

T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CİVA TOKSİSİTESİ ÜZERİNE SELENYUMUN KORUYUCU ROLÜNÜN
***Oreochromis niloticus*'UN SOLUNGAÇ VE KARACİĞER DOKULARINDAKİ**
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZLEM KAYA

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2016

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CİVA TOKSİSİTESİ ÜZERİNE SELENYUMUN KORUYUCU ROLÜNÜN
Oreochromis niloticus'UN SOLUNGAÇ VE KARACİĞER DOKULARINDAKİ
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Özlem KAYA
Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı

Bu tez 02/05/2016 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Özgür FIRAT
BAŞKAN (DANIŞMAN)

Doç. Dr. Hikmet Y. ÇOĞUN
ÜYE

Doç. Dr. Mustafa COŞKUN
ÜYE

Doç. Dr. Ramazan GÜRBÜZ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FEFYL/2014-0010

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

CİVA TOKSİSİTESİ ÜZERİNE SELENYUMUN KORUYUCU ROLÜNÜN *Oreochromis niloticus*'UN SOLUNGAÇ VE KARACİĞER DOKULARINDAKİ OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Özlem KAYA

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özgür FIRAT

Yıl: 2016, Sayfa Sayısı: 59

Jüri : Doç. Dr. Özgür FIRAT
: Doç. Dr. Hikmet Y. ÇOĞUN
: Doç. Dr. Mustafa COŞKUN

Bu araştırmada cıva (Hg) toksisitesini ve bu toksisite üzerine selenyumun (Se) koruyucu rolünü belirlemek için *Oreochromis niloticus*'un dokularındaki oksidatif stres parametreleri araştırılmıştır. Bu amaçla balıklar 4 ve 21 günlük sürelerle 0.01 ve 0.05 ppm Hg ile 0.01+0.01 ve 0.05+0.05 ppm Hg+Se karışımlarının etkisine bırakılmış ve solungaç ve karaciğer süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri ile malondialdehit (MDA) düzeyleri belirlenmiştir.

Hg'nin tek başına ve Se ile birlikte etkisinde incelenen oksidatif stres parametrelerinde dokuya, ortam derişimine ve etki süresine bağlı olarak önemli değişimlerin meydana geldiği belirlenmiştir.

Cıvanın tek başına ve cıva+selenyum karışımının etkisinde özellikle de yüksek ortam derişimlerinde solungaç ve karaciğer SOD ve CAT aktiviteleri, 4 günlük süre sonunda anlamlı bir artış gösterirken ($P<0.05$); 21 günlük süre sonunda ise anlamlı bir azalma göstermiştir ($P<0.05$).

Hg ve Hg+Se karışımının etkisinde her iki dokuda 4 günlük süre sonunda tüm ortam derişimlerinde önemli bir değişim göstermeyen ($P>0.05$) MDA düzeyinin, 21 günlük süre sonunda yüksek ortam derişimlerinde anlamlı bir artış gösterdiği saptanmıştır ($P<0.05$).

Sonuç olarak *O. niloticus*'ta belirlenen SOD ve CAT aktiviteleri ile MDA düzeylerindeki artış veya azalışların cıva+selenyum karışımına oranla cıvanın tek başına etkisinde daha fazla olduğu ve selenyumun cıvanın oksidatif toksisitesi üzerine koruyucu bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Oreochromis niloticus*, Cıva, Selenyum, Antioksidan Enzimler, Malondialdehit

ABSTRACT

Master Thesis

EVALUATION OF PROTECTIVE ROLE OF SELENIUM ON MERCURY TOXICITY BY OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN GILL AND LIVER TISSUES OF *Oreochromis niloticus*

Özlem KAYA

Adiyaman University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özgür FIRAT
Year: 2016, Number of Pages: 59

Jury : Assoc. Prof. Dr. Özgür FIRAT
: Assoc. Prof. Dr. Hikmet Y. ÇOĞUN
: Assoc. Prof. Dr. Mustafa COŞKUN

In this research, to determine toxicity of mercury (Hg) and whether selenium (Se) has any role in protection of this toxicity, it was investigated the alterations in oxidative stress parameters in tissues of *Oreochromis niloticus*. For this purpose fish were exposed to 0.01 and 0.05 ppm Hg and 0.01 ppm Hg+0.01 ppm Se and 0.05 ppm Hg+0.05 ppm Se for 4 and 21 days and activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) and levels of malondialdehyde (MDA) in gill and liver were determined.

It was observed significant changes in all analyzed parameters due to tissue, medium concentration and exposure period in the exposure of mercury alone and mercury+selenium mixtures.

In Hg alone, and in combination with Se especially in their higher medium concentrations, activities of SOD and CAT in the gill and liver significantly increased at 4 days ($P<0.05$), while they significantly decreased at 21 days ($P<0.05$).

In the exposure of Hg and Hg+Se and in the both tissues, it not determined significant alteration in the MDA levels at 4 days ($P>0.05$), while they elevated in their higher concentrations at 21 days ($P<0.05$).

In conclusion, it was determined the increases or decreases in activities of SOD and CAT and levels of MDA in *O. niloticus* were higher in the Hg alone than Hg+Se mixtures and selenium has a protective effect on oxidative toxicity of mercury.

Keywords: *Oreochromis niloticus*, Mercury, Selenium, Antioxidant Enzymes, Malondialdehyde

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve yürütülmesinde fikir veren, düşündüren ve yol gösteren, tezimin her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle büyük katkılar sağlayan, sadece çalışmalarında değil her zaman ilgilerini ve desteklerini esirgemeyen değerli danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Özgür FIRAT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneyisel çalışmalarımı Ç.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Ekofizyoloji laboratuvarında yapmama izin veren ve tüm laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan Saygıdeğer Hocam Prof.Dr. Ferit KARGIN'a içtenlikle teşekkür ederim. Yine çalışmalarım esnasında birçok yardımlarını gördüğüm Sayın Doç.Dr. Hikmet Yeter ÇOĞUN, Öğr.Gör.Dr. Tüzün AYTEKİN ve Öğr.Gör.Dr. Özge FIRAT'a çok teşekkür ederim.

Çocukları olmaktan her zaman gurur duyduğum sevgili annem Nuriye KOÇ ve babam Mehmet Ali KOÇ'a, hayatımın her anında yanımda olan maddi ve manevi desteğini gördüğüm canım abim Doğan KOÇ'a ve ayrıca hep ve her an yanımda olan eşim Gürdal KAYA ile biricik oğlum Eren KAYA'ya tüm kalbimle teşekkür ederim.

Son olarak da Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine çalışmamızı maddi olarak desteklediği için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM	16
3.1. Materyal	16
3.1.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler	16
3.1.2. Deneylerde kullanılan cihazlar	17
3.2. Yöntem	17
3.2.1. Doku örneklerinin alınması ve biyokimyasal analizler	18
3.2.1.1. Doku homojenatlarının hazırlanması	18
3.2.1.2. SOD aktivite tayini	19
3.2.1.3. CAT aktivite tayini	20
3.2.1.4. MDA düzeyi tayini	21
3.2.1.5. Protein düzeyi tayini	22
3.3. İstatistik	24
4. BULGULAR	25
4.1. SOD Aktivitesi.....	25
4.2. CAT Aktivitesi.....	29
4.3. MDA Düzeyi.....	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ	58
EK - 1	59

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1.	Süperoksit Dismutaz Yöntemi	19
Çizelge 3.2.	Protein Yöntemi	23
Çizelge 4.1.	Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusu SOD aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkileri.....	26
Çizelge 4.2.	Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkileri	28
Çizelge 4.3.	Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusu CAT aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkileri.....	30
Çizelge 4.4.	Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkileri.....	32
Çizelge 4.5.	Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusu MDA düzeyi (nmol/mg protein) üzerine etkileri.....	34
Çizelge 4.6.	Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu MDA düzeyi (nmol/mg protein) üzerine etkileri.....	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1.	Standart protein grafiği	23
Şekil 4.1.	<i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusu SOD aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri.....	27
Şekil 4.2.	<i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri.....	29
Şekil 4.3.	<i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusu CAT aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri.....	31
Şekil 4.4.	<i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri.....	33
Şekil 4.5.	<i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusu MDA düzeyi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri.....	35
Şekil 4.6.	<i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu MDA düzeyi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri.....	37

SİMGELER VE KISALTMALAR

g	: Gram
L	: Litre
mg	: Miligram
ppm	: mg/L
µg	: Mikrogram
CAT	: Katalaz
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetikasit
GSH	: Redükte Glutasyon
Hg	: Cıva
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
MDA	: Malondialdehit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
Se	: Selenyum
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Thio Barbutirik Asit
TCA	: Triklor Asetik Asit

1. GİRİŞ

Günümüzde canlıların doğal yaşam alanları çevresel kirleticilerden ciddi boyutta etkilenmektedir. Bu kirleticiler arasında dünyadaki en tehlikeli 20 toksik maddeden beşini içeren ağır metallerde yer almakta olup (ATSDR 2006) bu metaller önemli ekolojik sonuçlara neden olmaktadır. Sucul organizmaların yaşam alanları olan tatlı sular ve denizler ne yazık ki bu ağır metal kirliliğinden oldukça etkilenmektedir. Son alıcı ortam olan bu akuatik ekosistemlere volkanik patlamalar, erozyon ve orman yangını gibi doğal ya da kentleşme, sanayileşme, madencilik ya da artan tarımsal aktivitelere bağlı olarak antropojenik kaynaklardan giren ağır metaller hem su kalitesini bozmakta hem de içinde yaşayan hemen tüm canlılara büyük zararlar vermektedirler. Bu nedenle son yıllarda ağır metal kirliliği, sucul ekosistemlerdeki biyobirikimi ve toksisitesi nedeniyle dünya çapında dikkatlerin üzerine çevrildiği, çok sayıda bilimsel araştırmaların yapıldığı ve her geçen gün artan bir ilgiyle incelenen küresel bir sorun haline gelmiştir.

Ağır metaller, suda kolay çözünmeleri, kalıcılıkları, organizma tarafından alınabilmeleri, vücutta birikebilmeleri ve parçalanma ile atılımlarının zor olması nedeniyle sucul organizmalar için oldukça toksiktirler (Van Dyk vd. 2007). Akuatik canlılar antropojenik amaçlarla geniş kullanımına bağlı olarak gittikçe artan düzeylerde metal kontaminasyonuna maruz kalmaktadırlar. Bu organizmalar vücutlarına aldıkları ağır metalleri dokularda biriktirirken, tolere edilebilir düzeylerin aşılmasından sonra bu metallerin doğrudan ya da dolaylı toksik etkileri ortaya çıkmaktadır. Ağır metallerin dokulardaki birikim düzeyleri ve toksik etkileri türe, metale ya da sıcaklık, tuzluluk, pH, çözünmüş oksijen, sertlik gibi suyun fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak değişebilmektedir. Yapılan çalışmalarda ağır metallerin çeşitli balık türlerinde fizyolojik aktivite, biyokimyasal süreçler, üreme ve büyüme üzerine toksik etkilere ve hatta mortaliteye bile neden olduğu gösterilmiştir (Pandey vd. 2008, El-Gazzar vd. 2014, Firidin vd. 2015).

Genel olarak metaller biyolojik fonksiyonlardaki rollerine göre iki ana gruba ayrılabilir. Cıva, kadmiyum, kurşun, alüminyum gibi metaller organizmada herhangi bir önemli rolü olmayan ve düşük düzeylerde bile toksik olduğundan non-esansiyel ya da toksik metaller olarak adlandırılırken; bakır, demir, çinko ve selenyum

gibi metaller ise önemli biyolojik fonksiyonlara sahip ve eser düzeyleri canlılar için oldukça gerekli olduğundan esansiyal ya da gerekli metaller olarak ifade edilebilmektedir. Bu gerekli olan metallerde yüksek düzeylerde toksik bir etkiye sahip olabileceği gibi eksikliğinde de önemli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir.

Akuatik organizmalar arasında balıklar ağır metalleri de içeren kirleticilere oldukça hassas olduğundan sucul ekosistemlerdeki ağır metal kontaminasyonun belirlenmesinde ve ekosistemin sağlığının değerlendirilmesinde geniş çapta kullanılmaktadırlar (Zaki vd. 2014). Mineraller (P, I, K), doymamış yağ asitleri (oleik asit, linolenik ve omega 3 serisi), fosfolipidler, vitaminler (A, D) ve proteinler bakımından yüksek bir besin içeriğine sahip olan balıklar, besin zincirinin önemli bir ögesi olup insanların da birinci dereceden besin kaynağını oluşturmaktadırlar (Cabanero vd. 2004). Bununla birlikte yaşadıkları ortamlara kontamine olmuş ağır metalleri kolayca vücutlarına alabilme ve yüksek düzeylerde birçok doku ve organlarında biriktirebilmeleri hem bu canlıların hem de onlarla beslenen insanların sağlığı için bir risk oluşturmaktadır. Bu nedenle balıklardaki ağır metal toksisitesini çalışmak hem sucul ekosistemlerin geleceği hem de organizmaların sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Çoğu araştırmalarda insanlar ve diğer canlılarda ağır metallerin toksik ve kanserojenik etkileri rapor edilmiştir. Ağır metallerin hücrenin önemli bileşenleri olan DNA, protein, lipid, karbonhidrat ve enzimler gibi biyolojik makromoleküllerle etkileşime girdiği ve bunların yapılarını bozduğu iyi bilinmektedir (Valko vd. 2005).

Kritik düzeylerde belirlendiklerinden ağır metaller sucul ekosistemlerdeki en önemli kirleticiler olarak ifade edilmektedir. Cıva, kadmiyum, kurşun, bakır ve çinko gibi ağır metaller su ortamlarında yüksek düzeylerde bulunabilmekte ve balıkları olumsuz etkileyebilmektedirler. Bu metaller, balıklarda immün sistemi zayıflatarak hastalıklara açık hale getirmekte, önemli patolojik değişikliklere neden olmakta ve üremelerini engelleyebilmektedirler. Metallerin su içindeki çeşitli formlarının balıklara toksik etkileri farklılık göstermektedir. Genel olarak metaller iyonik ya da basit inorganik formları, kompleks inorganik ya da organik formlarına göre daha toksik olabilmektedir (Authman vd. 2015).

