamasıyla Pb birikiminin de arttığı belirlenmiştir. 0.1 mg/L Pb ortam derişimindeki balıkların böbrek ve karaciğerde 28.gündeki Pb birikimi, 7.gündeki balıklara oranla yaklaşık 2 kat kadar daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1-4.3).

Çizelge 4.1 *O. niloticus*'da farklı ortam derişimlerinde 7. günde doku ve organlarındaki kurşun birikimi ($\mu\text{g/g}$ k.a.)

DERİŞİM (ppm)	DOKULAR			
	Böbrek	Solungaç	Karaciğer	Beyin
	$\bar{X} \pm S\bar{x} *$	$\bar{X} \pm S\bar{x} *$	$\bar{X} \pm S\bar{x} *$	$\bar{X} \pm S\bar{x} *$
Kontrol	0.00	0.00	0.00	0.00
0.1 Pb	33.87 \pm 0.77 ax	14.04 \pm 0.34 ay	10.98 \pm 0.53 az	7.24 \pm 0.44 at
1.0 Pb	54.30 \pm 2.68 bx	32.17 \pm 1.03 by	13.67 \pm 0.45 bz	9.11 \pm 0.29 bt

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x, y, z ve t harfleri dokular arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.05$).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama \pm Standart hata

Çizelge 4.2 *O niloticus*'da farklı ortam derişimlerinde 14. günde doku ve organlarındaki kurşun birikimi ($\mu\text{g/g}$ k.a.)

DERİŞİM (ppm)	DOKULAR			
	Böbrek	Solungaç	Karaciğer	Beyin
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	0.00	0.00	0.00	0.00
0.1 Pb	47.10 \pm 0.66 ax	17.60 \pm 0.30 ay	13.61 \pm 0.44 az	8.34 \pm 0.81 at
1.0 Pb	67.63 \pm 0.52 bx	37.36 \pm 0.66 by	18.53 \pm 0.71 bz	10.96 \pm 0.12 bt

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x, y, z ve t harfleri dokular arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama \pm Standart hata

Çizelge 4.3 *O niloticus*'da farklı ortam derişimlerinde 28. günde doku ve organlarındaki kurşun birikimi ($\mu\text{g/g}$ k.a.)

DERİŞİM (ppm)	DOKULAR			
	Böbrek	Solungaç	Karaciğer	Beyin
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	0.00	0.00	0.00	0.00
0.1 Pb	58.15 \pm 0.97 ax	21.66 \pm 0.97 ay	19.11 \pm 0.08 az	10.21 \pm 0.19 at
1.0 Pb	86.25 \pm 0.69 bx	49.48 \pm 0.73 by	29.79 \pm 0.85 bz	14.87 \pm 0.65 bt

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x, y, z ve t harfleri dokular arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama \pm Standart hata

Selenyumun kurşun birikimine etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizleri yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.4 - 4.6'da verilmiştir. Bu çizelgelerdeki a ve b harfleri selenyumun kurşun birikimine etkisini, x, y, z ve t harfleri dokular

arasındaki ayrımı göstermek amacıyla kullanılmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır. Denenen her üç sürenin sonunda tüm ortam derişimlerinde Se+Pb karışımına bırakılan balıkların dokularındaki Pb birikimi doğrudan Pb'nun etkisine bırakılan balıklara oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4-4.6, SNK; $P < 0.05$).

7. günde denenen 0.1 Pb + 0.5 Se ve 1.0 Pb + 5.0 Se karışımlarına bırakılan balıkların böbrek, karaciğer, solungaç ve beyin dokularında kurşun birikimi, doğrudan kurşunun etkisine bırakılan balıklara oranla azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.4, SNK; $P < 0.05$). Selenyum ortam derişimleri dokularda kurşun birikimini önemli düzeyde düşürmüştür. 7. gün sonunda 1.0 Pb + 5.0 Se karışımındaki balıkların dokularındaki kurşun birikimindeki azalma beyinde %22, karaciğerde %30, solungaçta %48 ve böbrekte %50 düzeyinde olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.4. Kurşun ve kurşun + selenyum karışımının etkisine 7 günlük süreyle bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g k.a.}$)

DERİŞİM (ppm)	DOKULAR			
	<u>Beyin</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	<u>Karaciğer</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	<u>Solungaç</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	<u>Böbrek</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
0.0	0.00	0.00	0.00	0.00
0.1 Pb	7.24±0.44 ax	10.98±0.53 ay	14.04±0.34 az	33.87±0.77 at
0.1 Pb+0.5 Se	5.78±0.44 bx	8.43±0.18 by	9.92±0.39 bz	12.85±0.36 bt
0.0	0.00	0.00	0.00	0.00
1.0 Pb	9.11±0.29 ax	13.67±0.45 ax	32.17±1.03 ay	54.30±2.68 az
1.0 Pb+5.0 Se	7.12±0.35 bx	9.60±0.15 by	16.63±0.29 bz	26.93±1.31 bt

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x, y, z ve t harfleri dokular arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama \pm Standart hata

14. günün sonunda denenen her iki Pb + Se karışımındaki balıkların dokularındaki kurşun birikimi, doğrudan kurşunun etkisine bırakılan balıklara

oranla azaldığı saptanmıştır. Selenyum ortam derişimlerinin dokularda kurşun birikimini engellemesi istatistik olarak önem taşımaktadır (Çizelge 4.5, SNK; $P<0.05$). 14. gün sonunda 1.0 Pb + 5.0 Se karışımındaki balıkların dokularındaki kurşun birikimindeki azalma beyinde %30, karaciğerde %46, solungaçta %45 ve böbrekte %56 düzeyinde olduğu saptanmıştır

Çizelge 4.5. Kurşun ve kurşun + selenyum karışımının etkisine 14 günlük süreyle bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g k.a.}$)

DERİŞİM (ppm)	DOKULAR			
	<u>Beyin</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	<u>Karaciğer</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	<u>Solungaç</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	<u>Böbrek</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
0.0	0.00	0.00	0.00	0.00
0.1 Pb	8.34±0.81 ax	13.61±0.44 ay	17.60±0.30 az	47.10±0.66 at
0.1 Pb+0.5 Se	5.52±0.30 bx	9.66±0.14 by	12.91±0.36 bz	17.01±0.54 bt
0.0	0.00	0.00	0.00	0.00
1.0 Pb	10.96±0.12 ax	18.53±0.71 ay	37.36±0.66 az	67.63±0.52 at
1.0 Pb+5.0 Se	7.67±0.18 bx	10.08±0.21 by	20.55±0.32 bz	29.74±0.66 bt

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x, y, z ve t harfleri dokular arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.05$).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama \pm Standart hata

28. günün sonunda 0.1 Pb + 0.5 Se ve 1.0 Pb + 5.0 Se karışımına bırakılan balıkların dokularında kurşun birikimi, doğrudan kurşunun etkisine bırakılan balıklara oranla azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önem taşıdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.5, SNK; $P<0.05$). Selenyum ortam derişimleri denenen tüm dokularda kurşun birikimini önemli düzeyde düşürmüştür. 28. gün sonunda 1.0 Pb + 5.0 Se karışımındaki balıkların dokularındaki kurşun birikimindeki azalma beyinde %41, karaciğerde %51, solungaçta %31 ve böbrekte %56 düzeyinde olduğu saptanmıştır

Denenen her iki ortam derişiminde de doğrudan kurşunun etkisine bırakılan balıklarla kıyaslandığında, Pb + Se karışımına bırakılan balıkların böbrek ve karaciğerinde kurşun birikimindeki azalma diğer dokulara göre daha yüksek oranlarda olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. Kurşun ve kurşun + selenyum karışımının etkisine 28 günlük süreyle bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g k.a.}$)

DERİŞİM (ppm)	DOKULAR			
	<u>Beyin</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	<u>Karaciğer</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	<u>Solungaç</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	<u>Böbrek</u> $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
0.0	0.00	0.00	0.00	0.00
0.1 Pb	10.21±0.19 ax	19.10±0.08 ay	21.66±0.97 az	58.15±0.97 at
0.1 Pb+0.5 Se	6.92±0.47 bx	12.18±0.40 by	18.36±0.27 bz	24.55±0.24 bt
0.0	0.00	0.00	0.00	0.00
1.0 Pb	14.87±0.65 ax	29.79±0.85 ay	49.48±0.73 az	86.25±0.69 at
1.0 Pb+5.0 Se	8.65±0.62 bx	14.45±0.50 by	34.38±1.28 bz	38.09±1.10 bt

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x, y, z ve t harfleri dokular arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.05$).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama \pm Standart hata

Selenyum ortam derişimlerinin süreye bağlı olarak *O. niloticus* 'un doku ve organlarındaki kurşun birikimine etkisi Şekil 4.2-4.5'de verilmiştir. Belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin uzamasıyla dokulardaki kurşun birikiminin de arttığı saptanmıştır. Çalışılan tüm sürelerde Pb + Se karışımına bırakılan balıkların dokularındaki Pb birikimi, doğrudan Pb etkisine bırakılan balıklara oranla daha düşük olduğu saptanmıştır. Selenyum, denenen tüm koşullarda dokulardaki Pb birikimini önemli düzeyde düşürmüştür (Şekil 4.2- 4.5, SNK; $P<0.05$).

Beyin dokusunda saptanan kurşun düzeyleri Şekil 4.2'de verilmiştir. Aynı ortam derişiminde etkide kalma süresinin uzamasıyla beyin dokusundaki Pb birikimininde arttığı belirlenmiştir. Beyin dokusu kurşun düzeyleri denenen her iki

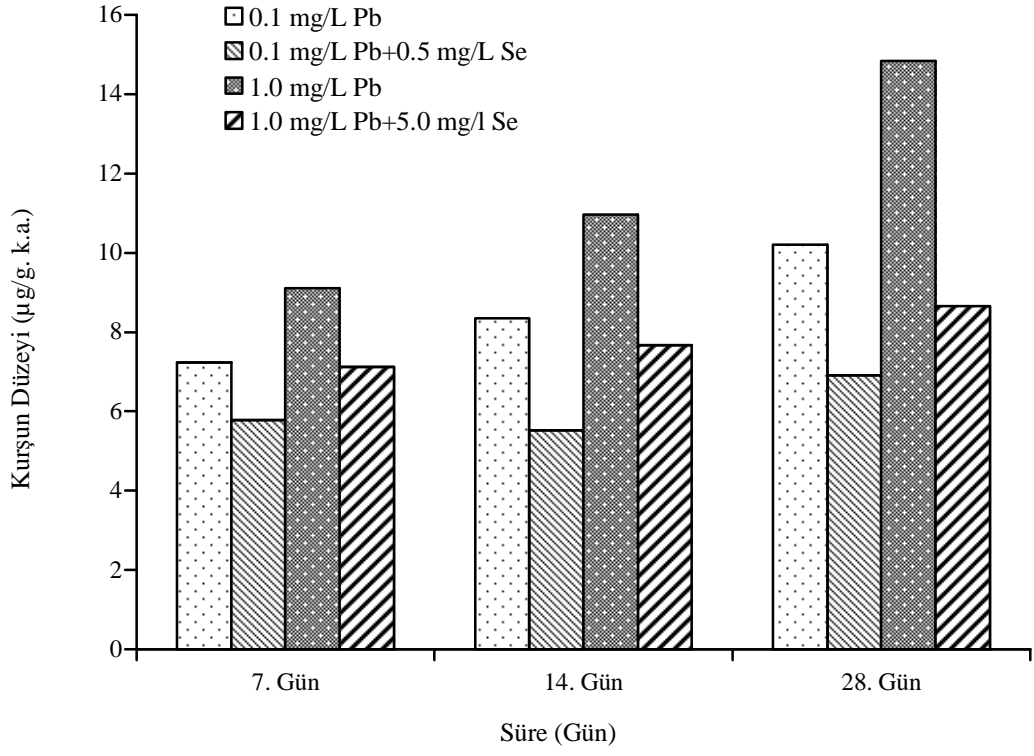
selenyum ortam derişiminde önemli miktarlarda azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.2). 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Se karışımındaki azalma 7. günde %22, 14. günde %30 ve 28. günde %41 düzeyinde gerçekleşmiştir.