Balıklar sudaki ağır metalleri solungaç ya da derileri aracılığıyla doğrudan ya da küçük balıklar, omurgasızlar ve sucul bitkileri yemek suretiyle besinlerle bağırsaklar

aracılığıyla dolaylı olarak vücutlarına almakta ve kan yoluyla birikim, detoksifikasyon, atılım ya da metabolize edebilmek üzere metabolik olarak aktif organlara götürülmektedir. Balıklarda solungaç, karaciğer ve böbrekler metaller için önemli metabolik organlardır. Solungaçlar sudaki çözünmüş ağır metaller için en önemli alım organı olarak görev yapmaktadır. Solungaçların doğrudan su ile temas halinde olması metallerin alınımını da kolaylaştırmaktadır. Yine solungaç dokusu yapılarındaki metallothioneinler gibi metal bağlayıcı proteinler sayesinde metallerin yüksek düzeylerde biriktiği bir organdır. Genellikle metallerden cıva, kurşun ve kadmiyum gibi toksik metaller yüksek düzeylerde solungaçlarda birirmektedir. Karaciğer ise yine kirleticilerin birikimi, metabolize edilmesi ve detoksifikasyonda önemli rolü olan bir organdır. Sahip olduğu koruyucu ve detoksifiye edici mekanizmalar ve de metal bağlayıcı proteinlerle metallerin homeostazisinde önemli roller oynamaktadır. Solungaçlara göre karaciğer dokusu ise daha çok Cu, Fe, Zn gibi gerekli olan metallerin daha yüksek düzeylerde birikim gösterdiği bir dokudur. Gerek solungaç gerekse de karaciğer histolojisi üzerine ağır metallerin zararlı etkileri metallerin derişimlerine ve etki sürelerine bağlı olarak değişebilmektedir (van Dyk vd. 2007).

Cıva (Hg), dünyadaki en toksik 20 maddeden biri olarak ifade edilmektedir (ATSDR 2006). Periyodik tablonun 80. elementi olan cıva, gümüş-beyaz renkte, oda sıcaklığında sıvı, oldukça uçucu ve Hg^0 , Hg_2^{+2} ve Hg^{+2} olmak üzere üç farklı oksidasyon durumlarında bulunan bir metaldir. Hem organik hem de inorganik bileşiklerin yapısında bulunmaktadır. Tarihsel açıdan bakıldığında cıvanın kullanımı çok eski zamanlara dayanmaktadır. M.Ö. 415’de bile kırmızı renkli cıva-sülfür (cinnobar: zincifre, sulüğü) insanlar tarafından kullanıldığı belirtilmektedir (Clarkson ve Marsh 1982). 1800 yıllarda sanayi devriminden önce altın ekstrasyonu için kullanılan cıva günümüzde fungusid olarak tarımsal uygulamalarda ve klor-alkali endüstrisi, elektrikli cihazların imalatı, ilaç sanayisi, selüloz ve kağıt endüstrisi ve plastik üretiminde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Cıva tarımsal, madencilik ya da endüstriyel alanlardaki yüksek kullanımına bağlı olarak antropojenik ya da kara ve/veya okyanuslardaki volkanik aktivitelere bağlı olarak doğal kaynaklardan su ekosistemlere girmekte ve her geçen gün konsantrasyonları artmaktadır. Su ortamlarında cıva, elemental form, inorganik yada organik bileşikler halinde bulunmaktadır (Black vd. 2007). Kirli olmayan sulardaki cıva düzeyi 0.1 µg/L

düzenini geçmemektedir (Devlin 2006). Bununla birlikte cıva sanayisine yakın bölge sularında ise cıva düzeyleri hem akuatik yaşamı hem de sucul canlılarla beslenen insan sağlığını tehdit eder düzeylere ulaşabilmektedir. Örneğin klor-alkali, selüloz, kağıt ve seramik endüstrisinin olduğu bölgelerde alınan su örneklerinde cıva düzeyi 0.0005-0.23 mg/L arasında bulunmuştur (Bollen vd. 2008). Madencilik faaliyet bölgesinde ise sudaki cıva düzeyleri 0.0001-19.82 mg/L gibi oldukça yüksek düzeylere çıkabilmektedir (Gammons vd. 2006). Cıva kontamine olmuş sucul ekosistemlerde balıkların dokularındaki yüksek düzeylerde cıva birikimine rastlanmıştır. Besin güvenilirliği açısından ve insan tüketimi için balık dokularındaki cıva düzeylerinin 0.5 µg/g sınırını aşmaması gerektiği Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirtilmiştir (Lima vd. 2005).

Cıva hem inorganik hem de organik formda tüm canlılar için eser düzeylerde bile oldukça toksik olan bir metaldir (Plessi vd. 2001). Sucul ekosistemlerdeki uzun kalıcılıkları ve yüksek hareketlilikleri nedeniyle cıva akuatik organizmalarda birikmekte ve besin zinciri aracılığıyla üst trofik düzeydeki canlılara hatta insanlara kadar ulaşmaktadır. Sonuçta cıva kontaminasyonu bu nedenle ekosistem ve insanlar için ciddi bir risk oluşturmaktadır. Cıvanın insanlar ve diğer canlılar için güçlü bir nörotoksik ajan olduğu iyi bilinmektedir (Diez 2008). Cıvanın her üç formu (elemental, inorganik ve organik form) da toksikolojik, metabolik ve biyokimyasal etkilere sahiptir. Organik cıva (metilcıva) cıvanın en toksik formu olmasına rağmen inorganik cıva, endüstriyel alanlarda sucul ortamlara kontamine olan en yaygın cıva formu olup balık dokuları üzerine önemli etkileri bulunmaktadır (Oliveira Ribeiro vd. 1996). İnorganik cıva toprak ve sudaki mikroorganizmalar tarafından metilasyon sonucunda cıvanın en toksik formu olan metilcıvaya dönüşmektedir. Metilcıva beyin kan bariyerini geçerek beyinde ve hamilelerde plasentayı geçerek fetüste ciddi toksisiteye neden olmaktadır. Cıvanın tüm formlarının genel olarak nörotoksisite, nefrotoksisite, gastrointestinal toksisite (ülser ve hemoroji) gibi toksikolojik etkilere ve kalp krizi, otizim ve alzheimer hastalığına neden olduğu rapor edilmiştir (Tchounwou vd. 2003, Valko vd. 2005).

Cıvanın mutajen, teratojen ve kanserinojen etkilere neden olan bir metal olduğu bilinmektedir. Tüm cıva bileşikleri tiyol metabolizmasına müdahale edebilmekte ve böylelikle tiyol ligandları içeren proteinlerin inaktivasyonuna ya da inhibisyonuna neden olmakta ve sonuçta da önemli biyokimyasal parametrelerin normal fonksiyonunu

engellemektedirler. Cıva ayrıca serbest oksijen türlerinin oluşumuna ve oksidatif strese neden olarak hücrelerin önemli savunma mekanizmalarını baskılayabilmekte ve lipid peroksidasyonuna neden olacak etkiler gösterebilmektedir (Berntssen vd. 2003). Cıva hücrel biyomoleküllerin -SH gruplarına karşı yüksek bir ilgiye sahiptir. Bu nedenle vücuda alındıktan sonra cıva, sistein ve glutatyon gibi düşük moleküler ağırlıklı tiyollere ve tiyol içeren proteinlere bağlanarak doku ve organlarda çok uzun süre kalabilmekte lipid, protein ve DNA oksidasyonuna neden olan serbest radikallerin oluşmasına neden olabilmektedir (Perottoni vd. 2004).

Organizma için gerekli olan temel elementlerin alınmasındaki esas yol besinlerdir. Besinler, yararlı elementlerin yeterli ve dengeli bir şekilde alınmasında temel bir rol oynamaktadır (Plessi vd. 2001). Selenyum (Se) besinsel olarak oldukça gerekli bir eser element olup hücrede önemli fonksiyonları olan 20-35 enzimin aktivitesinde doğrudan ya da dolaylı olarak rol oynamaktadır (Rayman 2000). Bu enzimler özellikle de beyinde ve endokrin organlarda işlevsel (Kohrle vd. 2005) olup diğer Se içeren moleküllerle birlikte sayısız antioksidan fonksiyonlarda, kanserin önlenmesinde ve sağlıklı bir immün sistemin desteklenmesinde görev almaktadırlar (Rahman 2000, Beck vd. 2003).

Selenyum selenit, selenat, selenomethionin ve selenosistein gibi çeşitli formlarda bulunmakta balıkları da içeren tüm canlılar için yararlı bir element olarak ifade edilmekte ve özellikle glutatyon peroksidaz ve iodothyronine 5-deiosinaz gibi çok önemli enzimlerin yapısında yer almaktadır (Cabanero vd. 2004). Selenyumun canlılar için önemli bazı biyolojik fonksiyonları şunlardır; normal gelişim, büyüme ve homeostazinin korunması; antioksidan, antikanser ve immün sistem düzenleyicisi; tiroid hormon metabolizması ve spermatogenezdeki rolleridir (Chien vd. 2003, Monteiro vd. 2009).

Akuatik ortamlardaki selenyum konsantrasyonları 0.1-0.4 µg/L arasında değişmektedir (Muscatello ve Janz 2009). Balıklar için besinlerinde bulunması gereken normal Se miktarları 0.25-0.70 µg/g olup 3 µg/g düzeyinden fazla alındığında toksik etkiler göstermektedir (NRC 2005). Selenyum balıkların özellikle de karaciğer, gonadlar, böbrek gibi dokularında daha fazla birikmektedir. Düşük düzeylerde balıkların fizyolojisi için oldukça gerekli olan selenyum yüksek düzeylerde büyümenin

engellenmesi, lipid, protein ve DNA gibi önemli biyomoleküllerde hasarlara ve solungaç, karaciğer ve böbrekte nekrozlara neden olmaktadır (Miller vd. 2007).

Selenyum hücre membranların yapısal bütünlüğünün sağlanmasında da önemli roller oynamaktadır. Özellikle de yapısında yer aldığı glutatyon peroksidaz (GPX) enzimi sayesinde hücreleri lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu bir etki göstermektedir. Selenyum eksikliğinde lipid peroksidasyonunun arttığı, hücre zarlarında yapısal değişikliklerin olduğu ve hücrenin fonksiyonlarının bozulduğu belirtilmektedir (Valko vd. 2005).

Selenyumun sayısız önemli fonksiyonlarından biri de canlılar için oldukça toksik olan ağır metallerle etkileşime girerek bu metallerin toksik etkilerine karşı koruyucu bir rol oynamasıdır. Selenyum özellikle de balıklarda cıva toksitesinin engellenmesinde işlevseldir. Hem inorganik hem de organik cıvanın etkilerinin nötralize edilmesinde selenyum hayati bir rol oynamaktadır (Plessi vd. 2001). Selenyumun Hg'nin toksisitesini önlemedeki önemi yaklaşık 50 yıl öncesine dayanmaktadır. Hg ve Se arasındaki etkileşime bağlı olarak Se'nin antagonistik etkisi ilk 1967 yılında rapor edilmiştir (Kaneko ve Ralston 2007). Bu tarihten sonra da balıkları da içeren çeşitli canlılarda bu iki metalin etkileşimi ve sonuçları üzerine birçok çalışma yapılmıştır (El-Demerdash 2001, Firidin vd. 2015). Hg ve Se arasındaki yüksek bağlanma ilgisinden dolayı Se'nin koruyucu etkisinin esas mekanizmasının Hg'ye bağlanarak onu hareketsiz bir formda tutmasından kaynaklandığı belirtilmektedir (Kaneko ve Ralston 2007). Yapılan laboratuvar çalışmalarında Se'nin balıklardaki cıvanın alımın veya atılım oranlarını değiştirerek metalin balık dokularındaki birikimini azalttığı da gözlemlenmiştir (Bjerregaard vd. 1999, 2011).

Cıva ve selenyum arasındaki etkileşimler, çevresel kirleticiler arasındaki tüm etkileşimler arasında en iyi bilinenlerden biridir (Heinz ve Hoffman 1998). Hg'nin neden olduğu toksisiteye karşı selenyumun koruyucu etkisinin Hg'nin stabil halde depolanması, antioksidatif etkiler, glutatyon sentezinin ve GPX aktivitesinin artırılması ve yüksek selenoprotein düzeyleriyle ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Ralston ve Raymond 2010).

Akuatik ortamlara giren kirleticilerin hem çevreye hem de içinde yaşayan canlılara ciddi olumsuz etkilere neden olduğu bilinmektedir. Bu canlılar arasında balıklar sudaki kirleticilere karşı oldukça hassas organizmalar olup, vücutlarına alınan

bu kimyasallar önemli fizyolojik ve biyokimyasal prosesleri bozmakta ve balık dokularında önemli hasarlara neden olabilmektedirler. Sudaki kirleticilerin çoğu oksijen radikallerinin üretimi ile bu radikallerin oluşumunu engelleyen ve/veya temizleyen prosesler arasındaki dengeyi bozmakta, bu da oksidatif stres olarak adlandırılan durumun ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Abele vd. 2012).

Aerobik metabolizma çoğu hayvanların yaşamlarını sürdürmeleri için gerekli olmasına rağmen tüm aerobik organizmalar endojen ve eksojen kaynaklardan gelen oksidantların da potansiyel tehdidi altındadır. Oksijen, aerobik organizmalardaki enerjinin açığa çıkarılmasında oldukça gerekli olmasına karşın oksijen tüketimi aynı zamanda hücre için tehlikeli olacak reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna da neden olmaktadır (Li vd. 2010). ROT'lar elektron taşıma zincirinin, enzimlerinin ve redoks döngüsünün ürünleridir ve üretimleri ksenobiyotiklerle etkileşimde artabilmektedir (Yonar ve Sakin 2011). ROT düzeyleri, hücrelerin antioksidan kapasitelerini aştığı zaman hücre içi redoks homeostazisi bozulmakta ve oksidatif stres oluşmaktadır ((Li vd. 2010).

Sucul organizmalardaki özellikle de balıklardaki oksidatif stres ile ilgili araştırmalar, çevresel ve akuatik toksikoloji için oldukça önemlidir. Balıklardaki oksidatif stresin göstergesi olan parametrelerin izlenmesi, kimyasal maddelerle etkileşimden kaynaklı hasarlar ve olumsuz değişikliklerle ilgili olarak önemli bilgiler verdiği belirtilmektedir (Van der Oost vd. 2003). Yine kirleticilerin toksik etkilerine yanıtta hızlı bir şekilde düzeyleri değişim gösteren oksidatif stres parametrelerini çalışmak, kirleticilerin diğer moleküler, hücresel ve fizyolojik etkileri oluşmadan önce erken bir uyarıcı sistem olarak da oldukça yararlıdır.

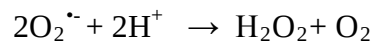
Çoğu ksenobiyotiklerin sucul organizmalarda hücre ve doku hasarına neden olan ROT'ları ürettiği bilinmektedir. Ksenobiyotiklerin süperoksit anyon, singlet oksijen, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi ROT'ları oluşturduğuna dair güçlü kanıtlar farklı çalışmalarda gösterilmiştir (Fırat vd. 2011, Fridin vd. 2015). Oksidatif strese neden olan ROT'ları oluşturan ksenobiyotikler içerisinde ağır metallerde önemli bir yer tutmaktadır. Bakır, demir, cıva, kurşun, kadmiyum ve çinko gibi metallerin, antioksidan enzim aktivitelerinde değişimlere, lipid, DNA ve protein oksidasyonuna ve sonuçta da hücre ölümüne bile yol açacak ROT'ları doğrudan ya da dolaylı olarak oluşturduğu iyi bilinmektedir (Hu 2000).

Son yıllarda çeşitli kirleticilerin akuatik organizmalardaki oksidatif toksisitesi üzerine yoğunlaşan çalışmalar şaşırtıcı değildir. Çünkü oksidatif stres bu canlılarda kalsiyum homeostazinin bozulmasına, sülfidril grupların baskılanmasına, DNA hasarına, lipid peroksidasyonuna ve kansere neden olacak ciddi toksik etkilere neden olarak bu organizmaları olumsuz etkilemektedir.

Hücreler oksidatif stresle baş etmek ve hasar gören makromolekülleri tamir etmek için farklı mekanizmalara sahiptir. Bu mekanizmalardan en önemlisi serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerini temizleyen/engelleyen enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardır (Verma vd. 2007). Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) ve GPX gibi enzimlerden oluşurken; enzimatik olmayanlar glutatyon, metallothionein, vitaminler (E ve C gibi) gibi molekülerden oluşmaktadır. Diğer omurgalılar gibi balıklarda oksidatif stresle mücadele edebilmek için bu antioksidan savunma sistemlerine sahiplerdir. Hem enzimatik hem de non-enzimatik antioksidanlar balık hücrelerinin redoks durumunun korunmasında yararlıdır ve de oksidatif strese karşı biyolojik savunmada önemlidir (Monteiro vd. 2010).

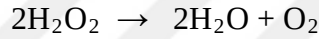
Antioksidan enzimlerin önemli bir özelliği oksidatif stres altında indüklenebilirliğidir. Böyle indüklenmeler bu strese karşı önemli bir adaptasyon yanıtı olmasına rağmen artan stres durumlarında düzeyleri baskılanabilmektedir. SOD ve CAT hücrelerin en önemli antioksidan savunma sistemleri olup kirleticilere karşı ilk savunma hattını oluşturmaktadırlar. Aerobik organizmalarda süperoksit anyonu ve hidroksil radikali en tehlikeli ROT'lar olup bunların engellenmesi ya da temizlenmesi normal hücre fonksiyonları için oldukça önemlidir. Bu iki radikalın hücrelerde yapacağı toksik etkiler SOD ve CAT'ın indüklediği reaksiyonlarla önemli ölçüde engellenmekte ve bu da SOD ve CAT'ın oksidatif stres durumlarında biyolojik önemini göstermektedir. Bu nedenle antioksidan enzimler oksidatif stresin biyobelirteçleri olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar (Kohen ve Nyska 2002).

SOD, oksijenin toksik etkilerine karşı hücrede koruma görevi olan bir antioksidandır. Bu enzim, hücrenin yapısal elemanları için oldukça toksik olan süperoksit anyonun uzaklaştırılmasında biyolojik bir öneme sahiptir. Katalizlediği reaksiyon aşağıdaki gibidir;



Bu reaksiyonla SOD, süperoksit anyonun hücreler için daha az tehlikeli olan hidrojen perokside dönüştürerek oksidatif strese karşı önemli bir savunma yanıtı oluşturmaktadır. SOD hücre içi bir enzim olup yapısındaki metallere göre Cu-Zn-SOD ya da Mn-SOD şeklinde sitozolde ya da mitokondride yer almaktadır.

CAT, SOD'nun katalizlediği reaksiyon sonucunda oluşan H_2O_2 'nin fenton reaksiyonlarıyla ($Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow OH^- + OH^{+1} + Fe^{+3}$) hücreler için en tehlikeli radikal olan hidroksil radikale dönüşmeden elemine edilmesinde hayati bir rol oynayan enzimdir (Dantas vd. 1996). CAT sitozolik bir enzim olup kirleticilerin etkisinde indüklenebilmektedir. CAT hidrojen peroksiti, moleküler oksijen ve suya kataliz eden önemli bir antioksidan enzimdir. Katalizlediği tepkime aşağıdaki gibidir;



CAT yapısında demir atomları yer aldığından bir hemoprotein olarak ifade edilmekte olup hücrelerde peroksizomlar ile sitozolde lokalize olmuştur. Balıkların özellikle de detoksifikasyon organı olan karaciğer dokusunda daha yüksek düzeylerde bulunmaktadır.

Yapılan laboratuvar (Talas vd. 2008, Monteiro vd. 2010) ve alan çalışmalarında (Karadag vd. 2014) ağır metallerin etkisinde balıkların çeşitli dokularında oksidatif strese yanıtta CAT ve SOD enzim aktivitelerinde önemli değişikliklerin meydana geldiği gösterilmiştir. Ve bu çalışmalarda araştırmacılar antioksidan enzimlerin ROT'ların zararlı etkilerinin giderilmesinde oldukça önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Ağır metal stresi altındaki organizmalarda CAT ve SOD aktivitelerindeki değişimler gibi lipid peroksidasyonu da önemli bir oksidatif stres belirtecidir. Hücre zarının stabil yapısı normal hücre içi prosesleri için oldukça önemlidir. Hücre zarlarının yapısını bozacak herhangi bir ksenobiyotik ya da çevresel faktörler sadece zarların yarı geçirgen özelliklerinin değil aynı zamanda hücreyi ölüme kadar götürecek bir dizi reaksiyonlara da neden olabilir. Ağır metalleri de içeren çevresel kirleticiler, balıkların hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatma yeteneğine sahiptirler. Zar lipidlerinin oksidasyonu hücrelerin ve içerisindeki organellerin membran bütünlüğünü bozarak patolojik durumların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Girotti 1998). Balık dokuları yüksek düzeyde çoklu doymamış yağ asitleri içerdiğinden bu yapılar ağır

metallerin önemli toksik hedefleri arasındadır. Lipid peroksidasyonu hücre zarlarının akışkanlığını azaltan ve bu zarların yıkımına neden olan karmaşık bir süreç olarak ifade edilmektedir (Talas vd. 2008). En yaygın olarak kullanılan lipid peroksidasyon belirteci malondialdehittir (MDA). MDA, lipid peroksidasyonun son ürünü olup akuatik organizmalardaki ağır metal toksisitesinin neden olduğu lipid peroksidasyonun bir biyobelirteci olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Nogueira vd. 2003). MDA düzeyleri serbest radikaller tarafından oluşturulan hücresel toksisitenin doğrudan bir kanıtını oluşturmaktadır (Sieja ve Talerczyk 2004). Diğer omurgalılar gibi balıklarda da MDA, doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile meydana gelmekte ve hücrede oluşan oksidatif stres toksisitesinin en önemli belirteçlerinden biridir (Morales vd. 2004).

Akuatik ortamlardaki en önemli kirleticiler olan ağır metallerin nehirler, göller ve denizlerdeki gittikçe artan konsantrasyonları dünya genelinde endişe uyandıracak düzeylere ulaşmıştır. Özellikle de sanayinin yoğun olduğu bölgelerde ağır metal kontaminasyonu besin güvenirliliği açısından yasal olarak izin verilen düzeylerin üzerine çıkarak canlı yaşamını tehdit etmektedir. Cıva da kontamine olmuş sulardaki yüksek düzeyleri ve canlılara olan nörotoksik, teratojenik ve mutajenik etkileri nedeniyle her zaman izlenmesi gereken toksik bir metaldir. Hem ekosistemin geleceği ve hem de balıklar ve onlarla beslenen canlıların sağlığı için cıva toksisitesine karşı koruyucu mekanizmalar bu bağlamda oldukça önem arz etmektedir. Bu nedenle sunulan bu çalışmada balıklardaki cıva toksisitesi üzerine selenyumun koruyucu etkisinin ve bu etkinin oksidatif stres parametreleriyle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla *O. niloticus* tatlı su balıkları hem cıvanın tek başına hem de cıva+selenyum karışımlarının etkisine bırakılarak solungaç ve karaciğer dokularındaki CAT ve SOD aktiviteleri ile MDA düzeylerindeki değişimler araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

El-Demerdash (2001), 5 gün süreyle 0.5 µmol/ml selenyum ve cıvanın tek başına ve birlikte etkisine bırakılan sıçanların plazma, karaciğer ve beyin dokularındaki enzimatik aktivite ve lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini araştırmıştır. Çalışmada oksidatif stres parametrelerinden plazma GST aktivitesinin ve beyin lipid peroksidasyon düzeylerinde artışların olduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte Hg'nin selenyumla birlikte etkisinde kısmen ya da tamamen bu parametrelerde iyileşmeler gözlemlenmiştir. Araştırmacı selenyumun cıva toksitesi üzerine antagonistik bir etkiye sahip olduğunu belirtmiştir.

Basha ve Rani (2003), 5 ppm kadmiyum etkisine 7, 15 ve 30 günlük etki süreleriyle bırakılan tatlı su balığı *O. mossambicus*'ta karaciğer ve böbrek dokularındaki antioksidan savunma mekanizmalarını araştırdıkları çalışmalarında kadmiyumun 7 günlük süre sonunda her iki doku SOD, CAT, GPX ve GST aktivitelerini artırırken süreye bağlı olarak özellikle de 30 günlük süre sonunda bu enzim aktivitelerini azalttığını rapor etmişlerdir.

Kılınç vd. (2003), chlorpyrifos-etilin etkisine bırakılan ratlarda melatonin, vitamin C ve vitamin E'nin koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Pestisit ve koruyucu maddelerin etkisinde plazma lipid peroksidasyon ve antioksidan potansiyel düzeyleri ölçülmüştür. Çalışmada chlorpyrifos-etil etkisinde lipid peroksidasyonunda artış, antioksidan potansiyel düzeylerinde ise anlamlı bir düşüş belirlenmiştir. Bununla birlikte melatonin ve vitamin C ve E uygulamasını takiben incelenen parametrelerde iyileşmeler gözlemlenmiş ve araştırmacılar, melatonin ve vitamin uygulamalarının pestisitinin neden olduğu toksik etkiler üzerine koruyucu bir etkiye sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Berntssen vd. (2003), dört ay boyunca HgCl₂ (0, 10 ve 100 µg/kg) ve metilcıva (0, 5 ve 10 mg/kg) içeren diyetlerle beslenen *Salmo salar*'ın beyin dokusu lipid peroksidasyonu, oksidatif stres parametreleri ve histopatolojik değişiklikleri incelemişlerdir. Hem inorganik hem de organik cıvanın beyin dokusunda önemli düzeylerde biriktiği belirlenmiştir. Cıvanın türüne ve derişimlerine bağlı olarak beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerinde anlamlı değişiklikler belirlenmiştir. Cıvanın lipid peroksidasyon ürünü olan TBARS düzeylerini arttırdığı

SOD aktivitesini ise düşürdüğü saptanmıştır. Araştırmacılar *S. salar*'ın cıvanın toksik etkisinden önemli düzeylerde etkilendiğini belirtmişlerdir.

Ateşşahin vd. (2005), sıçanlardaki cypermethrinin indüklediği oksidatif stres üzerine selenyum ve vitamin E'nin etkilerini belirlemişlerdir. Sıçanlar 100 mg/kg vitamin E, 0.1 mg/kg selenyum ve vitamin E+Se'nin üç gün süre ile verilmesinden sonra beş gün süre ile 50 mg/kg cypermethrin verilerek dokulardaki CAT ve GPX aktivitesi ile MDA düzeyleri ölçülmüştür. Doğrudan cypermethrin etkisinde karaciğer, böbrek ve beyin dokularında MDA düzeylerin arttığı CAT aktivitesinin ise azaldığı belirlenmiştir. Vitamin E'nin oksidatif stresi azalttığı, selenyumun ise CAT enzim aktivitesinde artışa neden olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar çalışma sonuçlarının test edilen insektisit sıçanlarda oksidatif stresi indüklediğini ve vitamin E'nin ise bu insektisit metabolizmasında değişikliklere neden olarak oksidatif strese karşı koruyucu bir rol oynadığını vurgulamışlardır.

Hansen vd. (2006), *S. trutta*'da bakırın oksidatif stresle ilişkili parametreler üzerine etkilerini araştırdığı alan çalışmalarında, Norveç'in Roros Bölgesindeki bakır kontamine olmuş nehrinden alınan alabalıkların dokularındaki SOD, CAT, GPX ve GR aktivitelerini belirlemişlerdir. Araştırmacılar karaciğer, solungaç ve böbrek dokularındaki SOD ve CAT aktivitelerin bakır etkileşimine yanıtta önemli düzeylerde arttığını saptamışlardır. Yine çalışmada incelenen dokuların metallothionein düzeyleri ile diğer oksidatif stres parametrelerinde bakırın önemli değişikliklere yol açtığı da belirlenmiştir.

Hoyle vd. (2007), besin yoluyla verilen bakırın *Clarias gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve bağırsak dokularındaki oksidatif stres parametreleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında incelenen dokularda bakır birikiminin bir sonucu olarak, total glutatyon düzeylerinin ve lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan TBARS düzeylerinin anlamlı olacak şekilde arttığını rapor etmişlerdir.

Pandey vd. (2008), 7, 15 ve 30 günlük süreli Cu + Cd + Fe + Ni karışımlarının etkisine bırakılan *Channa punctata*'nın hedef doku olarak seçilen solungaç dokularındaki biyokimyasal, histolojik ve ultrayapısal özellikleri inceledikleri çalışmalarında SOD, CAT aktivitelerinde önemli değişiklikler MDA düzeylerinde ise artışlar belirlemişlerdir.

Su vd. (2008), rat dokularındaki oksidatif stres ve metal birikimleri üzerine selenyum ve cıva etkileşimini incelemişlerdir. Bu amaçla sıçanlar Hg'nın 1.20 mg/kg, ve Hg+ Se'nin ise 0.6+0.5, 1.2+0.5 ve 2.4+0.5 mg/kg etkisine bırakılmış ve dokulardaki cıva ve selenyum düzeyleri ile SOD aktivitesi ile GSH ve MDA düzeylerine bakılmıştır. Karaciğer ve böbrek dokulardaki cıva düzeylerinin cıvanın tek başına ve selenyumla birlikte etkisinde arttığı ancak bu artışın cıvanın doğrudan etkisinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Yine çalışmada cıvanın etkisinde dokulardaki SOD aktivitesi ve GSH düzeylerinin azaldığı, MDA düzeylerinin ise arttığı belirlenirken, selenyum varlığında SOD ve GSH'ın arttığı MDA'nın ise azaldığı belirlenmiştir. Araştırmacılar selenyumun cıva birikim ve toksisitesi üzerine antogonistik bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Talas vd. (2008), *Oncorhynchus mykiss*'te ağır metallerin toksik etkileri üzerine selenyumun antioksidatif etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla balıklar Cd ve Cr ile Cd+Se ve Cr+Se'un 2 ppm konsantrasyonlarının etkisine 7 gün süreyle bırakılmış ve karaciğer dokusundaki CAT, SOD ve GPX aktiviteleri ile MDA düzeyleri belirlenmiştir. Metallerin tek başlarına etkilerinde karaciğer CAT ve SOD aktivitesi azalırken MDA düzeyleri artmış, selenyumla birlikte etkisinde ise bu parametreler üzerine Cd ve Cr'un neden olduğu toksik etkilerin engellendiği ve selenyumun bu metallerin toksik etkilerin giderilmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir.