Karaciğer kurşun düzeyleri denenen her iki ortam derişiminde de etkide kalınan sürenin uzamasıyla arttığı saptanmıştır. Karaciğer kurşun düzeyleri denenen tüm selenyum ortam derişimlerinde önemli miktarlarda azalmıştır. (Şekil 4.3). Bu azalma yüksek ortam derişimlerinde daha fazla olmuştur. 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Se karışımındaki azalma 7. günde %30, 14. günde %46 ve 28. günde %51 düzeyinde olmuştur.

Solungaç dokusundaki kurşun düzeyleri aynı ortam derişiminde etkide kalma süresinin uzamasıyla artış göstermiştir. Solungaç dokusu kurşun düzeyleri denenen her iki selenyum ortam derişiminin etkisinde önemli miktarlarda azalma gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.4). 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Se karışımındaki azalma 7. günde %48, 14. günde %45 ve 28. günde %31 düzeyinde gerçekleşmiştir.

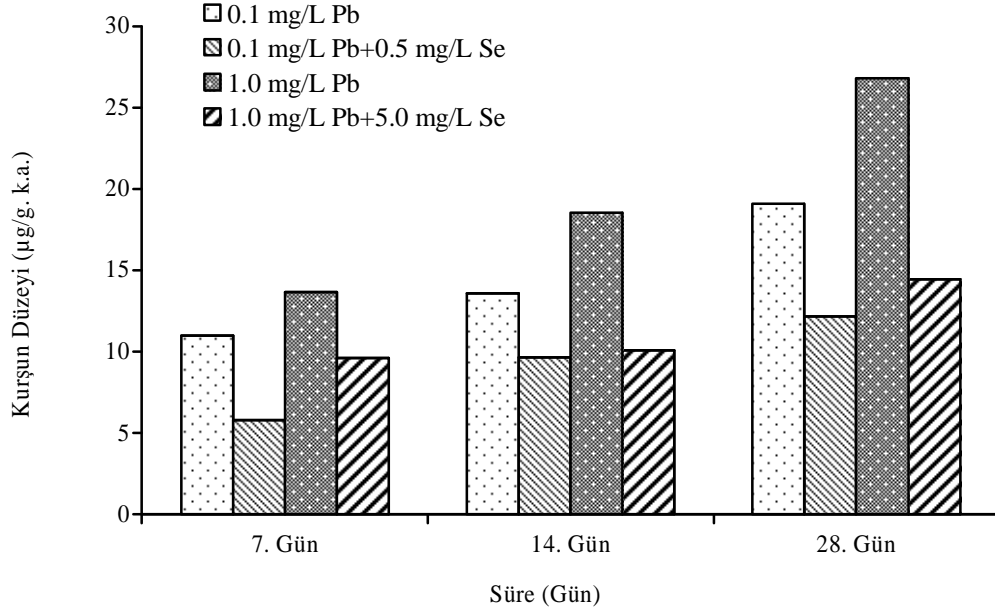
Böbrek dokusunda kurşun düzeyi belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin uzamasıyla artma göstermiştir. Böbrek dokusunda selenyumun kurşun birikimini engellemesi istatikselsel olarak önemli olup, her iki selenyum ortam derişiminde de kurşun düzeyi önemli bir azalma göstermiştir (Şekil 4.5). 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Se karışımındaki azalma 7. günde %50, 14. günde %56 ve 28. günde %56 düzeyinde olmuştur.

Beyin



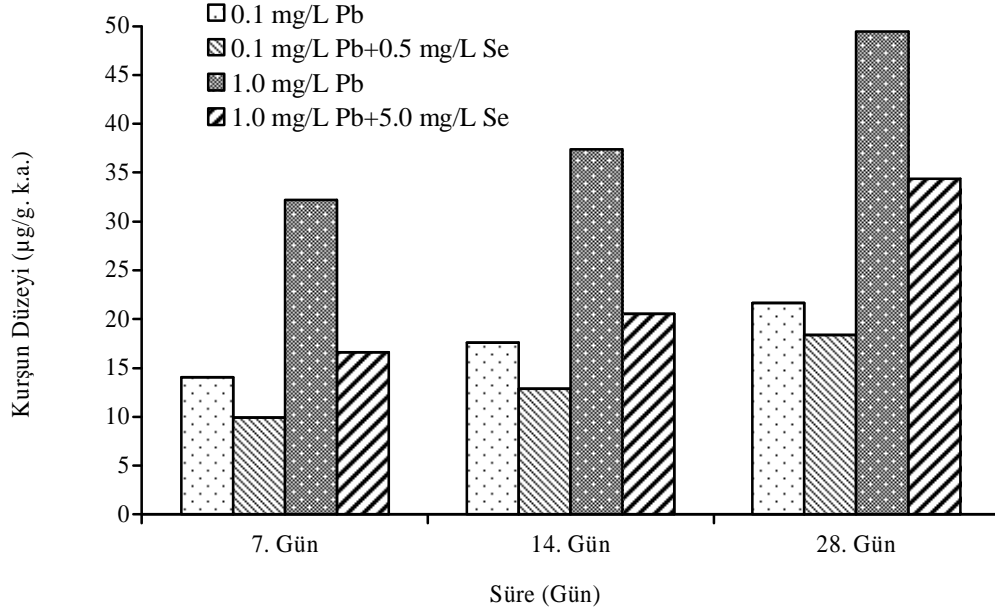
Şekil 4.2. *O. niloticus*'da beyin dokusunda kurşun birikimi üzerine selenyum ortam derişimleri ve sürenin etkisi

Karaciğer



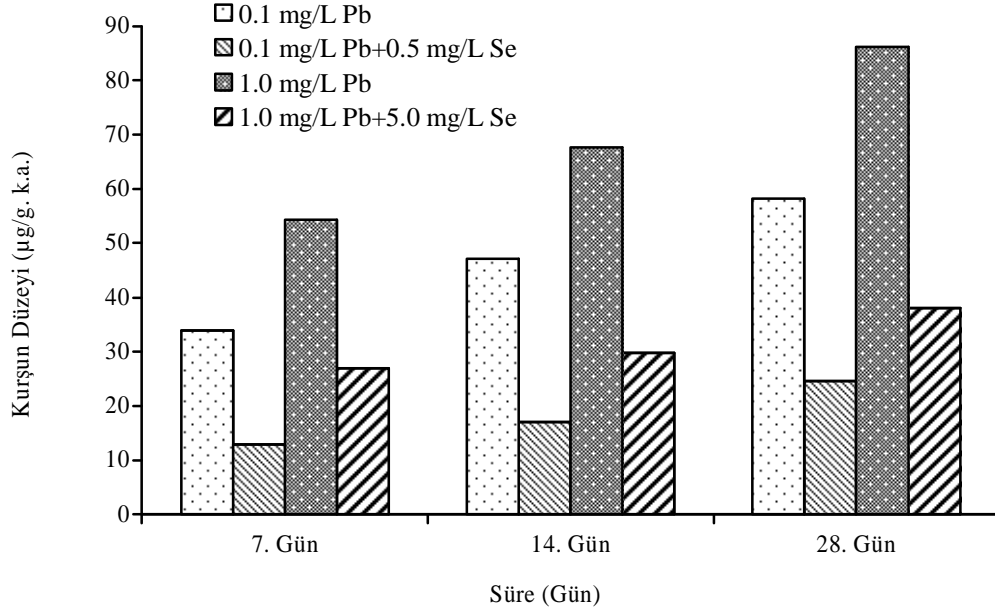
Şekil 4.3. *O. niloticus*'da karaciğer dokusunda kurşun birikimi üzerine selenyum ortam derişimleri ve sürenin etkisi

Solungaç



Şekil 4.4. *O. niloticus*'da solungaç dokusunda kurşun birikimi üzerine selenyum ortam derişimleri ve sürenin etkisi

Böbrek



Şekil 4.5. *O. niloticus*'da böbrek dokusunda kurşun birikimi üzerine selenyum ortam derişimleri ve sürenin etkisi

4.2. Pb ve Pb + Se Karışımının Asetilkolinesteraz Aktivitesi Üzerine Etkileri

4.2.1. Karaciğer Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi

Pb ve Pb+Se karışımının süreye bağlı olarak *O. niloticus*'ta karaciğer dokusundaki AChE aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.7-4.8'de gösterilmiştir.

Denenen tüm sürelerde hem Pb hemde Pb+Se karışımının etkisinde AChE aktivitesi kontrole göre azalmıştır. Denenen tüm sürelerde enzim aktivitesinde gözlenen bu azalmalar 28. gün 1.0 Pb ile 1.0 Pb+5.0 Se ortam derişimi hariç Pb ve Pb+Se arasında istatistik ayırım göstermiştir. Pb + Se etkisine oranla Pb'nun doğrudan etkisinde karaciğer AChE aktivitesinin daha yüksek oranda azaldığı belirlenmiştir.

Düşük ortam derişimlerinin etkisinde karaciğer AChE aktivitesinde süreye bağlı olarak bir değişim gözlenmezken, yüksek ortam derişimlerinin etkisinde sürenin uzamasına bağlı olarak AChE aktivitesinin azaldığı saptanmıştır.

Çizelge 4.7. *O. niloticus*'da 0.1 mg L⁻¹ Pb ve 0.1 mg L⁻¹ Pb+0.5 mg L⁻¹ Se ortam derişimlerinin karaciğer AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.