Jihen vd. (2009), ratlarda kadmiyumun oksidatif toksisitesi üzerine selenyum ve çinkonun koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmalarında sıçanlar 35 gün süreyle kadmiyum, kadmiyum+çinko, kadmiyum+selenyum ve kadmiyum+çinko+selenyum etkisine bırakılmış ve karaciğer dokusundaki oksidatif stres parametrelerin düzeyleri ölçülmüştür. Cd'nin tek başına etkisinde karaciğer total SOD, CuZnSOD, GPX ve CAT aktivitesi azalırken MDA düzeyleri artmıştır. Bununla birlikte Zn, Se ve ikisinin birlikte etkisinde ise kadmiyumun bu parametreler üzerindeki toksik etkilerinin önlendiği ve Cd'nin Se ya da Zn ile birlikte etkisine oranla Zn+Se ile birlikte etkisinde daha yüksek koruyucu etki görülmüştür.

Monteiro vd. (2009), organofosfat insektisit metil-parathion etkisindeki *Brycon cephalus*'ta oksidatif stres parametreleri üzerine selenyumun etkisini araştırmışlardır. 4 gün süreyle 2 ppm insektisit etkisindeki balıklarda solungaç, karaciğer ve kas dokusu CAT, GPX, SOD, GST, GSH ve lipid peroksidasyonu düzeyleri üzerine metil-parathionun toksik etkileri ve bu etki üzerine selenyumun koruyucu etkisi

değerlendirilmiştir. Araştırmada, insektisit balıkların dokularında genel olarak SOD, CAT ve GST aktivitelerini ve LPO düzeyleri arttırdığını GPX ve GSH düzeylerini ise azalttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte selenyumun etkisinde pestisit neden olduğu toksik etkilerin ortadan kalktığı ve selenyumun metil-parathion toksisitesi üzerine koruyucu bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Mieiro vd. (2010), *Liza aurata*'nın beyin dokusundaki antioksidan sistemler üzerine cıvanın toksik etkilerini araştırmak için bu metalin yüksek düzeylerde kontamine olduğu Ria de Aveiro'nun kıyılarında (Portekiz) toplanan balıkları incelemişlerdir. Çalışmada cıva düzeyleri ve CAT, GR ve GPX aktiviteleri ile GSH düzeyleri gibi antioksidan parametreler araştırılmıştır. Balıkların beyin dokularında yüksek düzeylerde cıva biriktiği ve bu birikimin bir sonucu olarak da incelenen tüm antioksidan parametrelerde azalmaların olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar antioksidan savunma sisteminin baskılanmasının cıvanın toksik etkilerinin bir belirteci olduğunu vurgulamışlardır.

Monteiro vd. (2010), tropikal tatlı su balığı olan *Brycon amazonicus*'ta inorganik cıva birikimi ve bu birikime bağlı olarak oluşan toksisitenin belirteci olarak oksidatif stres parametrelerini çalışmışlardır. Bu amaçla balıklar 96 saat süreyle 0.15 ppm $HgCl_2$ 'ün etkisine bırakılmış ve solungaç, karaciğer, kas ve kalp dokularındaki metal düzeyleri ve SOD, CAT, GPX, GST ve GR gibi oksidatif stres parametrelerindeki değişimler araştırılmıştır. Tüm dokularda cıvanın anlamlı düzeylerde biriktiği belirlenmiştir. İncelenen biyokimyasal parametrelerde ise dokuya özgü yanıtların olduğu belirlenmiştir. $HgCl_2$ kas GR ve karaciğer GPX aktivitesi dışında incelenen tüm dokularda SOD, CAT, GPX, GR ve GST aktivitelerinde artışlara neden olmuştur. Araştırmacılar, bu sonuçların, inorganik cıvaya yanıtta oksidatif stresin balıklardaki bu metal tarafından indüklenen esas toksisite sonucunu gösterebileceğini belirtmişlerdir.

El-Gazzar vd. (2014), *O. niloticus*'ta Cd'nin neden olduğu oksidatif stres ve bu stres üzerine vitamin C'nin koruyucu etkilerini inceledikleri araştırmalarında balıklar Cd'nin tek başına ve vitamin C ile birlikte etkisine bırakılmış ve solungaç ve karaciğer dokuları CAT, GST ve GPX aktiviteleri ile MDA ve GSH düzeyleri saptanmıştır. Çalışmada karaciğer dokusunda Cd etkisinde CAT ve GST aktiviteleri ile LPO düzeyleri artmıştır. Solungaç dokusunda ise GSH düzeyi artmış, LPO düzeyi ve antioksidan enzim aktivitelerinde belirgin bir değişim saptanmamıştır. Vitamin C

uygulamasında ise Cd'nin neden olduğu yukardaki parametreler üzerindeki olumsuz etkilerin ortadan kalktığı ve vitamin C'nin Cd toksisitesi üzerine koruyucu bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Firidin vd. (2015), cıva ve cıva+selenyum etkisine bırakılan *O. niloticus*'ta antioksidan savunma sistemlerini, lipid peroksidasyonu ve asetilkolin esteraz enzim aktivitelerindeki değışiklikleri incelemişlerdir. Bu amaçla balıklar 7 ve 14 günlük sürelerle 0.01 ve 0.1 ppm Hg ile 0.01+0.1 ve 0.1+1.0 ppm Hg+Se etkisine bırakıldıktan sonra beyin ve böbrek dokularındaki CAT, GST, AChE, total glutatyon ve MDA düzeyleri ölçülmüştür. Sonuçlar, her iki Hg derişiminde ve süreye bağı olarak CAT, GST aktivitesi ile MDA düzeylerinde artış diğere parametrelerde ise azalış olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte selenyumla birlikte etkisinde cıvanın yukarıdaki parametreler üzerine olan toksik etkilerinin azaldığı belirlenmiştir. Araştırıcılar selenyumun cıvanın toksik etkileri üzerine koruyucu bir etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Sunulan çalışma için gerekli Etik Kurul onayı Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Karar No:5, Tarih: 29.09.2014, EK-1). Çalışmamızda araştırma materyali olarak *Oreochromis niloticus* kullanılmıştır. Balıklar, Çukurova Üniversitesi (Ç.Ü.) Su Ürünleri Fakültesi bünyesindeki balık yetiştirme havuzlarından alınmış ve Ç.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Ekofizyoloji laboratuvarına getirilerek içerisinde 120 L bekletilmiş çeşme suyu bulunan 40x140x40 cm ebatlarındaki 14 stok cam akvaryumda ortam koşullarına uyumları için üç ay süre ile bırakılmışlardır. Bu süre içerisinde balıklar 10.21 ± 0.5 cm boy ve 27.36 ± 0.7 g ağırlığa ulaşmıştır.

Deneyler 25 ± 1 °C'de yürütülmüş, günde sekiz saat aydınlanma periyodu uygulanmıştır. Merkezi havalandırma sistemiyle akvaryumların havalandırılması sağlanmıştır. Laboratuvar koşullarına uyumları sırasında balıklar, hazır balık yemi kullanılarak (Pınar Balık Yemi, Türkiye) beslenmiştir. Denemelerden 48 saat öncesinde yem kesilmiş ve denemeler boyunca günde iki defa olmak üzere vücut ağırlıklarının %2'si kadar yem ile balıklar beslenmiştir. Deney suyunun kimyasal özellikleri; toplam sertlik 318 ± 4 ppm CaCO_3 , çözünmüş oksijen 7.22 ± 0.03 mg/L, pH 7.81 ± 0.03 , akvaryum suyunun sıcaklığı ise 21.49 ± 0.29 °C olarak ölçülmüştür.

Deneylerde kullanılan cıva çözeltileri 1M cıva klorür [HgCl_2] (SIGMA) stok çözeltisinden ve selenyum çözeltileri 1M sodyum selenit [Na_2SeO_3] (SIGMA) stok çözeltisinden seri seyreltmeler yöntemi ile hazırlanmıştır.

3.1.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler

Bakır (II) Sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Sigma)

1,1,3,3, Tetrametoksipropan (Sigma)

Sodyum Fosfat (Na_2HPO_4 , Merck)

Sodyum Karbonat (Na_2CO_3 , Merck)

Etilendiamintetraasetikasit (EDTA, Sigma)

Nitrobluetetrazolium (NBT, Sigma)

Hidro Klorik Asit (HCl, Merck)
Hidrojen Peroksit (H₂O₂, Merck)
Dipotasyumhidrojenfosfat (K₂HPO₄.3H₂O, Merck)
Sodyum Hidroksit (NaOH, Merck)
Ksantin Oksidaz (XOD, Sigma)
Amonyum Sülfat ((NH₄)₂SO₄, Merck)
Thio Barbutirik Asit (TBA, Merck)
Triklor Asetik Asit (TCA, Merck)
Sukroz (C₁₂H₁₂O₁₁, Sigma)
Sığır Serum Albümini (Merck)
Bakır Klorür (CuCl₂.H₂O, Merck)
Folin Ciocalteu Fenol Ayıracı (Merck)

3.1.2. Deneylerde kullanılan cihazlar

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

3.2. Yöntem

Deneyler cıva ve cıva + selenyum karışımları dikkate alınarak iki seri olacak şekilde yürütülmüştür. Balıklar birinci seride cıvanın 0.01 ve 0.05 mg/L; ikinci seride

ise cıva + selenyumun 0.01 mg/L Hg + 0.01 mg/L Se ve 0.05 mg/L Hg + 0.05 mg/L Se derişimlerinin etkisine 4 ve 21 gün sürelerle bırakılmıştır.

Deneylerde her birinin içerisinde 12 adet balık bulunan toplamda 5 akvaryum kullanılmıştır. Deneylerde birinci seride beş akvaryumun ilk ikisine cıvanın 0.01 ve 0.05 mg/L çözeltileri; ikinci seride üçüncü ve dördüncü akvaryumlara cıva + selenyumun 0.01 + 0.01 ve 0.05 + 0.05 mg/L çözeltilerinden 120'şer litre ve son akvaryum ise kontrol grubu olarak kullanılarak içerisinde aynı hacimde (120 L) dinlendirilmiş çeşme suyu konmuştur. Deney akvaryumlarında kullanılan metal çözeltilerinin derişimlerinde zamana bağılı olarak değışim olabileceğı dikkate alınarak çözeltiler her gün yeni hazırlanan stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak değıştirilmiştir. Deneyler altı tekrarlı olarak yürütölerek her tekrarda bir balık kullanılmıştır.

3.2.1. Doku örneklerinin alınması ve biyokimyasal analizler

Belirlenen her sürenin sonunda deney akvaryumlarından rastgele seçilen balıklar, çeşme suyuyla yıkanarak temizlenmiş, yüzeylerinde bulunan su damlacıkları kurutma kağıdıyla alınmış ve boy ve ağırlıkları saptanarak diseksiyona hazır hale getirilmiştir. Balıklar diseksiyondan önce spinal yapılarak öldürölmüştür. Steril aletlerle solungaç ve karaciğer doku örnekleri buz üzerinde disekte edilmiş, bu örnekler % 0.59 NaCl ile yıkanmış ve ağırlıkları alındıktan sonra biyokimyasal analize kadar -80 °C'de muhafaza edilmişlerdir.

3.2.1.1. Doku homojenatlarının hazırlanması

Disekte edilen dokular 1/10 ağırlık/hacim (w/v) olacak şekilde 0.25 M süktroz içeren 0.05 M soğutulmuş Na-P tamponu (pH: 7.4) ile buz içerisinde ultra-turrax homojenizatörde 3 dakika süreyle 10.000 rpm'de homojenize edilmiştir. Homojenatlar +4 °C'de 10.000 rpm'de 30 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatantlarda SOD ve CAT aktiviteleriyle MDA ve protein düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

3.2.1.2. SOD aktivite tayini

Prensip: Enzim aktivite tayini, ksantin ve ksantin oksidazın reaksiyonuyla oluşan süperoksit anyon radikallerinin, nitrobluetetrazolium ile oluşturduğu mavi renkli formazan boyasının 560 nm'deki absorbansının okunması esasına dayanmaktadır (Sun vd. 1988).

Ayırarlar:

1. Reaktif:

- 0.3 mM Ksantin:** 9.13mg alınıp 200 mL saf suda çözölmüştür.
- 0.6 mM EDTA:** 22.3 mg alınıp 100 ml saf suda çözölmüştür.
- 150 µg/L N.B.T.:** 12.3 mg alınıp 100 mL saf suda çözölmüştür.
- 400 mM Na₂CO₃:** 2.544 g alınıp 60 mL saf suda çözölmüştür.
- 1g/L Sığır serum:** 30 mg alınıp 30 mL saf suda çözölmüştür.

2. Ksantin Oksidaz (167 U/L): 18 µl alınıp 3 ml 2 M (NH₄)₂SO₄ da çözölmüştür.

3. CuCl₂.2H₂O (0.8 mM): 13.6 mg alınıp 100 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır.

Yöntem: Enzim aktivite tayini için iki tüp alınmış ve Çizelge 3.1'te belirtilen ayırarlar konmuştur.

Çizelge 3.1. Süperoksit Dismutaz Yöntemi

Çözelti	Kör	Numune
Reaktif	2.85 ml	2.85 ml
Numune	-	0.1 ml
Ksantin oksidaz	50 µL	50 µL
25 °C'de oda sıcaklığında 20 dakika bekletilip		
CuCl ₂	0.1 ml	0.1 ml
Numune	0.1 ml	-

560 nm dalga boyunda absorbans değeri distile suya karşı okunmuştur.

Hesaplama:

$$\text{SOD Aktivitesi (U/mL)} = \frac{\text{KörOD} - \text{NumOD}}{\text{KörOD}} \times 20$$

20: zaman (dakika)

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

3.2.1.3. CAT aktivite tayini

Prensip: Katalaz aktivite tayini, H₂O₂'nin 240 nm dalga boyundaki absorbansının enzim ile etkileşiminden sonra zamana bağlı olarak azalması dikkate alınarak yapılmıştır (Lartillot vd. 1988).

Ayırıcılar:

- a. 50 mM Fosfat Tamponu (pH 6.8): 2.482 g K₂HPO₄ ve 4.864 g KH₂PO₄ alınır ve pH ayarlandıktan sonra saf su ile 1000 mL'ye tamamlanır.
- b. 10 mM H₂O₂: %30'luk peroksitten 10 µL alınır ve 9990 µL saf suyla tamamlanır.
- c. 1 M HCl: %37'lik HCl'den 43 µL alınır ve fosfat tamponuyla 50 mL'ye tamamlanır

Yöntem: 50 mmol/L fosfat tamponu (pH 6.8) içerisinde 10 mmol/L H₂O₂ olacak biçimde substrat çözeltisi hazırlanmıştır. 20 µL örnek üzerine 2.5 ml substrat çözeltisi eklenerek 37 °C sıcaklıkta iki dakika bekletilmiş ve tepkimeyi durdurmak için üzerine 0.5 ml 1 M HCl çözeltisi eklenerek 240 nm dalga boyundaki absorbansı (Ar) ölçülmüştür.