DERİŞİM (mg L ⁻¹)	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14.Gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	28. Gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
0.0	0.069±0.004 ax	0.072±0.003 ax	0.074±0.003 ax
0.1 Pb	0.021±0.004 bx	0.020±0.002 bx	0.019±0.005 bx
0.1 Pb+0.5 Se	0.039±0.004 cx	0.042±0.008 cx	0.049±0.003 cx

* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, ve y harfleri süreler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.01).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

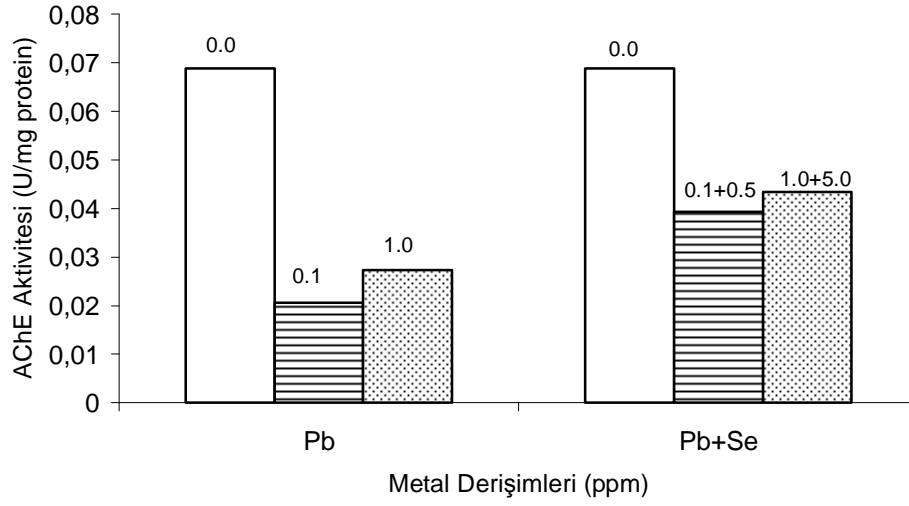
Çizelge 4.8. *O. niloticus*'da 1.0 mg L⁻¹ Pb ve 1.0 mg L⁻¹ Pb+5 .0 mg L⁻¹ Se ortam derişimlerinin karaciğer AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi

DERİŞİM (mg L ⁻¹)	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	14.Gün $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	28. Gün $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	0.069±0.004 ax	0.072±0.003 ax	0.074±0.003 ax
1.0 Pb	0.027±0.003 bx	0.015±0.002 by	0.011±0.001 by
1.0 Pb+5.0 Se	0.043±0.002 cx	0.033±0.006 cy	0.022±0.006 by

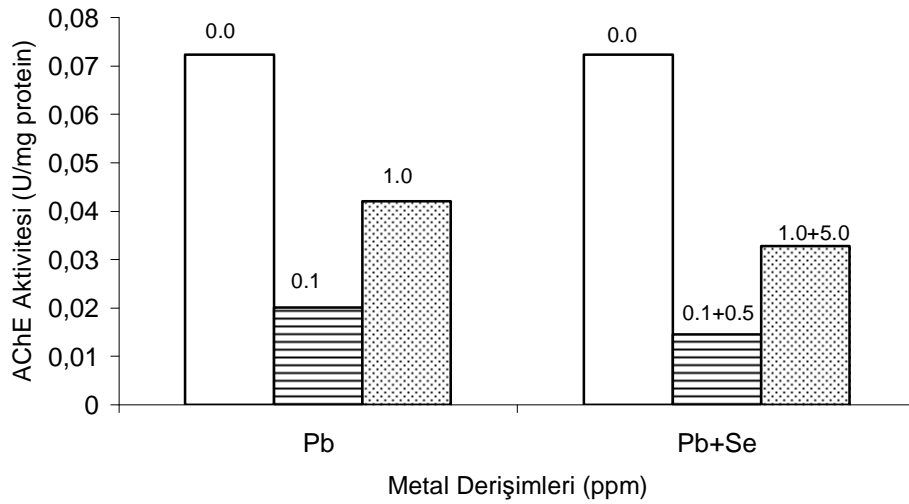
* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.01).

$\bar{X} \pm S\bar{X}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

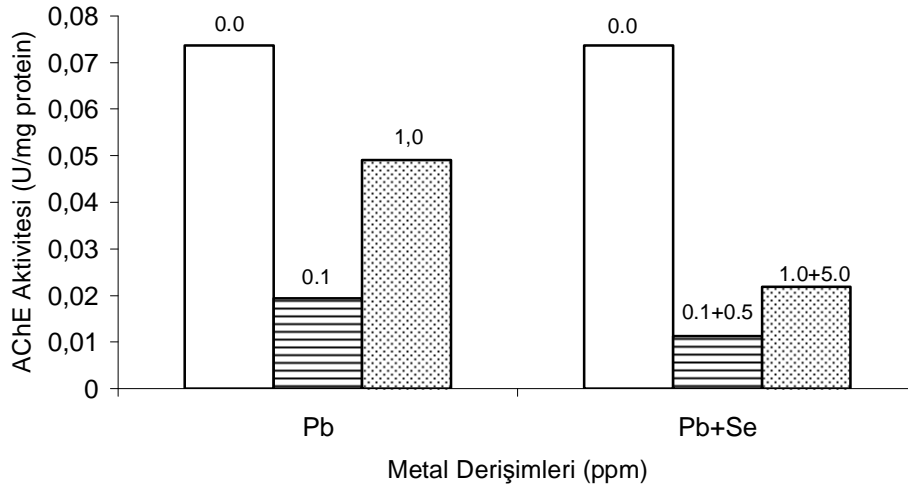
Belirli bir sürede *O. niloticus*'ta karaciğer AChE aktivitesi üzerine Pb ve Pb +Se karışımlarının derişime bağlı etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizleri yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.6-4.8'de verilmiştir. Hem Pb hem de Pb+Se karışımların etkisinde karaciğer AChE aktivitesi kontrole göre azalmıştır. Bu azalma düşük ortam derişimlerinde daha yüksek olmuştur. 28 günlük süre sonunda yüksek Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisinde karaciğer AChE aktivitesi kontrole göre sırasıyla %85 ve %70 düzeyinde azalma göstermiştir.



Şekil 4.6. 7. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.



Şekil 4.7. 14. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisi.



Şekil 4.8. 28. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesüzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.

4.2.2. Böbrek Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi

Pb ve Pb+Se karışımının süreye bağlı olarak *O. niloticus*'ta böbrek dokusundaki AChE aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.9-4.10'da gösterilmiştir.

Denenen tüm sürelerde 0.1 mg L⁻¹ Pb ortam derişimin de böbrek AChE aktivitesi kontrole göre azalırken, 0.1 mg L⁻¹ Pb+0.5 mg L⁻¹ Se ortam derişiminde 28. günde azalmanın istatistiksel olarak önem taşıdığı saptanmıştır. 1.0 mg L⁻¹ Pb ve 1.0 mg L⁻¹ Pb+5 .0 mg L⁻¹ Se karışımında denenen tüm sürelerde böbrek AChE aktivitesi kontrole göre azalmıştır. Böbrek AChE aktivitesi denenen tüm sürelerde Pb ve Pb + Se'nin yüksek ortam derişimleri arasında istatistik ayırım göstermiştir. Pb + Se etkisine oranla Pb'nun doğrudan etkisinde böbrek AChE aktivitesinin daha yüksek oranda azaldığı belirlenmiştir.

1.0 mg L⁻¹ Pb+5 .0 mg L⁻¹ Se hariç denenen diğer ortam derişimlerinde böbrek AChE aktivitesinin sürenin uzamasına bağlı olarak azaldığı saptanmıştır.

Çizelge 4.9. . *O. niloticus*'da 0.1 mg L⁻¹ Pb ve 0.1 mg L⁻¹ Pb+0.5 mg L⁻¹ Se ortam derişimlerinin böbrek AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.

DERİŞİM (mg L ⁻¹)	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	14.Gün $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	28. Gün $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	0.051±0.002 ax	0.051±0.004 ax	0.054±0.002 ax
0.1 Pb	0.032±0.004 bx	0.021±0.004 bx	0.010±0.002 by
0.1 Pb+0.5 Se	0.043±0.003 ax	0.031±0.005 axy	0.022±0.005 cy

* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P<0.01).

$\bar{X} \pm S\bar{X}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

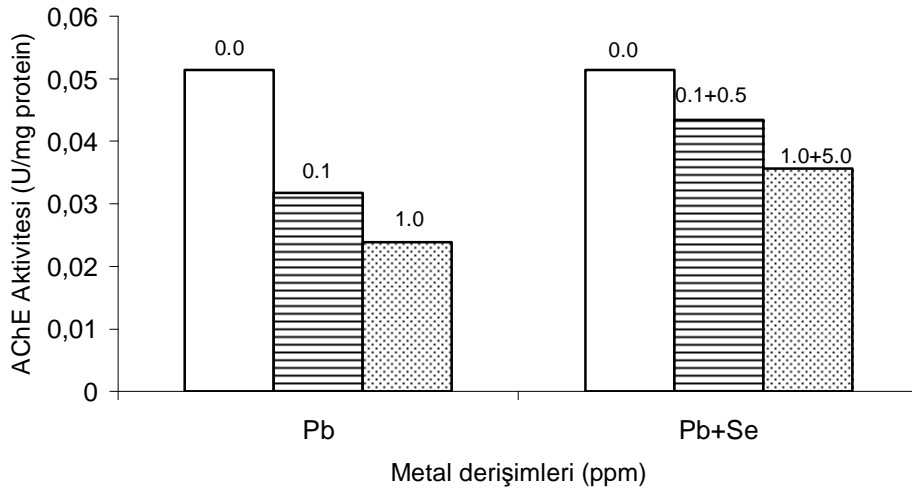
Çizelge 4.10. *O. niloticus*'da 1.0 mg L⁻¹ Pb ve 1.0 mg L⁻¹ Pb+5.0 mg L⁻¹ Se ortam derişimlerinin böbrek AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi

DERİŞİM (mg L ⁻¹)	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	14.Gün $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	28. Gün $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	0.051±0.002 ax	0.051±0.004 ax	0.054±0.003 ax
1.0 Pb	0.024±0.004 bx	0.014±0.0003 by	0.006±0.003 by
1.0 Pb+5.0 Se	0.036±0.004 cx	0.031±0.005 cx	0.027±0.002 cx

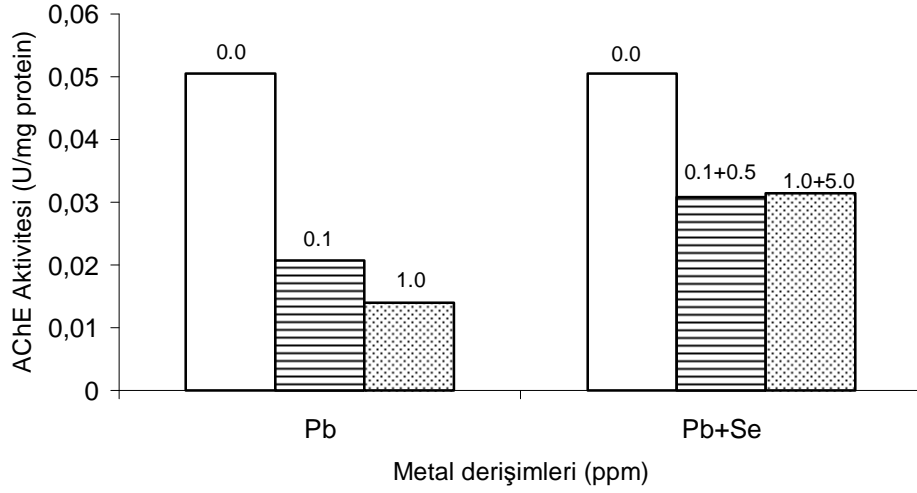
* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P<0.01).

$\bar{X} \pm S\bar{X}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

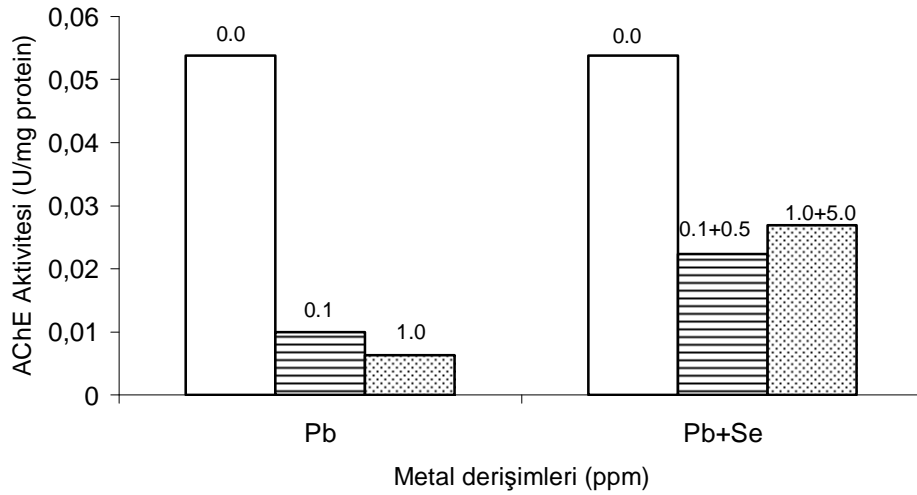
Belirli bir sürede *O. niloticus*'ta böbrek AChE aktivitesi üzerine Pb ve Pb +Se karışımlarının derişime bağlı etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizleri yapılmış ve sonuçlar şekil 4.9-4.11'de verilmiştir. Pb ve Pb+Se karışımların etkisinde böbrek AChE aktivitesi kontrole göre azalmıştır. AChE aktivitesindeki bu azalma derişim artışına paralel olarak daha yüksek olmuştur. 28 günlük süre sonunda yüksek Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisinde böbrek AChE aktivitesi kontrole göre sırasıyla %89 ve %50 düzeyinde azaldığı saptanmıştır.



şekil 4.9. 7. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.



Şekil 4.10. 14. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.



Şekil 4.11. 28. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.

4.2.3. Solungaç Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi

Pb ve Pb+Se karışımının süreye bağlı olarak *O. niloticus*'ta solungaç dokusundaki AChE aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.11-4.12'de gösterilmiştir.

Denenen tüm sürelerde 0.1 mg L⁻¹ Pb ortam derişimin de solungaç AChE aktivitesi kontrole göre azalırken, 0.1 mg L⁻¹ Pb+0.5 mg L⁻¹ Se ortam derişimindeki azalma istatistiksel olarak önem taşımamaktadır. 14.günde 1.0 mg L⁻¹ Pb ve 1.0 mg L⁻¹ Pb+5 .0 mg L⁻¹ Se ortam derişimi hariç denenen tüm sürelerde Pb ve Pb + Se'nin yüksek ortam derişimlerinin etkisinde solungaç AChE aktivitesi kontrole göre azalmıştır. Bu azalma Pb ve Pb + Se karışımı arasında istatistik ayırım göstermiştir. Denenen tüm sürelerde Pb + Se karışımının etkisine oranla Pb'nun doğrudan etkisinde solungaç AChE aktivitesinin daha yüksek oranda azaldığı belirlenmiştir.

Denenen ortam derişimlerinde solungaç AChE aktivitesi sürenin uzamasına bağlı olarak bir değişiklik göstermediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.11. *O. niloticus*'da 0.1 mg L⁻¹ Pb ve 0.1 mg L⁻¹ Pb+0.5 mg L⁻¹ Se ortam derişimlerinin solungaç AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.

DERİŞİM (mg L ⁻¹)	SÜRE (GÜN)					
	7. Gün		14.Gün		28. Gün	
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0.0	0.051±0.004	ax	0.049±0.003	ax	0.051±0.004	ax
0.1 Pb	0.027±0.005	bx	0.028±0.001	bx	0.028±0.008	bx
0.1 Pb+0.5 Se	0.040±0.005	abx	0.038±0.006	abx	0.036±0.002	abx

* : a, ve b harfleri derişimleri belirlemek; x, ve y harfleri süreler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.01).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

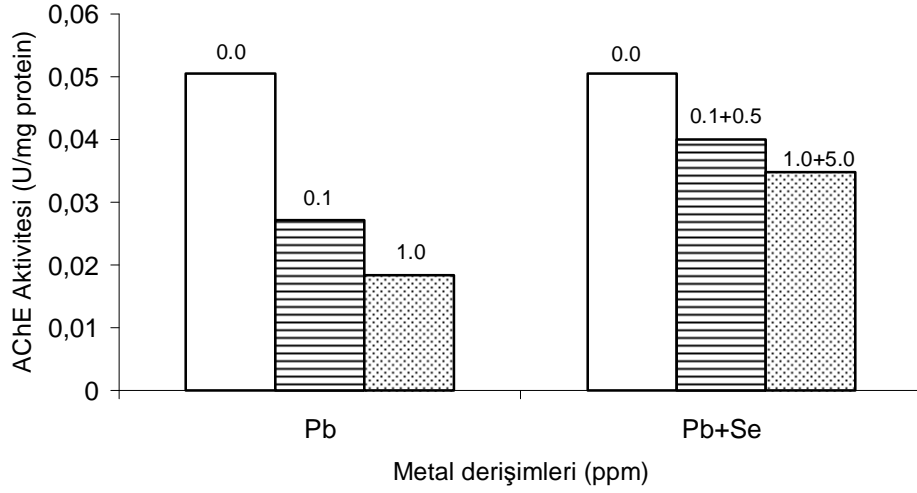
Çizelge 4.12. *O. niloticus*'da 1.0 mg L⁻¹ Pb ve 1.0 mg L⁻¹ Pb+5 .0 mg L⁻¹ Se ortam derişimlerinin solungaç AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi

DERİŞİM (mg L ⁻¹)	SÜRE (GÜN)					
	7. Gün		14.Gün		28. Gün	
	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	*
0.0	0.051±0.004	ax	0.049±0.003	ax	0.051±0.004	ax
1.0 Pb	0.018±0.004	bx	0.022±0.007	bx	0.015±0.002	bx
1.0 Pb+5.0 Se	0.035±0.003	cx	0.031±0.005	abx	0.027±0.002	cx

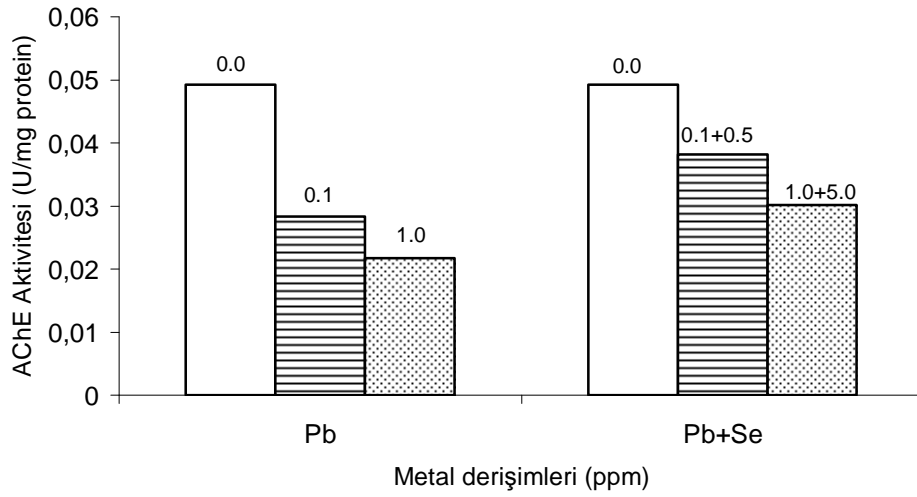
* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P<0.01).

$\bar{X} \pm S\bar{X}$: Aritmetik ortalama \pm Standart hata

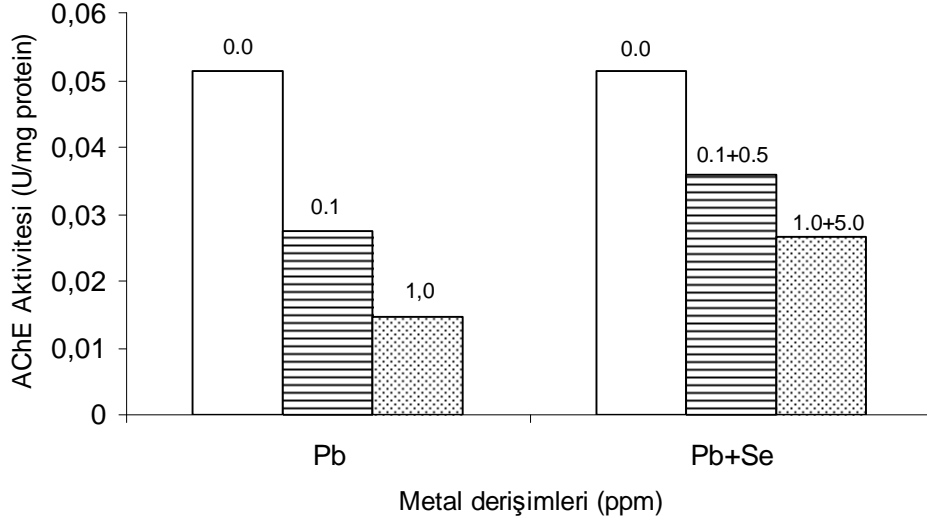
Belirli bir sürede *O. niloticus*'ta solungaç AChE aktivitesi üzerine Pb ve Pb +Se karışımlarının derişime bağlı etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizleri yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.12-4.14'de verilmiştir. Pb ve Pb+Se karışımların etkisinde solungaç AChE aktivitesi kontrole göre azalmıştır. AChE aktivitesindeki bu azalma denenen tüm sürelerde derişim artışına paralel olarak daha yüksek olmuştur. 28 günlük süre sonunda yüksek Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisinde solungaç AChE aktivitesi kontrole göre sırasıyla %71 ve %47 düzeyinde azaldığı saptanmıştır.



Şekil 4.12. 7.günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisi.



Şekil 4.13. 14. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisi.



Şekil 4.14. 28. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisi.

4.2.4. Beyin Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi

Pb ve Pb+Se karışımının süreye bağlı olarak *O. niloticus*'ta beyin dokusundaki AChE aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.13-4.14'de gösterilmiştir.

7. gün 0.1 mg L⁻¹ Pb+0.5 mg L⁻¹ Se ortam derişimi hariç Denenen tüm süre ve derişimlerde hem Pb hemde Pb+Se karışımının etkisinde beyin AChE aktivitesi kontrole göre artmıştır. Denenen tüm sürelerde Pb ve Pb+Se karışımının yüksek ortam derişimlerinde enzim aktivitesinde gözlenen bu artış Pb ve Pb+Se arasında istatistik ayırım göstermiştir. Denenen tüm derişimlerde doğrudan Pb etkisine oranla Pb+Se karışımının etkisinde beyin AChE aktivitesinin daha fazla artış gösterdiği saptanmıştır.

Düşük ortam derişimlerinin etkisinde beyin dokusu AChE aktivitesinde süreye bağlı olarak önemli bir değişim gözlenmezken, yüksek ortam derişimlerinin etkisinde sürenin uzamasına bağlı olarak AChE aktivitesinin azaldığı saptanmıştır.

Çizelge 4.13. *O. niloticus*'da 0.1 mg L⁻¹ Pb ve 0.1 mg L⁻¹ Pb+0.5 mg L⁻¹ Se ortam derişimlerinin beyin AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi.