Kör için 2.5 ml 50 mmol/L fosfat tamponu (pH 6.8) ve 0.5 ml 1 M HCl içeren çözelti kullanılmıştır.

H₂O₂'in başlangıç absorbans (As) değerini saptamak için 2.5 ml substrat ve 0.5 ml 1 M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülmüştür.

Proteinin neden olduğu absorbansı (At) tespit etmek için 20 µL örnek, 2.5 ml fosfat tamponu ve 0.5 ml 1 M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülmüştür.

Hesaplama:

Enzimatik aktivite kaynaklı absorbans (A) değişimi:

$$A = (A_s + A_t) - A_r$$

Enzim aktivitesi hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{CAT aktivitesi (U/mL)} = \frac{A.V_t}{\epsilon.t.V_0}$$

V_t = Toplam reaksiyon hacmi (mL)

V_0 = Örnek hacmi (mL)

ϵ = H_2O_2 'nin molar ekstinksiyon katsayısı ($0.0396 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$)

t = Reaksiyon zamanı (dakika)

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

3.2.1.4. MDA düzeyi tayini

Prensip: Malondialdehid 90 °C sıcaklıkta tiobarbutirik asit ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu kompleks spektrofotometrede 535 nm'de ölçülmektedir (Dubovskiy vd. 2008).

Ayırıcılar:

TBA (%0.8): 0.8 g TBA tartılır ve 100 ml distile suda çözülür.

TCA (%20): 20 g TCA 100 ml distile suda eritilir.

Stok Standart: 1,1,3,3 Tetrametoksipropan.

Yöntem: MDA aktivitesi tayini için süpernatanttan alınan 250 µl örnek, 125 µl %20 TCA ile karıştırılır. Bu karışım 15000 g'de, 10 dakika süreyle +4 °C'de santrifüj edilir. Tüpteki süpernatant (300 µl), 200 µl TBA ile karıştırılır ve 60 dakika süreyle sıcak su banyosunda (90 °C) bekletilir. Bu işlem sonunda 535 nm de spektrofotometrede okuma yapılır.

Hesaplama:

Sonuçlar standart eğride değerlendirilir. Standart olarak 1,1,3,3 Tetrametoksipropan kullanılacaktır. Stok standarttan 6.6 µl alınır ve distile suyla 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözeltiden 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 nmol/mL'lik çalışma standartları hazırlanır ve örneklerle yapılan işlemin aynısı yapılarak standart eğri çizimi gerçekleştirilir. Bu eğriden yararlanılarak MDA miktarı hesaplanır. MDA miktarı belirlenip, protein miktarına bölünüp, sonuçlar nmol MDA/mg protein cinsinden bulunur.

3.2.1.6. Protein düzeyi tayini

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

Ayırıcılar:

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 hazırlanmakta): 50 mL alkali Na_2CO_3 çözeltisi 1 mL Bakır Sülfat-Sodyum Potasyum Tartarat çözeltisiyle karıştırılarak hazırlanmıştır.
4. Folin-Ciocalteu Ayırıcı: 1 mL Folin-Ciocalteu, 1.5 mL distile su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

Yöntem : Protein tayini için iki tüp alınır ve Çizelge 3.2’te belirtilen ayıracılar konur.

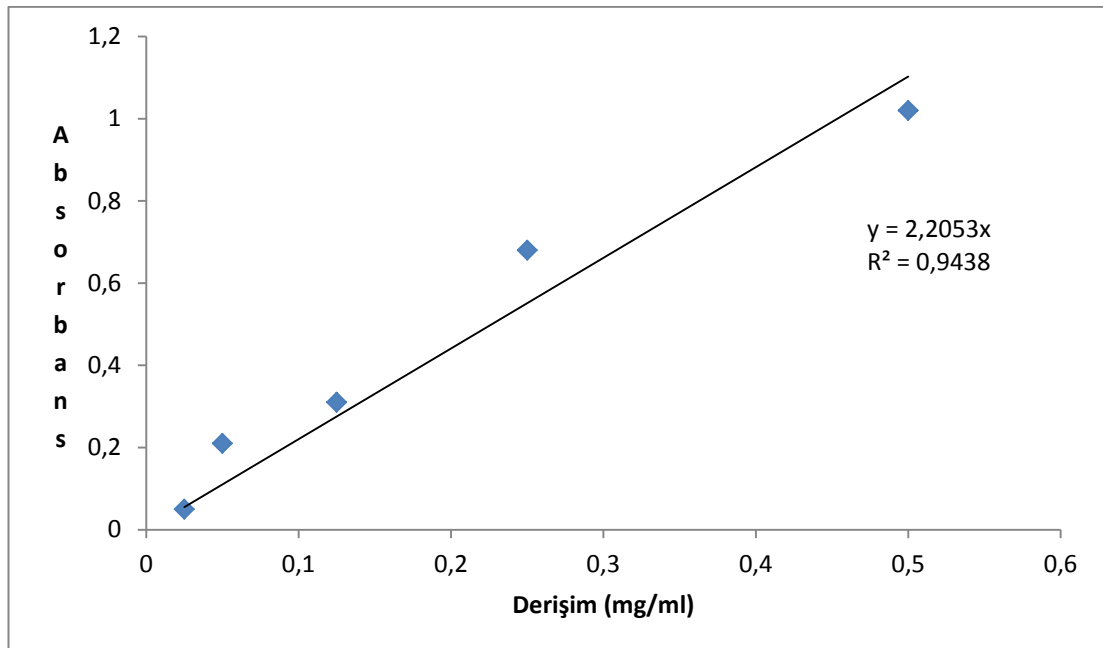
Çizelge 3.2. Protein Yöntemi

Çözeltiler	Kör (mL)	Örnek (mL)
Distile Su	0.3	-
Örnek	-	0.3
Alkali Çözeltisi	3.0	3.0
25 °C’de 15 dakika bekletilmiş,		
Folin-Ciocalteu	0.3	0.3

İlave edilip oda sıcaklığında 30 dakika bekletilerek 750 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür.

Hesaplama

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



Şekil 3.1. Standart protein grafiği

3.3. İstatistik

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistics 21.0 paket programı kullanılarak One Way-ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi)-Student – Newman Keul’s Test (SNK) ve Student-*t* Test (Independent-Sample *t* Test) kullanılarak yapılmıştır.



4. BULGULAR

Sunulan bu araştırmada cıvanın tek başına ve selenyumla birlikte etkisine 4 ve 21 günlük süreleri ile bırakılan *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer dokusundaki bazı antioksidan enzim (SOD ve CAT) aktiviteleri ile lipid peroksidasyonunun belirteci olan MDA düzeyleri araştırılmıştır. Cıva ve cıva+selenyum karışımlarının denenen tüm ortam derişimlerinde etki süreleri boyunca balıklarda ölüm gözlenmemiştir.

4.1. SOD Aktivitesi

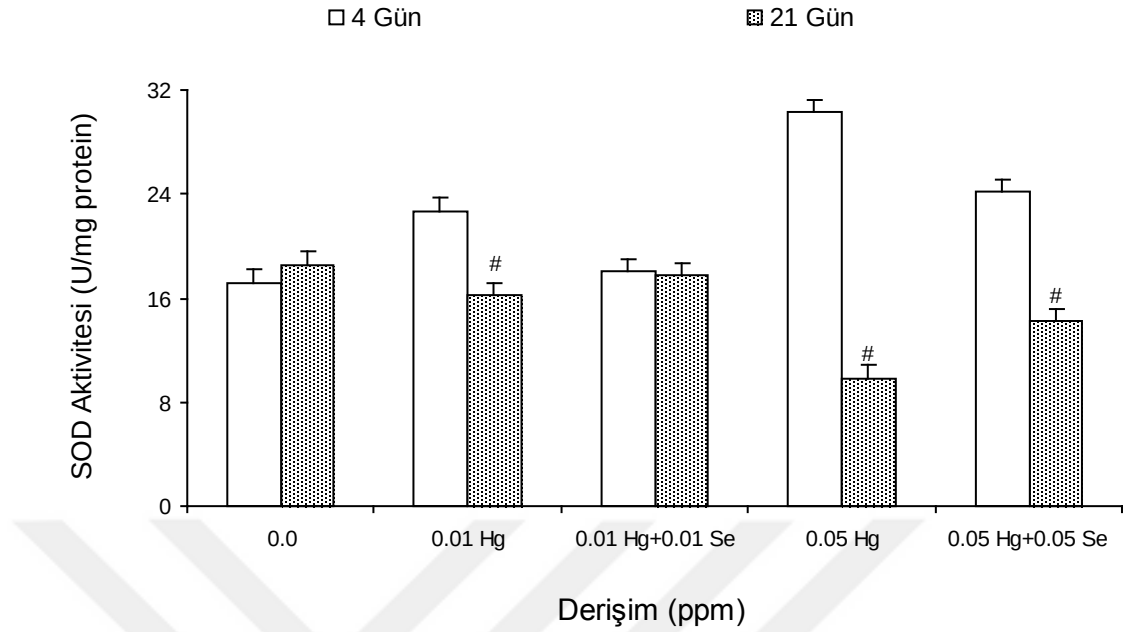
Belirli bir etkileşim süresinde *O. niloticus*'un solungaç dokusu SOD aktivitesi üzerine cıva ve cıva + selenyum karışımlarının derişime bağı etkileri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Etki süreleri dikkate alındığında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında SOD aktivitesinin 4 günlük süre sonunda cıvanın her iki ortam derişiminde ve cıva+selenyum karışımının ise yüksek ortam derişiminin etkisinde anlamlı bir şekilde arttığı saptanmıştır ($P<0.05$). 21 günlük süre sonunda ise cıva ve cıva+selenyum karışımlarının düşük ortam derişimlerinde önemli bir değışim göstermeyen ($P>0.05$) SOD aktivitesinde yüksek ortam derişimlerinin etkisinde anlamlı bir azalış saptanmıştır ($P<0.05$). 0.05 ppm Hg ve 0.05+0.05 ppm Hg+Se etkisinde ilk etkileşim süresi sonunda SOD aktivitesi sırasıyla %76 ve %40 düzeyinde artarken; 21 günlük süre sonunda ise tam tersine %47 ve %24 düzeyinde bir azalma göstermiştir. SOD aktivitesindeki artış ya da azalışlar cıva+selenyum karışımının etkisine oranla doğrudan cıvanın etkisinde daha fazla olmuştur.

Çizelge 4.1. Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un solungaç dokusu SOD aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkileri

Derişim (ppm)	4 Gün	21 Gün
0.0	17.19±0.67 a	18.59±0.47 a
0.01 Hg	22.72±0.39 b	16.21±0.58 a
0.01 Hg+0.01 Se	18.02±0.17 a	17.70±0.82 a
0.0	17.19±0.67 a	18.59±0.47 a
0.05 Hg	30.26±0.89 b	9.81±0.33 b
0.05 Hg+0.05 Se	24.12±0.20 c	14.22±0.18 c

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Belirli bir ortam derişiminde *O. niloticus*'un solungaç dokusu SOD aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Etki süresine bağlı olarak SOD aktivitesinin doğrudan cıvanın etkisinde her iki ortam derişiminde, selenyumla birlikte etkisinde ise yüksek ortam derişiminde anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir (P<0.05). İlk etkileşim süresine oranla 21 günlük süre sonunda SOD aktivitesi, yüksek cıva ve cıva+selenyum karışımında sırasıyla, %68 ve %41 düzeyinde bir azalma göstermiştir. Etkileşim süresi artıkça SOD aktivitesinde gözlenen azalış selenyumla birlikte etkisine oranla cıvanın tek başına etkisinde daha fazla olmuştur.



Şekil 4.1. *O. niloticus*'un solungaç dokusu SOD aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

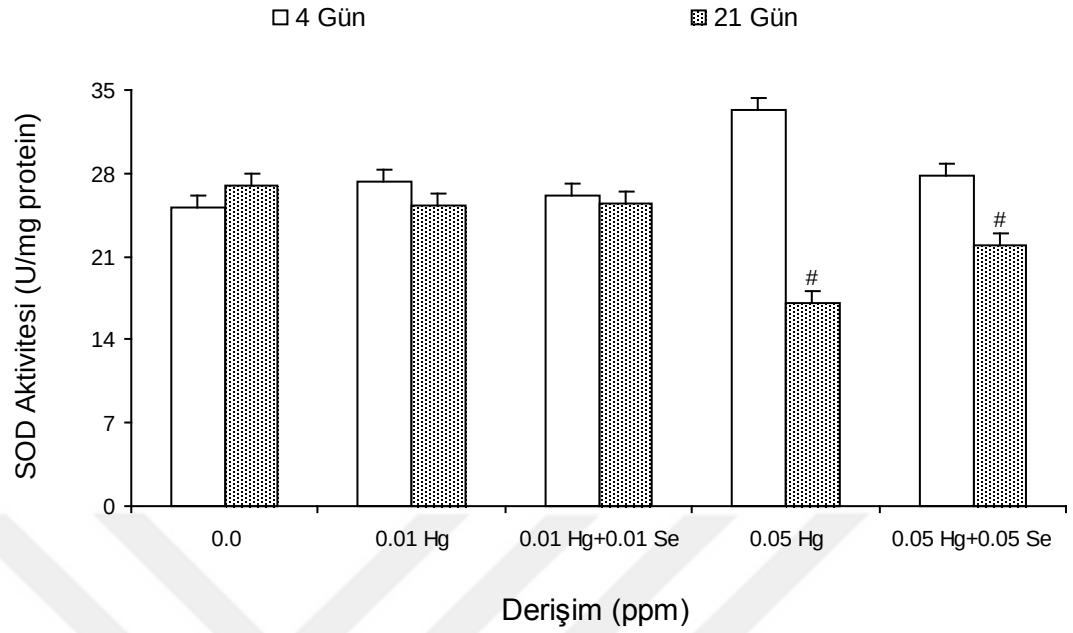
Denenen etki sürelerinde *O. niloticus*'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine cıva ve cıva + selenyum karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.2'de verilmiştir. İlk etki süresi sonunda SOD aktivitesi 0.05 ppm Hg etkisinde anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($P<0.05$). Son etkileşim süresi sonunda ise cıvanın tek başına ve selenyumla birlikte etkisinde yüksek ortam derişimlerinde enzim aktivitesinin önemli bir şekilde azaldığı belirlenmiştir ($P<0.05$). 0.05 ppm Hg etkisinde 4 günlük süre sonunda %32 düzeyinde artan SOD aktivitesi, 21 günlük süre sonunda ise yüksek cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisinde sırasıyla; %37 ve %19 düzeyinde bir azalma göstermiştir. SOD aktivitesindeki azalışlar cıva+selenyum karışımının etkisine oranla doğrudan cıvanın etkisinde daha fazla olmuştur.

Çizelge 4.2. Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkileri

Derişim (ppm)	4 Gün	21 Gün
0.0	25.13±0.44 a	27.04±0.71 a
0.01 Hg	27.28±0.35 a	25.31±0.69 a
0.01 Hg+0.01 Se	26.09±0.51 a	25.49±0.73 a
0.0	25.13±0.44 a	27.04±0.71 a
0.05 Hg	33.27±0.80 b	17.11±0.23 b
0.05 Hg+0.05 Se	27.81±0.33 a	21.88±0.19 c

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Belirli bir ortam derişiminde *O. niloticus*'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının süreye bağı etkileri Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Süreye bağı olarak SOD aktivitesi, düşük cıva ve cıva+selenyum karışımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değışim göstermezken (P>0.05); yüksek cıva ve cıva+selenyum karışımında ise anlamlı bir azalma göstermiştir (P<0.05). 4 günlük etkileşim süresine oranla 21 günlük süre sonunda SOD aktivitesinde 0.05 ppm Hg ve 0.05+0.05 ppm Hg+Se etkisinde sırasıyla, %49 ve %21 düzeyinde bir azalma saptanmıştır. Bu durum etkileşim süresine bağı olarak SOD aktivitesinde gözlenen azalmanın cıvanın tek başına etkisinde selenyumla birlikte etkisine oranla 2 kattan daha fazla olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.2. *O. niloticus*'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

4.2. CAT Aktivitesi

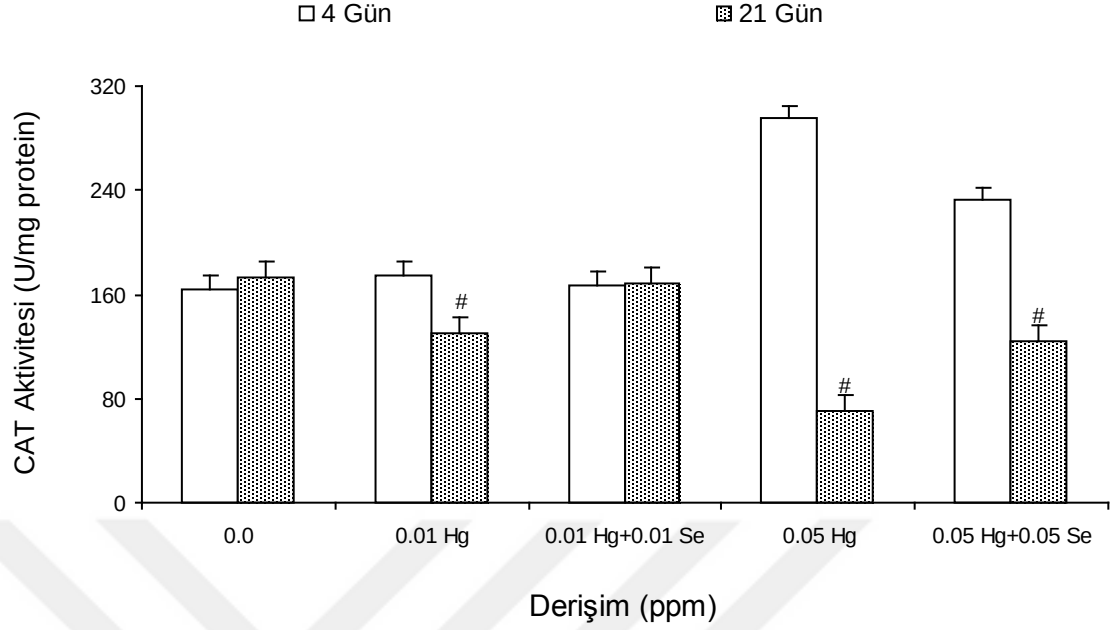
Denenen sürelerde *O. niloticus*'un solungaç dokusu CAT aktivitesi üzerine cıva ve cıva + selenyum karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.3'te verilmiştir. CAT aktivitesi 4 günlük süre sonunda cıva ve cıva+selenyum karışımının yüksek ortam derişiminin etkisinde anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($P<0.05$). 21 günlük süre sonunda ise cıvanın her iki ortam derişiminde ve cıva+selenyum karışımının ise yüksek ortam derişiminin etkisinde CAT aktivitesinde anlamlı bir azalma belirlenmiştir ($P<0.05$). 0.05 ppm Hg ve 0.05+0.05 ppm Hg+Se etkisinde 4 günlük süre sonunda CAT aktivitesi sırasıyla %80 ve %42 düzeyinde artarken; 21 günlük süre sonunda ise %59 ve %28 düzeyinde bir azalma göstermiştir. CAT aktivitesindeki artış ya da azalışlar cıva+selenyum karışımının etkisine oranla doğrudan cıvanın etkisinde daha fazla olmuştur.

Çizelge 4.3. Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un solungaç dokusu CAT aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkileri

Derişim (ppm)	4 Gün	21 Gün
0.0	164±10 a	173±13 a
0.01 Hg	175±18 a	130±11 b
0.01 Hg+0.01 Se	167±12 a	169±14 a
0.0	164±10 a	173±13 a
0.05 Hg	295±22 b	71±19 b
0.05 Hg+0.05 Se	232±15 c	124±10 c

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayırımı göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayırımı olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Belirli bir ortam derişiminde *O. niloticus*'un solungaç dokusu CAT aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Etki süresine bağlı olarak CAT aktivitesi, 0.01 ve 0.05 ppm Hg ve 0.05+0.05 ppm Hg+Se derişiminde anlamlı bir azalış göstermiştir (P<0.05). 4 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda CAT aktivitesinde yüksek cıva ve cıva+selenyum karışımında sırasıyla, %76 ve %47 düzeyinde bir azalma saptanmıştır. Bu durum etki süresi uzadıkça CAT aktivitesinin, selenyumla birlikte etkisine oranla cıvanın doğrudan etkisinde daha fazla azaldığını göstermektedir.



Şekil 4.3. *O. niloticus*'un solungaç dokusu CAT aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

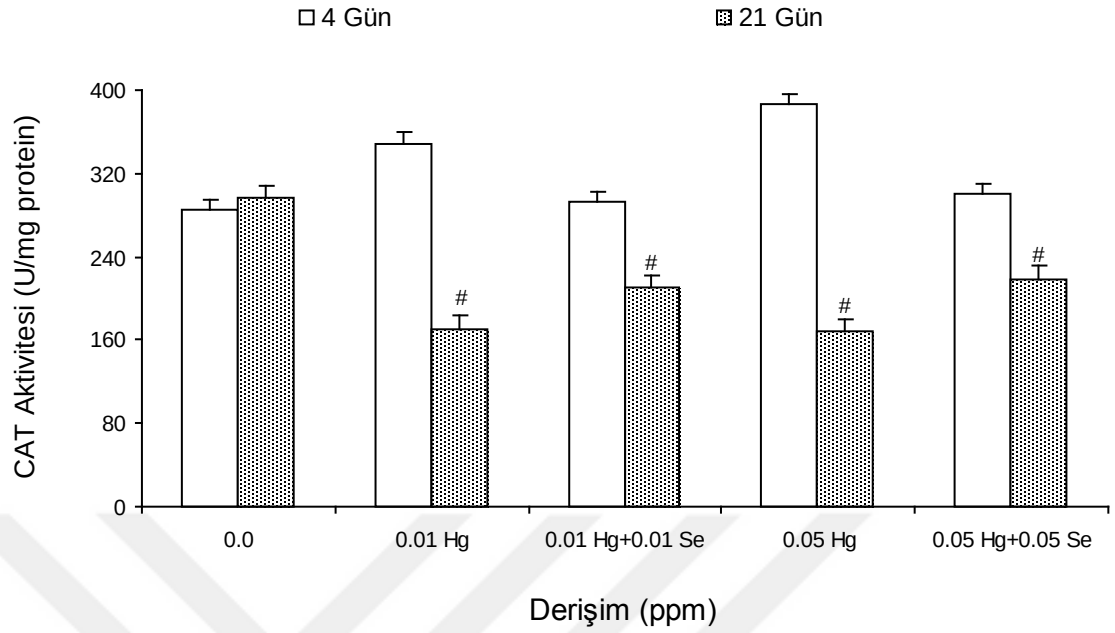
Denenen etki sürelerinde *O. niloticus*'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine cıva ve cıva + selenyum karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.4'te verilmiştir. CAT aktivitesi, 4 günlük süre sonunda 0.01 ve 0.05 ppm Hg etkisinde anlamlı bir artış gösterirken ($P<0.05$); cıva+selenyum karışımının her iki ortam derişiminin etkisinde önemli bir değışim göstermemiştir ($P>0.05$). Son etkileşim süresi sonunda ise hem cıvanın hem de cıva+selenyum karışımının her iki ortam derişiminin etkisinde enzim aktivitesinde anlamlı bir azalma saptanmıştır ($P<0.05$). 0.01 ve 0.05 ppm Hg etkisinde ilk etkileşim süresi sonunda sırasıyla %23 ve %36 düzeyinde artış gösteren CAT aktivitesi; 21 günlük süre sonunda yüksek cıva ve cıva+selenyum etkisinde ise sırasıyla %43 ve %26 düzeyinde bir azalma göstermiştir. Son etki süresinde CAT aktivitesinde gözlenen azalışlar doğrudan cıvanın etkisinde daha fazla olmuştur.

Çizelge 4.4. Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi (U/mg protein) üzerine etkileri

Derişim (ppm)	4 Gün	21 Gün
0.0	285±22 a	297±19 a
0.01 Hg	349±16 b	171±12 b
0.01 Hg+0.01 Se	293±11 a	210±17 c
0.0	285±22 a	297±19 a
0.05 Hg	387±28 b	168±23 b
0.05 Hg+0.05 Se	301±14 a	219±13 c

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Aynı ortam derişiminde *O. niloticus*'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresi uzadıkça CAT aktivitesi, hem cıvanın doğrudan hem de selenyumla birlikte etkisinde her iki ortam derişiminde anlamlı bir azalış göstermiştir (P<0.05). 4 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda CAT aktivitesinde yüksek cıva ve cıva+selenyum karışımında sırasıyla, %57 ve %27 düzeyinde bir azalma saptanmıştır. Süreye bağlı olarak CAT aktivitesi, selenyumla birlikte etkisine oranla cıvanın doğrudan etkisinde daha fazla azalmıştır



Şekil 4.4. *O. niloticus*'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

4.3. MDA Düzeyi

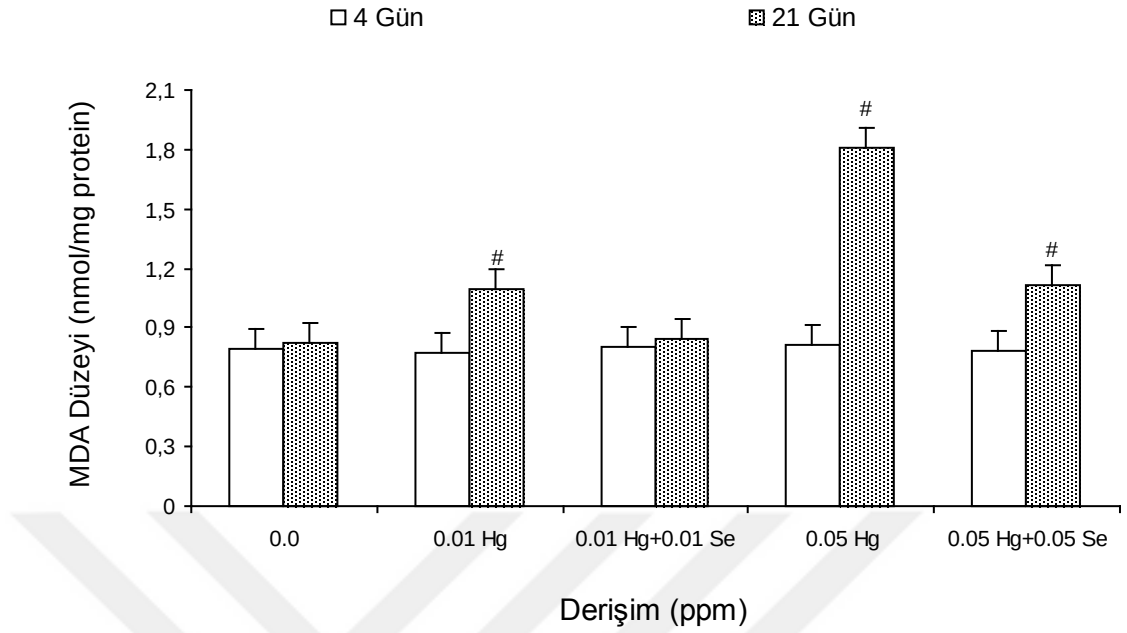
Belirli bir etkileşim süresinde *O. niloticus*'un solungaç dokusu MDA düzeyi üzerine cıva ve cıva + selenyum karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Etki süreleri dikkate alındığında MDA düzeyi, 4 günlük süre sonunda hem cıvanın hem de cıva+selenyum karışımının düşük ve yüksek ortam derişimlerinin etkisinde önemli bir değişim göstermemiştir ($P>0.05$). 21 günlük etki süresi sonunda ise 0.01 ve 0.05 ppm Hg ve 0.05+0.05 ppm Hg+Se derişiminin etkisinde MDA düzeyinde önemli bir artış belirlenmiştir ($P<0.05$). Son etkileşim süresi sonunda yüksek cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisinde MDA düzeyi sırasıyla %121 ve %37 düzeyinde bir artış göstermiştir. Bu durum, MDA düzeyindeki artışın cıvanın tek başına etkisinde, ortamda selenyum bulunduğundaki etkisine oranla 3 kattan daha fazla olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5. Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un solungaç dokusu MDA düzeyi (nmol/mg protein) üzerine etkileri

Derişim (ppm)	4 Gün	21 Gün
0.0	0.79±0.02 a	0.82±0.04 a
0.01 Hg	0.77±0.04 a	1.10±0.05 b
0.01 Hg+0.01 Se	0.80±0.03 a	0.84±0.02 a
0.0	0.79±0.02 a	0.82±0.04 a
0.05 Hg	0.81±0.01 a	1.81±0.06 b
0.05 Hg+0.05 Se	0.78±0.02 a	1.12±0.04 c

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki ayırımı göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Belirli bir ortam derişiminde *O. niloticus*'un solungaç dokusu MDA düzeyi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Aynı ortam derişimi dikkate alındığında etkileşim süresi uzadıkça MDA düzeyinin, 0.01 ve 0.05 ppm Hg ve 0.05+0.05 ppm Hg+Se ortam derişiminde anlamlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir (P<0.05). İlk etki süresine oranla 21 günlük süre sonunda MDA düzeyinde yüksek cıva ve cıva+selenyum karışımında sırasıyla, %124 ve %44 düzeyinde bir artış saptanmıştır. Bu durum etki süresine bağlı olarak MDA düzeyinin, cıvanın doğrudan etkisinde selenyumla birlikte etkisine oranla daha fazla arttığını göstermektedir.