DERİŞİM (mg L ⁻¹)	SÜRE (GÜN)					
	7. Gün		14.Gün		28. Gün	
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0.0	0.116±0.005	ax	0.123±0.005	ax	0.111±0.003	ax
0.1 Pb	0.161±0.005	bx	0.206±0.013	by	0.156±0.007	bx
0.1 Pb+0.5 Se	0.130±0.005	ax	0.184±0.007	by	0.127±0.003	cx

* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.01).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

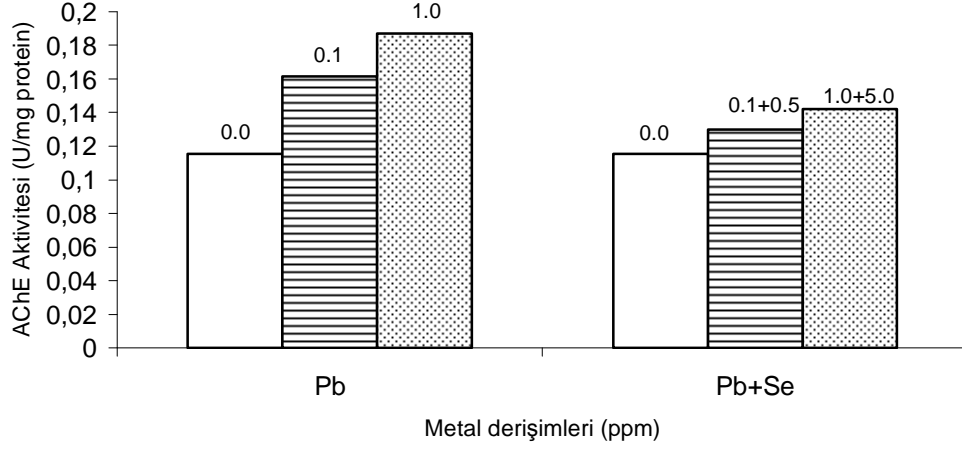
Çizelge 4.14. *O. niloticus*'da 1.0 mg L⁻¹ Pb ve 1.0 mg L⁻¹ Pb+5 .0 mg L⁻¹ Se ortam derişimlerinin beyin AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkisi

DERİŞİM (mg L ⁻¹)	SÜRE (GÜN)					
	7. Gün		14.Gün		28. Gün	
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0.0	0.116±0.005	ax	0.123±0.005	ax	0.111±0.003	ax
1.0 Pb	0.187±0.002	bx	0.177±0.004	bx	0.154±0.004	by
1.0 Pb+5.0 Se	0.142±0.004	cx	0.151±0.004	cx	0.134±0.003	cy

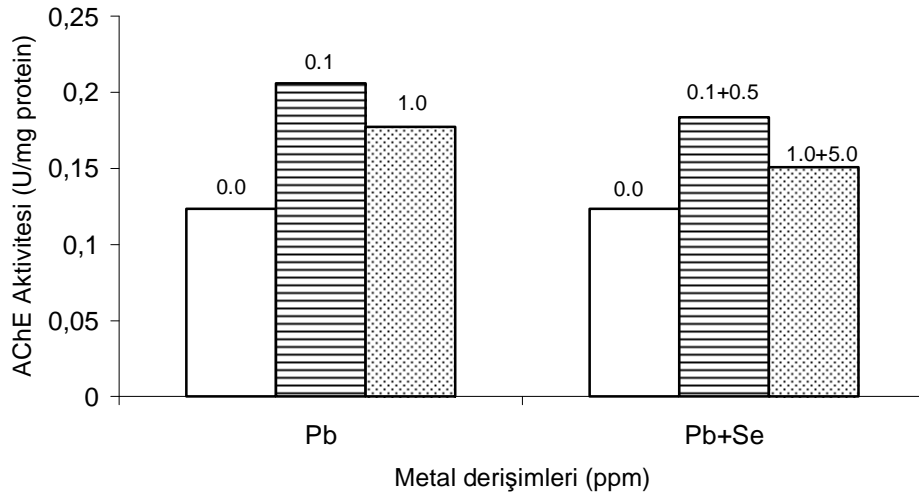
* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0.01).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

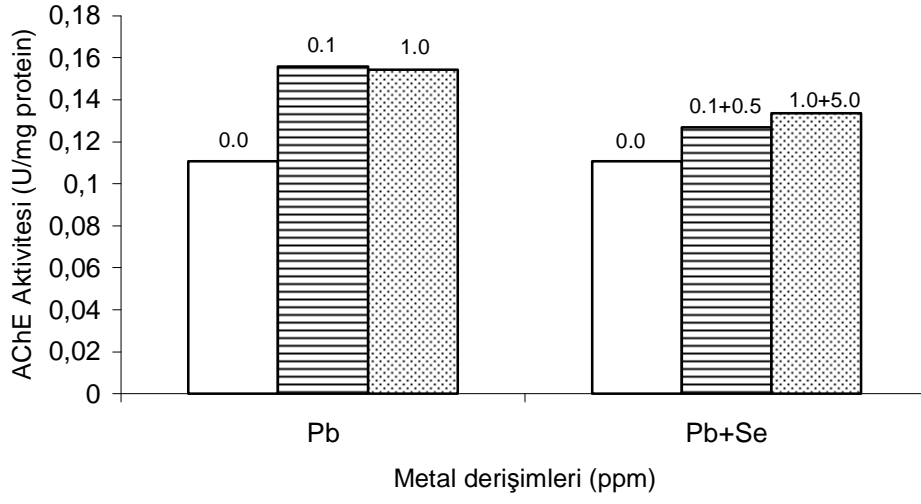
Belirli bir sürede *O. niloticus*'ta beyin AChE aktivitesi üzerine Pb ve Pb +Se karışımlarının derişime bağlı etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizleri yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.15-4.17'de verilmiştir. Pb ve Pb+Se karışımların etkisinde beyin AChE aktivitesi kontrole göre artış göstermiştir. 28 günlük süre sonunda yüksek Pb ve Pb+Se ortam derişimlerinin etkisinde beyin AChE aktivitesi kontrole göre sırasıyla %39 ve %21 düzeyinde artış gösterdiği saptanmıştır.



Şekil 4.15. 7. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.



Şekil 4.16. 14. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.



Şekil 4.17. 28. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Pb ve Pb + Se ortam derişimlerinin etkisi.

5.TARTIŞMA

Bu çalışmada 1.0 mg/L Pb'nun etkisindeki deney guruplarındaki balıklarda mortalite gözlenmemiştir. Bununla birlikte balıkların aktivitelerinin azaldığı, renklerinin solduğu, solungaç ile yüzgeçlerde dejenerasyonların olduğu belirlenmiştir. Pb'nun etkisine bırakılan *Hoplias malabaricus* balıklarında morfolojik değişimlerin olduğu saptanmıştır (Alves Costa ve ark., 2007). Sola ve ark.(1994) 1.0 mg/L Pb'nun etkisine bıraktıkları *Oncorhynchus mykiss* balıklarının ilk 16 gün içerisinde tümünün öldüğünü belirlemiştirlerdir. Ağır metallerin yüksek derişimlerinde, solungaç epitelyum hücrelerinin çürüdüğü, solungaçları örten mukus tabakası hücreleri döküldüğü, solungaç ve yüzgeçlerin morardığı gözlenmektedir. Bu değişiklikler solungaçlardaki yüzey alanının azalmasına ve bunun sonucunda da O₂ alınımında bozulmalara neden olmaktadır. Metallerin düşük derişimlerinde ise iç organlarda morfolojik değişimler görülmemekle birlikte, metabolik prosesler ve enzim fonksiyonlarının bozulduğu belirlenmiştir (Heath, 1987; Nemcsok ve Hughes, 1988; Viarengo, 1989).

Balıklarda genelde deri ve solungaçlar yoluyla alınan ağır metaller serum proteinlerine bağlanarak belirli dokulara taşınırlar. Balıklarda Pb su ortamından solungaçlar yoluyla alınarak vücuda girmekte ve karaciğer ile böbreklere taşınmaktadır (Rogers ve ark., 2003). Solungaçlar tarafından Pb alınımının, kurşun partiküllerinin solungaç yüzeyine yapışması ve solungaçların iç ortamında serbest hale geçmesi şeklinde olmak üzere iki şekilde olduğu saptanmıştır (Tao ve ark., 1999).

Ağır metaller balıklar üzerideki başlıca etkilerini solungaç, karaciğer ve böbrek dokusunda değişiklikler yaparak göstermektedirler. Ağır metaller balıklarda aktiviteyi stimüle etmekte bir çok dokuda fiziksel tahrişler oluşturmakta ve bunun sonucunda metabolik oranın yükselmesine neden olmaktadır (Ali ve ark., 2003). Ağır metalleri biriktirmede balık dokuları genelde farklılık göstermektedir. Balık dokularında ağır metal düzeylerindeki farklılıkların nedenleri arasında, metalin etkisi, balığın yaşı ve eşey gibi iç etkenlerin önemli rol oynadığı belirtilmiştir (Linde

ve ark., 1999). Balıklarda metal metabolizmasının aktif olduğu doku ve organlarda ağır metallerin daha fazla biriktiği belirlenmiştir (De Conto Cinier ve ark., 1999).

Su canlılarında ağır metal birikimi derişime ve etkide kalınan süreye bağılı olarak artış göstermektedir. Pb'nun 30 gün süreyle etkisine bırakılan bir tatlı su balığı *A. testudineus*' un doku ve organlarında Pb birikimi ortamda Pb'un artışıyla arttığı gözlenmiştir (Tulasi ve ark., 1992). *R. philippinarium*'da Pb birikimiyle ilgili yapılan bir çalışmada dokularda Pb birikimi derişime ve etkide kalınan süreye bağılı olarak arttığı belirtilmiştir (Blasco ve Puppo, 1999). Kurşun birikimiyle ilgili yapılan bir çalışmada *P. clarkii*'de dokularda Pb birikiminin ortam derişimi ve etkide kalınan süreye bağılı olarak arttığı saptanmıştır (Anderson ve ark., 1997). Bu çalışmada *O. niloticus*'un tüm dokularında Pb birikimi etkide kalınan süre ve ortam derişimindeki artışa paralel olarak arttığı saptanmıştır.

Ağır metal birikiminin organ spesifikliğine bağılı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiş olup en yüksek birikimin karaciğer, böbrek ve solungaç gibi organlarda olmaktadır. Bu organlarda yüksek düzeyde metal birikimi bu organların metabolizmadaki işlevlerinden kaynaklanmaktadır (Tulasi ve ark., 1992; Anderson ve ark.,1997). Karaciğer, böbrek ve solungaç gibi organlar ağır metal ve diğer kirleticilerin birikiminde hedef organlardır. Farklı balık türleriyle yapılan araştırmalarda bu organların değişik metalleri yüksek düzeylerde biriktirdikleri saptanmıştır (Reichert ve ark., 1979; Norey ve ark., 1990; Kargın ve Erdem, 1992; Yang ve Chen, 1996; Kargın ve Çoğun, 1999; Tao ve ark., 1999; Kehrig ve ark., 2009).

Balıklarda ağır metal birikimiyle ilgili yapılan araştırmalarda böbreklerin yüksek düzeyde metal biriktirdiği belirlenmiştir (Thomas ve ark., 1985; Suresh ve ark., 1993). Metallerin böbreklerde yüksek miktarlarda birikmesi bu organın metalleri vücuttan atabilme işlevi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Böbrekler aynı zamanda ağır metalleri bağlayan metallothioneinleri sentezlemektedir (Kito ve ark., 1986). *C. carpio* ile yapılan bir çalışmada kurşunun en fazla böbreklerde biriktiğini bunu karaciğer ve solungaç dokusunun izlediği belirtilmiştir (Bervoets ve ark.,2009). 30 gün süre ile Pb 'nun etkisine bırakılan *A. testudineus* balığında Pb birikiminin böbrek>solungaç>karaciğer sırasını izlediği belirtilmiştir (Tulasi ve ark., 1992). Bu

araştırmada denenen tüm süre ve derişimlerde en yüksek Pb birikiminin diğer organlara kıyasla böbreklerde olduğu saptanmıştır.

Karaciğer metal biriktirmede çok önemli indikatör bir organdır. Balıklarda karaciğer, metallerin depolanmasında ve detoksifikasyonunda görev yapan önemli bir organ olduğu belirtilmiştir (Ali ve ark., 2003). *O.niloticus* ile yapılan bu çalışmada karaciğerin kurşunu yüksek miktarlarda biriktirdiği saptanmıştır. Farklı balık türleriyle yapılan araştırmalarda karaciğerin Pb biriktirmede önemli bir organ olduğu belirlenmiştir (Sastry ve Gupta, 1978; Tulasi ve ark., 1992; Bervoets ve ark.,2009). *Oncorhynchus kisutch*'da Pb birikiminin karaciğerde yüksek düzeylere ulaştığı ve metallothionein sentezini teşvik ettiği saptanmıştır (Reichert ve ark., 1979).

Solungaçlar, bir balığın tüm dış yüzey alanının yarısından fazlasını oluşturmakta ve saatte yaklaşık 48 litre suyun geçtiği önemli bir dokudur. Bu nedenle balık solungaçları dış ortamdaki metaller için ilk hedef dokudur ve metalin vücuda girişinde önemli bir yer olduğu belirtilmiştir (Tao ve ark., 1999). Tatlı su balıklarıyla yapılan çalışmalarda kurşunun solungaçlarda yüksek düzeyde biriktiği belirtilmiştir (Tulasi ve ark., 1992; Bervoets ve ark.,2009). Bu araştırmada *O.niloticus*'da böbrekten sonra en yüksek Pb birikimi solungaçlarda olmuştur. Bu büyük bir olasılıkla solungaçların geniş bir yüzey alanına sahip olması ve solungaçları kaplayan mukusun metalleri tutmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bu araştırmada beyin dokusunda Pb birikimi diğer organlara göre düşük düzeylerde olduğu saptanmıştır. Canlı ve Kargin (1995), *C. carpio* ile yaptıkları bir araştırmada beyin dokusunda Pb birikiminin karaciğere oranla düşük olduğunu saptamışlardır. *Tilapia nilotica* ile yapılan bir çalışmada beyin dokusunun Cu ve Zn gibi metalleri düşük düzeyde biriktirdiği belirtilmiştir (Karakoç ve Kargin, 1999).

Selenyum (Se) organizmalarda büyüme ve hücre membranının normal durumunun korunmasında önemli bir rolü bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda Se'un antioksidant rolü ile ilgili çok önemli bir işlevinin de olduğu belirtilmiştir (Monteiro ve ark., 2009). Se, GPx enziminin önemli bir parçasıdır ve hücresel sistemde GSG-bağlı enzimatik antioksidanların işini kolaylaştırmaktadır (Farmand ve ark., 2005).

Se toksik metalleri bağlamada ve olası toksik etkilerini azaltmada önemli bir rol oynamaktadır. Se bileşikleri memelilerde, kuşlarda ve balıklarda ağır metal toksisitesini azalttığı birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Cuvin-Aralar ve Furnes, 1991; Chapman ve Chan, 2000; Ateş ve ark., 2008). Bu çalışmada Se+Pb karışımının etkisine bırakılan balıkların, doğrudan Pb etkisine bırakılanlara oranla daha sağlıklı oldukları gözlenmiştir. Selenyumun toksik metallerle karşı koruyucu etkisi bulunmaktadır. *Mytilus edulis* ile yapılan bir çalışmada deney ortamına Se eklenmesiyle Hg'nin neden olduğu DNA hasarlarının azaldığı belirlenmiştir (Tran ve ark., 2007). Araştırmacılar selenyumun Hg toksisitesine karşı koruyucu etkiyi Se'un Hg ile kompleks oluşturarak, bağlanma yeri için Hg ile rekabet ederek ve oksidatif hasarı engelleyerek yapabildiğini belirtmişlerdir. *Salvelinus namaychus* 'da Hg toksisitesi üzerine Se'un koruyucu etkisinin olduğu belirtilmiştir (Klaverkamp ve ark., 1983). Farelerde Cd toksisitesine karşı Se'un koruyucu etkiyi, Cd'un DNA'ya verdiği zararlara karşı antagonistik etki göstererek ve antioksidant sistemlerini yardımcı olarak yaptığı belirtilmiştir (Jihen ve ark., 2008). Hg etkisine bırakılan *Oreochromis mossambicus* 'da Hg etkisine karşı Se'un antagonistik bir etki gösterdiği saptanmıştır (Siegel ve ark., 1991).

Se, organizmaların dokularında metallerin birikimini engelleyen önemli bir elementtir. Ortamda Se bulunması durumunda metal birikiminin omurgasız hayvanlarda (Tran ve ark., 2007) ve balıklarda (Siegel ve ark., 1991; Kehrig ve ark., 2009) azaldığı saptanmıştır.

28.gün sonunda doğrudan Pb etkisine bırakılan balıklara oranla Pb+Se etkisindeki balıkların dokularında Pb birikiminin önemli düzeyde azaldığı saptanmıştır. Balıkların dokularındaki Pb birikimi, 0.1 mg/L¹ Pb +0.5 mg/L Se karışımındaki balıklarda 0.1 mg/L Pb etkisindeki balıklara oranla böbrekte %54, karaciğerde %34, beyinde %32 ve solungaçlarda %15 ve 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Se karışımındaki balıklarda 1.0 mg/L Pb etkisindeki balıklara göre böbrekte %56, Karaciğerde %51, beyinde %41 ve solungaçlarda %31 düzeyinde bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Selenyumun dokularda kurşun birikimini engellemesi büyük bir olasılıkla solungaçlarda selenyumun kurşun ile rekabete girmesi ve kurşuna bağlanarak hareketsiz kalmasını sağlaması sonucu olabilir. *Mugil liza*,

Micropogonias furneri ve *Centropomus undecimalis* gibi balık türlerinde karaciğerdeki Hg birikiminin ortama Se ilavesiyle oldukça azaldığı saptanmıştır (Kehrig ve ark., 2009). Farelerle yapılan bir araştırmada Hg'nin etkisine bırakılan hayvanlara oranla Hg + Se karışımına bırakılan hayvanların karaciğerinde Hg'nin %29 düzeyinde azaldığı belirtilmiştir (Seppanen ve ark., 1998). Denenen tüm süre ve derişimlerde kurşunun doğrudan etkisine bırakılan balıklara oranla kurşun + selenyum karışımındaki balıkların dokularındaki kurşun birikimindeki azalma en fazla böbrekte olmuş, bunu karaciğer, beyin ve solungaç dokusu izlemiştir. Diğer dokulara kıyasla kurşun birikiminin böbrekte yüksek düzeyde azalmasının, böbreklerin boşaltım işlevinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Asetil kolin esteraz (AChE) omurgalı ve omurgasız hayvanlarda doğal ve laboratuvar koşullarında bir biyomarkır olarak geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Balıklarda AChE aktivitesi tatlı su kirliliğine tepkide çok hassas bir biyomarkır olarak kullanılmaktadır (De La Torre ve ark., 2000). AChE enzimi asetil kolinin sinir iletiminde bütünleyici bir rol oynadığı ve kirleticilerin etkisinde inhibüsyon için hedef bir bölge olduğu belirtilmiştir (Rakotondravelo ve ark., 2006). *O. niloticus* ile yapılan bu çalışmada spesifik stres indeksi olarak kullanılan AChE enziminin aktivitesi ölçülmüştür.

Bu çalışmada Pb'nun etkisine farklı sürelerle bırakılan *O. niloticus*'un beyin dokusu hariç diğer dokularında AChE aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. AChE aktivitesindeki bu azalma metalin sülfidril gruplarına bağlanması nedeniyle enzimin yapısının değişmesi sonucu olabileceği düşünülmektedir. Portekiz kıyılarında kirlenmiş bölgeden alınan *Mytilus galloprovincialis*'de AChE aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (Moreira ve Guilhermino, 2005). Hg'nin subletal derişimlerine (0.1 mg/L) ve Zn'nun (6.0 mg/L) derişimlerine 1, 15 ve 30 gün sürelerle bırakılan *C. carpio*'da dokularda AChE aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir (Suresh ve ark., 1992). Cd'un 0.1, 1.0 ve 5.0 µg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *Gambusia affinis* balıklarında AChE aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (Mohamed ve ark., 2008). *Monodonta lineata* ve *Nucella lapillus* 'da Cu ve Cd'un etkisiyle ilgili yapılan bir çalışmada Cu'nun etkisinde ChE aktivitesinin azaldığı belirtilmiştir (Cunha ve ark., 2007). Brezilyada ağır metal ve pestisidlerle kirlenmiş nehirden alınan *O.*

niloticus'da AChE aktivitesinin düşük olduğu belirtilmiştir (Linde-Arias ve ark., 2008). Zn ve Hg etkisine bırakılan *Carcinus means*'da her iki metalinde ChE aktivitesini sırasıyla %51 ve %32 düzeyinde azalmasına neden olduğu belirtilmiştir (Elumalai ve ark., 2007). Araştırmacılar *C. means*'daki bu azalmanın metallerin nörotransmitter asetilkolin sinapsını etkilemesi sonucu olabileceğini belirtmişlerdir.

Pb'nun etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer, böbrek ve solungaç dokusunda AChE aktivitesi kontrol balıklarına göre azalırken, beyin dokusu AChE aktivitesinin arttığı saptanmıştır. *C. means*'da Cu, Cr ve bunların karışımıyla yapılan araştırmada metallerin tek başlarına ve karışımlarının etkisinde karaciğer aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir (Elumalai ve ark., 2002). Cu'nun etkisine bırakılan *Ruditapes decussatus*'da solungaç AChE aktivitesinin kontrole göre azaldığı saptanmıştır (Hamza-Chaffai ve ark., 1998). Romani ve ark. (2003) *Sparus auratus* balığının Cu etkisinde beyin AChE aktivitesinin önemli düzeyde artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Ağır metallerin etkisinde AChE aktivitesindeki değişimler derişime, dokuya ve etkide kalınan süreye bağlı olarak değişim göstermektedir. Bu araştırmada Pb ve Pb+Se karışımlarının etkisinde balıklarda AChE aktivitesi, derişim ve etkide kalınan süreye bağlı olarak karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında azalırken, beyin dokusunda ise arttığı saptanmıştır. Cu, Cu+Zn karışımına bırakılan *O. mykiss*'de beyin AChE aktivitesi sürenin uzamasına bağlı olarak artış göstermiştir (Dethloff ve ark., 1999). *Barbus conchoni* balığında 48 saatte Cd'un etkisi altında solungaç dokusu AChE aktivitesi azalmış, beyin dokusu AChE aktivitesi ise artmıştır (Gill ve ark., 1991). Arsenik (As) derişimlerinin etkisine bırakılan *Channa punctatus* balığında AChE aktivitesi derişim ve süreye bağlı olarak azalmıştır (Roy ve ark., 2006). 0.1 ve 0.5 ppm Cu'un etkisine 20 gün süreyle bırakılan *S. auratus*'da AChE aktivitesi beyin dokusunda 0.1 ppm ortam derişiminde değişiklik göstermezken, 0.5 ppm de artış göstermiş, kas dokusunda ise her iki ortam derişiminde de önemli artış olmuştur (Romani ve ark., 2003). Parathionun etkisine bırakılan *Danio rerio* balıklarında derişim artışı ve sürenin uzamasına bağlı olarak AChE aktivitesindeki azalma daha yüksek olmuştur (Roex ve ark., 2003).