Şekil 4.5. *O. niloticus*'un solungaç dokusu MDA düzeyi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

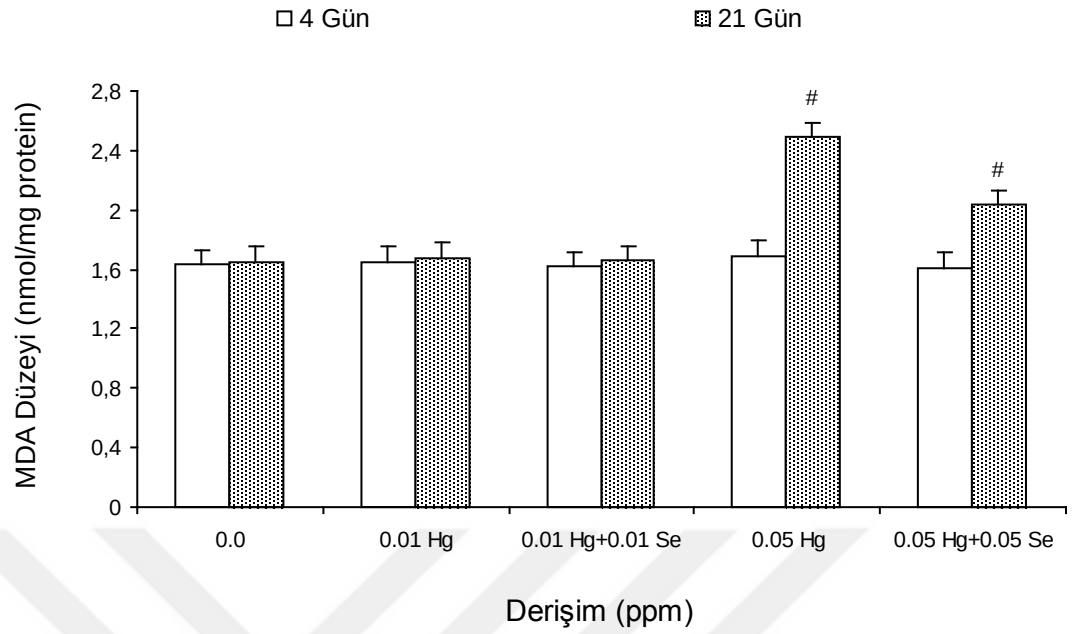
Denenen sürelerde *O. niloticus*'un karaciğer dokusu MDA düzeyi üzerine cıva ve cıva + selenyum karışımlarının derişime bağlı etkileri Çizelge 4.6'te verilmiştir. 4 günlük etki süresi sonunda MDA düzeyinde cıvanın doğrudan ve selenyumla birlikte etkisinde test edilen her iki ortam derişiminde de önemli bir değişim gözlenmemiştir ($P>0.05$). 21 günlük etki süresi sonunda ise yüksek cıva ve cıva+selenyum karışımının etkisinde MDA düzeyinde önemli bir artış saptanmıştır ($P<0.05$). 21 günlük süre sonunda 0.05 ppm Hg ve 0.05+0.05 ppm Hg+Se derişiminin etkisinde MDA düzeyi sırasıyla, %51 ve %23 düzeyinde bir artış göstermiştir. Bu durum, cıvanın tek başına etkisinde, ortamda selenyum bulunduğundaki etkisine oranla MDA düzeyinin 2 kattan daha fazla arttığını göstermektedir.

Çizelge 4.6. Cıva ve cıva+selenyumun farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu MDA düzeyi (nmol/mg protein) üzerine etkileri

Derişim (ppm)	4 Gün	21 Gün
0.0	1.63±0.04 a	1.65±0.03 a
0.01 Hg	1.65±0.02 a	1.68±0.04 a
0.01 Hg+0.01 Se	1.62±0.02 a	1.66±0.03 a
0.0	1.63±0.04 a	1.65±0.03 a
0.05 Hg	1.69±0.03 a	2.49±0.05 b
0.05 Hg+0.05 Se	1.61±0.03 a	2.03±0.04 c

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki ayırımı göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Aynı ortam derişiminde *O. niloticus*'un karaciğer dokusu MDA düzeyi üzerine cıva ve cıva+selenyum karışımlarının süreye bağlı etkileri Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında etkileşim süresi uzadıkça MDA düzeyinde, 0.05 ppm Hg ve 0.05+0.05 ppm Hg+Se ortam derişiminde anlamlı bir şekilde artış saptanmıştır (P<0.05). 4 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda MDA düzeyinde yüksek cıva ve cıva+selenyum karışımında sırasıyla, %47 ve %26 düzeyinde bir artış belirlenmiştir. Bu durum etki süresine bağlı olarak MDA düzeyinin, cıvanın doğrudan etkisinde daha fazla arttığını göstermektedir.



Şekil 4.6. *O. niloticus*'un karaciğer dokusu MDA düzeyi üzerine cıva ve cıva+selenyumun süreye bağlı etkileri. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Cıva çok düşük düzeylerde bile balıkları etkilemektedir. Toksik metaller balıkların iç dinamiklerinde değişiklikler oluşturabilme potansiyeline sahiptir. Balıklar tarafından vücuda alınan bu metaller önce organ ve dokularda birikmekte daha sonra enzimlerin inaktivasyonu, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerin oksidasyonu gibi subletal etkilere neden olabilmektedir. Şiddetli bir stres durumunda ise metal toksisitesinin öldürücü etkisi sonucu balıklarda mortalite de gözlemlenmektedir. Sunulan çalışmada cıvanın toksik etkisi sonucu antioksidan enzim aktivitelerinde inhibisyon ve lipid peroksidasyon düzeylerinde ise artışlar gibi subletal etkiler belirlenmişken deneylerin sona erdirildiği 21 günlük süre sonunda ve yüksek cıva ortam derişimlerinin etkisinde *O. niloticus*'ta mortalite gözlenmemiştir. Yüksek metal derişimli sularda balıkların yaşamlarını sürdürebilmeleri, bu metallere gösterecekleri uyumla yakından ilişkilidir. Balıklar gelişmiş bir adaptasyon yeteneklerine bağlı olarak metallerin öldürücü etkisi ile baş edebilmektedirler. Bu canlıların solungaç, karaciğer ve böbrek gibi metabolik olarak aktif organları metallerin alınıp, atılım, depolanması, metabolize ve detoksifiye edilmesindeki etkin rollerinin bir sonucu olarak balıkları ağır metallerin zararlı etkilerinden korumasında önemli işlevlere sahiptir. Sunulan çalışmada da *O. niloticus*'ta özellikle karaciğer ve solungaç dokularındaki yüksek savunma ve detoksifikasyon mekanizmalarının ve hasar gören hücre bileşenlerinin tamirinde rol oynayan güçlü bir onarım sisteminin varlığına bağlı olarak mortalite gözlenmemiş olabilir. Benzer şekilde Firidin vd. (2015) yaptıkları çalışmalarında da 14 gün süreyle 0.1 mg/L cıva etkisine bırakılan *O. niloticus*'ta mortalite gözlenmemiştir.

Nil tilapyası *O. niloticus* çevresel kirleticilere karşı dayanıklı bir tür olup akuatik kirliliğin değerlendirilmesi çalışmalarında sıklıkla kullanılan uygun indikatör bir türdür (Gold-Bouchot vd. 2006, Pathiratne vd. 2009). *O. niloticus* güçlü bir immün sisteme sahip olduğu için biyotik ve abiyotik stresörleri iyi bir şekilde tolere edecek kapasiteye sahiptir (Min ve Kang 2008). *O. niloticus* Dünya'da geniş şekilde kültürü yapılan bir tatlı su balığı olup toksikolojik çalışmalar ve akuatik ekosistemlerin izlenmesi ve değerlendirilmesi için uygun bir organizma olarak kullanıldığından (Min ve Kang 2008) sunulan çalışmada model organizma olarak seçilmiştir.

Ağır metallerin balık dokularında fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerde değişikliklere ve patolojik durumlara neden olduğu bilinmektedir. Balıkların bazı dokuları ağır metal toksisitesinden daha çok etkilenebilmektedir. Balık solungaçları ve karaciğeri, metallerin neden olduğu kimyasal stresin etkilerinin değerlendirilmesinde akuatik toksikolojik çalışmalarda en sıklıkla kullanılan dokulardır. Balık solungaçlarının havaya göre suda daha az bulunan oksijeni alabilmek için geniş yüzey alanı, su ile doğrudan temas ve ters akım prensibi (su ile kanın akış yönünün zıt olması) gibi uygun mekanizmalara sahip olması aynı zamanda suda çözünmüş olan kirleticilerin de yüksek düzeylerde vücuda girişini kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle solungaçlar metal toksisitesinin ilk hedef dokuları olarak ifade edilmektedir. Karaciğer ise ksenobiyotiklerin metabolizmasında ve bunları suda çözünür forma dönüştürerek vücuttan atılımını kolaylaştıran bir organdır. Karaciğer bu nedenle önemli bir detoksifikasyon organı olarak ifade edilmektedir. Bu dokunun toksikolojik çalışmalardaki öneminden biri de çoklu oksidatif reaksiyonların ve yüksek serbest radikal üretiminin olduğu bir doku olmasıdır (Avcı vd. 2005). Antioksidan enzimler balıkların tüm dokularında bulunmasına rağmen ROT'ların enzimatik transformasyonunda ve kimyasalların birikiminde önemli rol oynayan karaciğer dokusunda daha yüksek düzeyde bulunmaktadır (Ji vd. 2012). Bu nedenle sunulan bu araştırma solungaç ve karaciğer dokuları hedef dokular olarak dikkate alınmıştır.

Sucul ekosistemlerde balıklar, birçok farklı kirleticilerin etkisi altındadır ve bu kirleticilerin etkilerini değerlendirmek ekotoksikolojik araştırmalar için oldukça önemlidir (Carvalho vd. 2012). Akuatik ortama giren kirleticilerin sucul ekosistemlere ve içinde yaşayan organizmalara ciddi hasarlar verdiği iyi bilindiğinden toksikantlar tarafından akuatik organizmalarda oluşan oksidatif stres yanıtlarını çalışmak önemlidir (Soares vd. 2008). Bu nedenle son yıllarda özellikle de akuatik toksikoloji alanında yapılan bilimsel araştırmalarda sucul organizmalarda çeşitli toksikantlar tarafından indüklenen oksidatif toksisite çalışmalarına oldukça yer verilmektedir (Livingstone 1998).

Akuatik ortamlar çevresel kirleticilerin büyük miktarlarda girdiği sistemler olup bu ortamlara giren kirleticiler potansiyel olarak balıklarda oksidatif strese neden olabilmektedirler (Oliveira vd. 2008). Çoğu kirleticiler antioksidan enzim sistemlerini

değiştirerek ve/veya serbest radikallerin üretimi ile oksidatif hasara neden olmaktadırlar (Huang vd. 2007).

Oksidatif stres aslında normal metabolizmanın bir sonucu olarak sürekli üretilen ROT'larla ilişkili bir durumdur. Bununla birlikte ROT'lar toksin ya da ksenobiyotiklerin biyotransformasyon reaksiyonlarının ürünleri tarafından da kolaylıkla yüksek düzeylerde oluşturulabilmektedirler (Surea vd. 2006). Hücrel antioksidan sistemler, aşırı ROT üretiminin neden olduğu oksidatif stresin adaptasyonunda oldukça önemlidir (Surea vd. 2004). ROT'lar keza hücrel oksidan – antioksidan homeostazinin korunması için redoks – duyarlı sinyal verici yollarla adaptif yanıtların aktivasyonu için mesajcı moleküller olarak da davranmaktadırlar (Surea vd. 2006). Hücrel antioksidan durum, çevresel bir strese karşı organizmaların yeteneklerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Frenzilli vd. 2004). Oksidatif stresin özellikle de uzun dönem kimyasal etkileşimlerinde canlılarda dejeneratif hastalıklara, immün ve üreme sistemlerinin bozulmasına ve yaşam süresinin kısılmasına neden olduğu belirtilmektedir (Banerjee vd. 1999).

Cıvanın biyomoleküllerin yapısında bulunan sülfidril gruplarına yüksek ilgisi olduğu bilinmektedir. Cıva redoks-inaktif metal olup redoks döngüsüne doğrudan katılmamakla birlikte özellikle tiyol-içeren glutatyon gibi antioksidan ve enzimler gibi hücrelerin önemli antioksidanlarıyla etkileşime girmekte ve bu moleküllerin aktivitelerini engelleyerek ROT'ların dolaylı olarak üretimine neden olabilmektedirler (Stohs ve Bagchi 1995). ROT'lar ise oksidatif strese neden olarak membran lipidlerini, proteinleri, enzimleri ve nükleik asitler gibi hücrel elemanlarda aktivite kaybı ve oksidasyon gibi hasarlara yol açmaktadır. Bununla birlikte ROT'lar ve zararlı etkilerine karşı en önemli koruyucu mekanizmalar olan SOD, CAT gibi enzimatik ve glutatyon, metallothionein gibi enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleriyle hücreler bu oksidatif stres toksisitesini nötralize edebilme yeteneklerine sahiptirler.

Antioksidan savunma sistemleri, çevresel izleme sistemlerinde biyokimyasal belirteçler olarak etkinliklerinden dolayı sıklıkla çalışılmaktadır (Winston ve Di Giulio 1991, Rai ve Sharma 2007). Balıklar metabolik fonksiyonlarını değiştirerek ya da adapte ederek kirleticilerin etkilerine karşı yanıtlar oluşturmaktadır. Metallerin subletal konsantrasyonlarına etkileşimlerinde antioksidan enzim aktivitelerindeki değişiklikler ROT'lara adaptif bir yanıt olarak oluşabilmektedir. Antioksidan enzimler prooksidan

koşullar altında çeşitli çevresel kirleticilerin etkisinde indüklenebilmekte ve başlangıçta oksidatif stresle mücadele etmek için aktiviteleri artarken uzun dönemli etkileşimler aktivitelerini inhibe etmekte ve bu da temel biyolojik moleküllerde oksidatif hasara yol açmaktadır (Bebianno vd. 2005). Bu enzimler, akuatik ortamlardaki çeşitli organizmalardaki oksidatif strese neden olan kirleticilerin biyobelirteçleri olarak ifade edilmektedir ve bunların indüksiyonu kirleticilere spesifik bir yanıtı göstermektedir (Borkovic vd. 2005).