Pb+Se karışımının etkisine bırakılan balıkların karaciğer, böbrek ve solungaç dokusu AChE aktivitesindeki azalma ve beyin dokusu AChE aktivitesindeki artışın, Pb'nun doğrudan etkisine bırakılan balıklara oranla daha düşük düzeyde kaldığı belirlenmiştir. Pb'nun yüksek ve düşük derişimlerine Se ilavesiyle dokularda AChE aktivitesindeki değişikliklerin en düşük düzeylere indiği belirlenmiştir. As'nin yüksek ve düşük derişimlerinin bulunduğu ortama Se ilavesiyle *C. punctatus*'da AChE inhibüsyonunun düzelmesinde Se'un önemli bir rol oynadığı saptanmıştır (Roy ve ark., 2006). Araştırmacılar AChE enziminin aktif bölgesine bağlanmada As ve Se'un rekabete girdiği ve Se'un As'den daha yüksek bağlanma oranına sahip olması nedeniyle As'in enzim üzerine yapacağı inhibüsyon etkisini engellemede önemli bir rol oynadığını belirtmişlerdir. Se, Pb ile birlikte verildiğinde canlılarda AChE aktivitesinde önemli bir düzelme olduğu belirtilmiştir (Nehru ve Dua, 1997). Farelerle yapılan bir araştırmada Se+Hg karışımında beyin, karaciğer ve kan dokusunda Hg'nin farklı enzimler üzerindeki toksik etkisini kısmen azalttığı Se'un Hg'nin toksik etkisine karşı antagonistik bir etki gösterdiği belirtilmiştir (El-Demerdash, 2001).

KAYNAKLAR

- ALI, A., AL-OGAILY, M., AL-ASGAH, N.A., and GROPP, J., 2003. Effect of Sublethal Concentrations of Copper on the Growth Performance of *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Ichthyology*, 19: 183-188.
- ALVES COSTA, J.R.M., MELA, M., ASSIS, H.C.S., PELLETIER, E., RANDI, M.A.F., and RIBERIO, C.A.O., 2007. Enzymatic Inhibition and Morphological Changes in *Hoplias malabaricus* from Dietary Exposure to Lead (II) or Methylmercury. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67: 82-88.
- ANDERSON, M. B., PRESLAN, J. E., JOLIBOS, 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.
- ATES, B., ORUN, I., TALAS, Z.S., DURMAZ, G., and YILMAZ, I., 2008. Effects of Sodium Selenite on Some Biochemical and Hematological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) Exposed to Pb²⁺ and Cu²⁺. *Fish Physiol. Biochem.*, 34: 53-59.
- BERVOETS, L., CAMPENHOUT, K.V., REYNDERS; H., KNAPEN, D., COVACI, A., and BLUST, R., 2009. Bioaccumulation of Micropollutants and Biomarker Responses in Caged Carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 720-728.
- BLASCO, J. and PUPPO, J., 1999. Effects of Heavy Metals (Cu, Cd and Pb) on Aspartate and Alanine Aminotransferase in *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia). *Comp. Biochem. and Physiol., Part C.*, 122: 253-263.
- CAMPANA, O., SARASQUETE, C., and BLASCO, J., 2003. Effect of Lead on ALA-D Activity, Metallothionein Levels, and Lipid Peroxidation in Blood, Kidney, and Liver of the Toadfish *Halobatrachus didactylus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55: 116-125.

- CANLI, M., and KARGIN, F., 1995. A Comparative Study on Heavy Metal (Cd, Cr, Pb and Ni) Accumulation in the Tissue of the Carp *Cyprinus carpio* and the Nil Fish *Tilapia nilotica*. Tr. J. Zoology, 19: 165-171.
- CHAPMAN, L., and CHAN, H.M., 2000. The Influence of Nutrition on Methylmercury Intoxication. Environ. Health Perspect., 108: 29-56.
- CUNHA, I., MANGAS-RAMIREZ, E., and GUILHERMINO, LC, 2007. Effects of Copper and Cadmium on Cholinesterase and Glutathione S-Transferase Activities of Two Marine Gastropods (*Monodonta lineata* and *Nucella lapillus*). Comparative Biochemistry and Physiology, C 145: 648-657.
- CUVIN-ARALAR, M. L. A., and FURNESS, R.W., 1991. mercury and Selenium Interaction: A Review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 21: 348-364.
- 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.
- DE CONTO CINIER, C., PETIT-RAMEL, FAURE, R., GARIN, D and BOUVET, Y., 1999. Kinetics of Cadmium Accumulation and Elimination in Carp *Cyprinus carpio* Tissues. Comp. Biochem. and Physiol., Part C., 122: 345-352.
- DE LA TORRE, F. R., SALIBIAN, A. and FERRARI, L., 2000. Biomarkers Assessment in Juvenile *Cyprinus Carpio* Exposed to Waterborne Cadmium. Environmental Pollution, 109: 277-282.
- DE LA TORRE, F. R., FERRARI, L., and SALIBIAN, A. 2002. Freshwater Pollution Biomarker : Response of Brain Acetylcholinesterase activity in Two Fish Species. Comparative Biochemistry and Physiology C 131: 271-280.
- DETHLOFF, G. M., SCHLENK, D., HAMM, J. and BAILEY, H. C., 1999. Alterations in Physiological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) With Exposure to Copper and Copper/Zinc Mixtures. Ecotoxicol. Environ. Saf., 42B: 256-264.
- DIPLOCK, A.T., WATKINS, W.J., HEURSON, M., 1986. Selenium and Heavy Metals. Ann. Clin. Res., 18: 55-60.

- EL-DEMERDASH, F.M., 2001. Effects of Selenium and Mercury on The Enzymatic Activities and Lipid Peroxidation in Brain, liver and blood of Rats. J. Environ. Sci. Health, Part B, Pestic. Food Contam. Agric. Wastes. 36: 489-499.
- ELLMAN, G.L., COURTNEY, K.D., ANDRES, V., FEATHERSTONE, R.M., 1961. A new and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. Biochemical Pharmacology, 7:88-95.
- EL-SHARAKY, A.S., NEWAIRY, A.A., BADRELDEEN, M.M., EWEDA, S.M., and SHEWEITA, S.A., 2007. Protective Role of Selenium Against Renal Toxicity Induced by Cadmium in Rats. Toxicology, 235: 185-193.
- ELUMALAI, M., ANTUNES, C., and GUILHERMINO, L., 2002. Effects of Single Metals and Their Mixtures on Selected Enzymes of *Carcinus maenas*. Water, Air and Soil Pollution, 141: 273-280.
- ELUMALAI, M., ANTUNES, C., and GUILHERMINO, L., 2007. Enzymatic Biomarkers in the Crab *Carcinus maenas* from the Minho River Estuary (NW Portugal) Exposed to Zinc and Mercury. Chemosphere, 66: 1249-1255.
- FARMAND, F., EHDAIE, A., ROBERTS, C.K., and SINDHU, R.K., 2005. Lead-Induced Dysregulation of Superoxide Dismutases, Catalase, Glutathione Peroxidase, and Guanylate Cyclase. Environmental Research. 98: 33-39.
- FLORA, S.J.S., BEHARI, J.R., ASHQUIN, M., and TANDON, S.K., 1982. Time-Dependent Protective Effect of Selenium Against Cadmium-Induced Nephrotoxicity and Hepatotoxicity. Chemico-Biological Interactions. 42:345-351.
- FONESCA, M.G., OLIVERIA, M.M., ARAKAKI, L.N.H., 2006. Removal of Cadmium, Zinc, Manganese and Chromium Cations From Aqueous Solution by a Clay Mineral. Journal of Hazardous Materials. 137: 288-292.
- GILL, T.S., TEWARI, H., and PANDE, J., 1991. *In Vivo* and *In Vitro* Effects of Cadmium in Selected Enzymes in Different Organs of the Fish *Barbus conchoniis* (Rosy Crab). Comp. Biochem Physiol., 100C: 501-505.
- GUILHERMINO, L., LACERDA, M.N., NOGUEIRA, A.J.A., and SOARES, A.M.V.M., 2000. *In Vitro* and *in Vivo* Inhibition of *Daphnia magna*

- Acetylcholinesterase by Surfactants: Possible Implications for Contamination Biomonitoring. *Sci. Total Environ.*, 247: 137-141.
- HAMZA-CHAFFAI, A., ROMEO, M., GNASSIA-BARELLI, M., and EL ABED, A., 1998. Effect of Copper and Lindane on Some Biomarkers Measured in the Clam *Ruditapes decussatus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61: 397-404.
- HEATH, A.G., 1987. *Water Pollution and Fish Physiology*. CRC Pres. 24 pp. Florida USA.
- JIHEN, E.H., IMED, M., FATIMA, H., and ABDELHAMID, K., 2008. Protective Effects of Selenium (Se) and Zinc (Zn) on Cadmium (cd) Toxicity in the Liver and Kidney of the Rat: Histology and Cd Accumulation. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 3522-3527.
- JING, G., LI, Y., XIE, L., and ZHANG, R., 2007, Different Effects of Pb⁺² and Cu⁺² on Immune and Antioxidant Enzyme Activities in the Mantle of *Pinctada fucata*. *Environmental Toxicology and Phamacology*, 24: 122-128.
- KARAKOÇ, M., and KARGIN, F., 1999. *Tilapia nilotica*'da Metal ve Metal Karışımının Dalak, Beyin ve Kas Dokularında Birikimi. *Tr. J. Zoology*, 2: 719-724.
- KARGIN, F. and COGUN, H. Y., 1999. Metal Interactions During Accumulation and Elimination of Zinc and Cadmium in Tissues of the Freshwater Fish *Tilapia nilotica*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 63: 511-519.
- KARGIN, F. and ERDEM, C., 1992. Bakır-Çinko Etkileşiminde *Tilapia nilotica* (L.)'nın Karaciğer, Solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi. *Doğa-Tr. J. of Zoology*, 16: 343-348.
- KAUR, R., and SANDHU, H.S., 2008. In vivo Changes in Antioxidant System and Protective role of Selenium in Chlorpyrifos-Induced Subchronic Toxicity in *Bubalus bubalus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 26: 45-48.
- KEHRIG, H.A., SEIXAS, T.G., PALERMO, E.A., BAETA, A.P., CASTELO-BRANCO, C.W., MALM, O., and MOREIRA, I., 2009. The Relationship Between Mercury and Selenium in Plankton and Fish From a Tropical Food Web. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16: 10-24.

- KIRBY, J., MAHER, W. and KRIKOVA, F., 2001. Selenium, Cadmium, Copper and Zinc Concentrations in Sediments and Mullet (*Mugil cephalus*) from the Southern Basin of Lake Macquarie, NSW, Australia. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 40: 246-256.
- KITO, H., OSE, Y. and SATO, T. 1986. Cadmium-Binding Protein (Metallothionein) in Carp Environ. Health Perspect. 65: 117-124.
- KLAVERKAMP, J.F., MACDONALD, W.A., LILLIE, W.R., and LUTZ, A., 1983. Joint Toxicity of Mercury and Selenium in Salmonid Eggs. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 12: 415-419.
- LEGIERSE, K.C.H.M., 1998. Differences in Sensitivity of Aquatic Organisms to Organophosphorus Pesticides. Ph. D. Thesis, University of Utrecht, Utrecht, Netherlands.
- LEINIO, S., and LETHONEN, K.K., 2005. Seasonal Variability in Biomarkers in the Bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* from the Northern Baltica Sea. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 140: 408-421.
- LINDE-ARIAS, A.R., INACIO, A.F., ALBURQUERQUE, C., FREIRE, M.M., AND MOREIRA, J.C., 2008. Biomarkers in an Invasive Fish Species *Oreochromis niloticus*, to Assess the Effects of Pollution in a Highly Degraded Brazilian River. Science of The Total Environment. 399: 186-192.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUCGH, N.J., FARR, A. L., RANDALL., R., 1951. Protein Measurement With Folin Phenol Reagent. J. Biol. Chem., 193-265.
- MAZON, A. F. and FERNANDEZ, M. N., 1999. Toxicity and Tissue Accumulation of Copper in the Tropical Freshwater Fish, *Prochilodus scrofa* (Prochilodontidae). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 63: 797-804.
- McDONALD, A., SILK, L., SCHWARTZ, M., and PLAYLE, R.C., 2002. A Lead-Gill Binding Model to Predict Acute Lead Toxicity to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comp. Biochem. Physiol., C. 133: 227-242.
- MILLER, L.L., WANG, F., PALACE, V.P., and HONTELA, A., 2007. Effects of Acute and Subchronic Exposure to Waterborne Selenite on the Physiological Stress Response and Oxidative Stress Indicators in Juvenile *Rainbow trout*. Aquatic Toxicology, 83: 263-271.

- MOHAMED, S., KHEIREDDINE, O., WYLLIA, H.M., ROQUIA, R., AICHA, D., and MOURAD, B. 2008. Proportioning of Biomarkers (GSH, GST, AChE, Catalase) Indicator of Pollution at *Gambusia affinis* (Teleost Fish) Exposed to Cadmium. *Environmental Research Journal*. 2(4): 177-181.
- MONTEIRO, D.A., RANTIN, F.T., and KALININ, A.L., 2009. The Effects of Selenium on oxidative Stress Biomarkers in the Freshwater Characid Fish *Matrinxa Brycon cephalus* (Günther, 1869) Exposed to Organophosphate Insecticide Folisper 600 BR (Methyl Parathion). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 149: 40-49.
- MOREIRA, S.M., and GUILHERMINO, L., 2005. The Use of *Mytilus galloprovincialis* Acetylcholinesterase and Glutathione S-Transferases Activities as Biomarkers of Environmental Contamination Along The Northwest Portuguese Coast. *Environmental Monitoring and Assessment*, 105: 309-325.
- MUNOZ, M.J., CARBALLO;M., TARAZONA, J.V., 1991. The Effect of Sublethal Levels of Copper and Cyanide on Some Biochemical Parameters of Rainbow Trout Along Subacute Exposition. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100C: 577-582.
- MUNOZ, A.H.S., WROBEL, K., CORONA, F. G., and W., K., 2007. The Protective effect of Selenium Inorganic Forms Against Cadmium and Silver Toxicity in Mycelia of *Pleurotus ostreatus*. *Mycological Research III*, 626-632.
- NEHRU, B., and DUA, R., 1997. Effect of Dietary Selenium on Lead Neurotoicity. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 16: 47-50.
- NEMCSOK, J.G. and HUGHES, G.M., 1988. The Effect of Copper Sulphate on Some Biochemical Parameters of Rainbow trout. *Environmental Pollution*, 49: 77-85.
- NOREY, C.G., BROWN, M.W., CREYER, A. And KAY, J. 1990. A Comparison of the Accumulation, Tissue Distribution and Secretion of Cadmium in Different Species of Freshwater Fishç *Comp. Biochem. Physiol.* 96 C(1): 181-184.

- ORUN, I., TALAS, Z.S., OZDEMİR, I., ALKAN, A., and ERDOGAN, K., 2008. Antioxidative Role of Selenium on Some Tissues of (Cd²⁺, Cr³⁺) –Induced Rainbow Trout. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71: 71-75.
- RABITO, I. S., ALVES COSTA, J.M.R., SILVA de ASSIS; H.C., PELLETIER, E., AKAISHI, F:M., ANJOS, A., RANDI, M.A.F., and OLIVERIA RIBERIO, C.A., 2005. Effects of Dietary Pb (II) and Tributyltin on Neotropical Fish, *Hoplias malabaricus* Histopathological and Biochemical Finding. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 60 (2): 147-156.
- RAKOTONDRAVELO, M.L., ANDERSON, T.D., CHARLATON, R.E., ZHU, K.Y., 2006. Sublethal Effects of Three Pesticides on Activities of Selected Target and Detoxification Enzymes in the Aquatic Midge, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*,51: 360-366.
- REICHERT, W.L., FEDERIGH, D.A., and MALINS, D.C. 1979. Uptake and Metabolism of Lead and Cadmium in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comp. Biochem. Physiol.* 63 C: 229-234.
- ROEX, E.W.M., KEIJZERS, R., and van GESTEL, C.A.M., 2003. Acetylcholinesterase Inhibition and Increased Food Consumption Rate in the Zebrafish, *Danio rerio*, After Chronic Exposure to Parathion. *Aquatic Toxicology*. 64: 451-460.
- ROGERS, J. T., RICHARDS, J. G. and WOOD, C. M., 2003. Ionoregulatory Disruption as the Toxic Mechanism for Lead in the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 64(2): 215-234.
- ROMANI, R., ANTOGNELLI, C., BALDRACCHINI, F., DE SANTIS, A., ISANI, G., GIOVANNINI, E., and ROSI, G., 2003. Increased Acetylcholinesterase Activities in Specimens of *Sparus auratus* Exposed to Sublethal Copper Concentrations. *Chemico-Biological Interactions* 145: 321-329.
- ROY, S., CHATTORAJ, A., and BHATTACHARYA, S., 2006. Arsenic-Induced Changes in Optic Tectal Histoarchitecture and Acetylcholinesterase-Acetylcholine Profile in *Channa punctatus*: Amelioration by Selenium. *Comparative Biochemistry Physiology*, C 144: 16-24.

- SASTRY, K.V., and GUPTA, P.K. 1978. Histopatological and Enxymological Studies on the Effects of Chronic Lead Nitrate Intoxication in the Digestive System of Freshwater Teleost *Channa punctatus*. *Environ Res.*, 17: 472-479.
- SEPPANEN, K., LAATIKAINEN, R., SALONEN, J.T., KANTOLA, M., LÖTJÖNEN, S., HARRI, M., NURINEN, L., KAIKKONEN, J., and NYSSÖNEN, K., 1998. Mercury-Binding Capacity of Organic and Inorganic Selenium in Rat Blood and Liver. *Biological Trace Element Research*. 65: 197-201.
- SIEGEL, B.Z., SIEGEL, S.M., CORREA, T., DAGAN, C., GALVEZ, G., LEELOY, L., PADUA, A., and YAEGER, E., 1991. The Protection of Invertebrates, Fish, and Vascular Plants Against Inorganic Mercury Poisoning by Sulfur and Selenium Derivates. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20: 241-246.
- SOLA, F., MASONI, A., and ISAIA, J., 1994. Effects of Lead Loads on Branchial Osmoregulatory Mechanisms in the Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 34(1): 12-20.
- SU, L., WANG, M., YIN, S., WANG, H., CHEN, L., SUN, L., RUAN, D., 2008. The Interaction of Selenium and Mercury in the Accumulation and Oxidative Stres of Rat Tissues. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 70: 483-489.
- SURESH, A., SIVARAMKRISHNA, B., VICTORIAMMA, P.C., and RADHAKRISHNAIAH, K. 1993. Comparative Study on Inhibition of Acetylcholinesterase Activity in the Freshwater Fish *Cyprinus carpio* by Mercury and Zinc. *Biochem Int.*, 26: 367-375.
- SURESH, A., SIVARAMKRISHNA, B. and RADHAKRISHNAIAH, K. 1993. Patterns of Cadmium Accumulation in the Organs of Fry and Fingerling of Freshwater Fish *Cyprinus carpio* Following Cadmium Exposure. *Chemosphere*, 26(5): 945-953.
- TALAS, Z.S., ORUN, I., OZDEMIR, I., ERDOGAN, K., ALKAN, A., and YILMAZ, I., 2008. Antioxidative Role of Selenium Against the Toxic Effect of Heavy Metals (Cd^{2+} , Cr^{3+}) on Liver of Rainbow Trout

- (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). *Fish Physiol. Biochem.* 34: 217-222.
- 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.
- THOMAS, D. G., BROWN, M. W., SHURBEN, D., SOLBE, J. F. G., CRYER, A. and KAY, J., 1985. A Comparison of the Sequestration of Cadmium and Zinc in the Tissues of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Following Exposure to the Metals Singly or in Combination. *Comp. Biochem. Physiol. Part. C. Comp. Pharmacol. And Toxicol.*, 82(1): 55-62.
- TRAN, D., MOODY, A.J., FISHER, A.S., FOULKES, M.E., and JHA, A.N., 2007. Protective Effects of Selenium on Mercury-Induced DNA Damage in Mussel Haemocytes. *Aquatic Toxicology*, 84: 11-18.
- TULASI, S.J., REDDY, P.U., and RAO, J.V.R. 1992. Accumulation of Lead and Effects of total lipids and Lipid Derivates in Freshwater Fish *Anabas testudines*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 23: 33-38.
- VIARENGO, A., 1989. Heavy Metals in Marine Invertebrates: Mechanisms of Regulation and Toxicity at the Cellular level. *CRC crit. Review of Aquatic Sciences*, 1: 295-317
- WICKLUND GLYNN, D., 2001. The Influence of Zinc on Apical Uptake of Cadmium in the Gills and Cadmium Influx to the Circulatory System in Zebrafish (*Danio rerio*). *Comp. Biochem. Physiol. Part C.*, 128: 165-172.
- YANG, H.N., and CHEN, H.C., 1996. Uptake and Elimination of Cadmium by Japanese Eel, *Anguilla japonica*, at Various Temperatures. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56: 670-676.
- ZINKL, J.G., LOCKHART, W.L., KENNY, S.A., and WARD, F.J., 1991. The Effects of Cholinesterase Inhibiting Insecticides on Fish. In: P. (Ed), *Cholinesterase Inhibiting Insecticides. Their Impact on Wildlife and Environment. Chemicals in Agriculture*, 2. Elsevir, Amsterdam, Nedherlands, pp 233-254.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Adana'nın Yüreğir İlçesinde doğdu. 2000 yılında Adana Borsa Lisesini tamamladıktan sonra, 2003 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı. 2007 yılında dört yıllık lisans eğitimini tamamlayarak mezun oldu. 2009 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde yüksek lisans eğitimine başladı ve halen aynı enstitüde eğitime devam etmektedir.