Balıklarda SOD ve CAT oksidatif strese karşı savunmada oldukça önemli antioksidan enzimlerdir. SOD süperoksidi hidrojen perokside dismutasyonunu, CAT ise hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüşümünü katalizleyerek doğrudan veya dolaylı olarak oksiradikal oluşumunu ve/veya bu radikallerden oksidatif strese gidecek reaksiyonları engelleyerek hücrel savunmada önemli roller oynamaktadırlar (Bainy vd. 1996). Bu nedenle SOD ve CAT oksidatif hasarın biyobelirteçleri olarak sıklıkla kullanılmaktadırlar (Regoli ve Principato 1995). SOD ve CAT, toksikantlar tarafından üretilen hücrel reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılmasından sorumlu iki önemli antioksidan enzimdir (Ma vd. 2014). SOD ve CAT'ın karaciğer dokusunda ksenobiyotiklerin biyoaktivasyonu sırasında oluşan ROT'larla mücadele eden önemli enzimler olduğu rapor edilmiştir (Doyotte vd. 1997). Özellikle de SOD, oldukça reaktif ve potansiyel olarak toksik olan süperoksit radikallerini uzaklaştırmada kritik bir rol oynamaktadır (Reddy ve Sreenivasula 1997, Kumar vd. 2003). CAT da yine oldukça reaktif olan hidroksil radikalının kaynağı olan H_2O_2 'yi uzaklaştıracığından önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle SOD ve CAT sisteminin ROT'lara karşı ilk savunma hattını oluşturduğu belirtilmektedir (Ma vd. 2014). Sunulan çalışmada cıvanın etkisinde *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer dokularında CAT ve SOD enzim aktivitelerinde ortam derişimlerine ve etki sürelerine bağlı olarak önemli değışikliklerin olduğu belirlenmiş olup enzim aktivitelerindeki bu değışikliklerin oksidatif strese yol açan ROT'ların üretiminde rol oynayan cıvanın toksik etkileri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Önceki çalışmalarda da balık dokularındaki antioksidan enzim aktivitelerinde azalış/artışların cıvayı da içeren çeşitli ağır metallerin etkisinde meydana geldiğı ve bu değışikliklerin metalin derişimine, etkileşim süresine ve çalışılan dokulara bağlı olduğu rapor edilmiştir (Talas vd. 2008, Firidin vd. 2015).

Bu ikili enzim sisteminden süperoksit anyon radikalini moleküler oksijen ve hidrojen peroksit'e dönüşümünü katalizleyen SOD, ROT'lara karşı hücrenin ilk savunma hattını oluşturarak süperoksitin neden olacağı oksidatif hasara karşı hücreleri korumaktadır (Fridovich 1989). Araştırmamızda *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer dokularındaki SOD aktivitesinin hem cıvanın tek başına hem de cıva+selenyum karışımının etkisinde özellikle de yüksek ortam derişimlerinde 4 günlük etki süresi sonunda arttığı; 21 günlük etki süresi sonunda ise azaldığı belirlenmiştir. SOD aktivitesindeki artış ve azalışlar, cıva+selenyum karışımına oranla cıvanın doğrudan etkisinde daha fazla olmuştur. Cıva ve cıva+selenyum karışımının yüksek ortam derişimlerinde ilk etkileşim süresi sonunda solungaçta sırasıyla %76 ve %40 ve karaciğerde %32 ve %11 düzeylerinde bir artış gösteren SOD aktivitesi, 21 günlük süre sonunda ise solungaçta sırasıyla %47 ve %24; karaciğerde ise sırasıyla %37 ve %19 düzeylerinde bir azalma göstermiştir.

Cıvanın etkisinde başlangıçta dokulardaki yüksek SOD aktivitesinin artan süperoksit anyon radikaline karşı bir adaptasyon yanıtı sonucunda olduğu öngörülmektedir. Bununla birlikte sürenin uzamasıyla enzim aktivitesi cıvanın artan toksik etkisinin sonucu olarak azalmış olabilir. Azalan SOD aktivitesi süperoksit radikallerine karşı hücrelerin koruma kabiliyetinde bir azalışı gösterebilir ki bu durum hücrelerin oksidatif stresten daha çok etkilenmesine yol açabilir. Carvalho vd. (2012) metallerin etkisinde balıklarda artan SOD aktivitesinin metallerin toksik etkilerinin detoksifikasyonunda önemli olduğunu ve balıkların bu enzim aktivitesindeki artışa bağlı olarak süperoksit radikalının toksik etkilerine karşı kendilerini koruduklarını belirtmişlerdir. Balık dokularındaki yüksek SOD aktivitesinin metal etkileşimine yanıtta önemli olduğu vurgulanmaktadır (Fernandes vd. 2008). Lopez – Lopez vd. (2011) ise yaptıkları çalışmalarında kirleticilerin etkisinde balıklardaki azalan SOD aktivitesinin aşırı ROT üretimine bağlı olarak SOD'nin hasar görmesi sonucunda oluştuğunu belirtmişlerdir. Keza Dimitrova vd. (1994) de aşırı süperoksit radikal üretiminin kendisi veya dönüşümü ile oluşan H_2O_2 'nin SOD'deki sisteinin oksidasyonuna neden olarak enzim aktivitesini düşürdüğünü rapor etmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda ağır metalleri de içeren çeşitli toksikantların etkisinde farklı balık türlerinde SOD aktivitesinde önemli değişikliklerin olduğu belirlenmiştir. 5 mg/L kadmiyum etkisine bırakılan *O. mossambicus*'un dokularında SOD enzim

aktivitelerinde önemli artışlar saptanmıştır (Basha ve Rani 2003). Araştırmacılar kadmiyumun karaciğer ve böbrek dokuları SOD aktivitesini %86.61 ve %86.32 düzeylerinde artırdığını belirtmişlerdir. Hansen vd. (2006) yaptıkları çalışmalarında *S. trutta*'nın solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında SOD aktivitesinin bakır etkileşimine yanıtta arttığını rapor etmişlerdir. Bununla birlikte Berntssen vd. (2003) ise balıklardaki cıva toksisitesini araştırdıkları laboratuvar çalışmalarında hem inorganik hem de organik cıvanın uzun dönemli etkisine bırakılan *S. salar*'ın beyin dokusunda SOD aktivitesinin anlamlı düzeylerde azaldığını saptamışlardır. Araştırmacılar cıvanın toksik etkisinin bir sonucu olarak enzim aktivitesinin azaldığını vurgulamışlardır. Karadag vd. (2014) ağır metaller tarafında kontamine olmuş sulardan aldıkları *C. carpio*'nun kan dokusundaki oksidatif stres parametreleri üzerine çevresel kirleticilerin etkilerini inceledikleri alan çalışmalarında kan SOD aktivitesinde azalışlar belirlemişlerdir.

Hidrojen peroksit sitotoksik bir ajan olarak ifade edilmekte ve hücresel düzeyleri antioksidan enzim aktiviteleriyle kontrol edilmektedir (Halliwell vd. 2000). CAT hidrojen peroksidi su ve oksijene dönüşümünü katalize ederek hücreleri bu ajanın toksik etkilerinden korumada önemli bir rol oynayan antioksidan enzimdir. Genellikle SOD ve CAT aktivitesinde eş zamanlı indüksiyon yanıtı kirleticilerin etkisinde gözlenmektedir (Dimitrova vd. 1994). Çalışmamızda da böyle bir ilişki gözlenmiştir. Sunulan araştırmada cıvanın doğrudan ve selenyumla birlikte etkisinde özellikle de yüksek ortam derişimlerinde *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer dokularında CAT aktivitesi SOD aktivitesinde olduğu gibi 4 günlük süre sonunda artış; 21 günlük süre sonunda ise azalış göstermiştir. Enzim aktivitesindeki artış ve azalışların, selenyumla birlikte etkisine oranla cıvanın doğrudan etkisinde daha fazla olduğu saptanmıştır. 21 günlük etki süresinde cıva ve cıva+selenyum karışımının yüksek ortam derişimlerinde CAT aktivitesi solungaçta sırasıyla %59 ve %28; karaciğerde ise sırasıyla %43 ve %26 düzeylerinde bir azalış göstermiştir. Hücresel yapıları H_2O_2 'nin zararlı etkilerine karşı korumak için ilk etkileşim süresi sonunda CAT aktivitesinin arttığı ancak sürenin uzamasıyla artan cıva stresinin sonucunda ve yüksek üretim durumlarında enzim aktivitesini inhibe ettiği belirlenen süperoksit anyon radikaline bağlı olarak CAT aktivitesinin azaldığı düşünülmektedir. Benzer şekilde Fırat ve Kargin (2010) de Zn, Cd ve Zn+Cd etkisine bırakılan *O. niloticus*'ta CAT enzim aktivitesinin metallerin toksik

etkilerinin sonucunda arttığını ve artan enzim aktivitesinin yüksek H_2O_2 üretimiyle ilişkili olduğunu ve metallerin indüklediği oksidatif strese karşı bu enzimin biyolojik önemini gösterdiğini belirtmişlerdir. CAT'ın oksidatif strese toleransta önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (Hunt vd. 1998). Başka bir çalışmada da organoklorlu bir insektisit olan endosulfan etkisinde *Carassius carassius*'ta CAT aktivitesinde başlangıçta bir artış, etkide kalma süresinin uzamasıyla bir azalış rapor edilmiştir (Dar vd. 2015). Araştırmacılar CAT aktivitesindeki artışın H_2O_2 'ye bir yanıt olarak oluştuğunu belirtirken; yüksek konsantrasyonlarda enzim aktivitesindeki azalışların CAT aktivitesini inhibe ettiği rapor edilen (Ballesteros vd. 2009) süperoksit radikallerinin artan düzeyleriyle ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

CAT enzim aktivitesindeki artış ve/veya azalışlar metalleri de içeren çeşitli toksikantların etkisine yanıtta farklı canlı gruplarında rapor edilmiştir. Bakır sülfatın subletal derişimlerinin etkisinde *Brachydanio rerio* türü balıkların karaciğer dokularında CAT enzim aktivitesi artış göstermiştir (Paris-Palacios vd. 2000). Fridin vd. (2015) yaptıkları çalışmalarında da 14 gün süreyle 0.01 ve 0.1 mg/L cıva etkisine bırakılan *O. niloticus*'un beyin ve böbrek dokularında CAT aktivitesinde anlamlı artışlar belirlenmiştir. Ratlarda kadmiyumun oksidatif stres toksisitesi üzerine yapılan bir çalışmada 35 gün süreyle Cd etkisine bırakılan hayvanların karaciğer dokusunda CAT aktivitesinin azaldığı ve oksidatif stresin oluştuğu rapor edilmiştir (Jihen vd. 2009). Ratlarla yapılan başka bir çalışmada ise piretroid insektisit olan cypermetrinin etkisinde karaciğer, böbrek ve beyin dokularında pestisit toksisitesinin bir sonucu olarak CAT aktivitesi azalış göstermiştir (Ateşşahin vd. 2005). 0.25 ppm bakır etkisine bırakılan *C. carpio* karaciğer CAT aktivitesi 4 günlük süre sonunda azalış 8 günlük süre sonunda ise kontrol değerlerine doğru bir artış göstermiştir (Dautremepuits vd. 2004). Talas vd. (2008) de laboratuvar çalışmalarında *O. mykiss*'te kadmiyum ve kromun karaciğer dokusu CAT aktivitesinde önemli azalışlara neden olduğunu belirlemişlerdir.

Cıva balıklarda antioksidan savunma sistemlerde değişikliğe neden olarak oksidatif stresi oluşturabilmekte bu da hücrelerin ölümüne yol açabilecek lipid peroksidasyonuna ve dokularda patolojik durumların oluşmasına yol açmaktadır (Banerjee vd. 1999, Verlecar vd. 2008). Lipid peroksidasyonu organ ya da dokularda serbest radikallerin atakları sonucunda oluşan ve oksidatif hasarın oldukça yüksek zararlı etkileri olarak kabul edilen bir süreçtir (Shi vd. 2005). MDA, hücre membran

fosfolipidlerine ve dolaşımdaki lipidler üzerine oksidatif hasardan kaynaklanan lipid peroksidasyonu ürünlerinden biridir ve düzeyleri doğrudan kirleticiler tarafından indüklenen oksidatif hasarın derecesini gösterir (Banerjee vd. 1999). Sunulan çalışmada *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer dokularındaki MDA düzeyleri 21 günlük etki süresinde hem cıvanın doğrudan hem de cıva+selenyum karışımının yüksek ortam derişimlerinin etkisinde artış göstermiştir. MDA düzeyindeki bu artışların cıvanın doğrudan etkisinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Cıva ve cıva+selenyum karışımının yüksek ortam derişimlerinde 21 günlük süre sonunda MDA düzeyi solungaçta sırasıyla %121 ve %37; karaciğerde ise sırasıyla %51 ve %23 düzeylerinde bir artış göstermiştir. MDA düzeylerindeki artışlar cıvanın *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer dokularında lipid peroksidasyonuna yol açtığını göstermektedir. Karadag vd. (2014) *C. carpio*'da MDA düzeylerinin kirleticilerin neden olduğu oksidatif stresin bir sonucu olarak arttığını belirtmişlerdir. Yine El-Gazzar vd. (2014) de çalışma sonuçlarımıza benzer olarak kadmiyum etkisinde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda MDA düzeylerinin anlamlı olacak şekilde arttığını saptamışlardır. Araştırmacılar yüksek MDA düzeylerinin oksidatif hasara bağlı olarak oluşan lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olduğunu vurgulamışlardır.

Lipid peroksidasyonu ve MDA düzeylerinin ağır metaller ve pestisitler gibi toksikantlarla yapılan birçok çalışmada farklı balık türlerinde arttığı belirlenmiştir. Farklı sürelerle Cu + Cd + Fe + Ni karışımlarına bırakılan *C. punctata*'da solungaç dokusu MDA düzeylerinin metallerin etkisinde önemli düzeylerde arttığı saptanmıştır (Pandey vd. 2008). Monteiro vd. (2009) organofosfat insektisit metil-parathionun *B. cephalus* türü balıkların solungaç ve karaciğer dokularında lipid peroksidasyonuna neden olduğunu rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada da bakırın *C. gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve bağırsak dokularında lipid peroksidasyonuna neden olduğu belirlenmiştir (Hoyle vd. 2007). Yine *O. mykiss*'te kadmiyum ve kromun tek başına etkilerinde karaciğer MDA düzeyleri artış göstermiştir (Talas vd. 2008).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda antioksidan enzimler ve MDA akuatik canlılardaki oksidatif hasara neden olan kirleticilerin biyobelirteçleri olarak sıklıkla kullanılmaktadır (El-Gazzar vd. 2014, Karadag vd. 2014, Fridin vd. 2015). Oksidatif stres çalışmalarında MDA düzeyleri genel olarak antioksidan savunmaların etkinliğini değerlendirmek için ölçülmektedir. Çalışmamızda solungaç ve karaciğer dokusundaki

yüksek MDA düzeyleri cıvanın, belirgin bir oksidatif stresi indüklediğini göstermektedir. Yüksek MDA düzeylerinin antioksidan enzimlerdeki azalışla ilişkili olduğu öngörülmektedir. SOD ve CAT reaktif oksijen türlerinin oksidatif ataklarıyla oluşabilecek lipid peroksidasyonuna karşı hücreleri koruyan en önemli antioksidanlardır; çünkü, bunlar serbest radikal temizleyicileri olarak işlevseldirler. Bu nedenle çalışmamızda balıkların solungaç ve karaciğer dokularında azalan SOD ve CAT aktivitelerine bağlı olarak ROT'ların toksik etkilerinin nötralize edilemediği ve bunun sonucunda da lipid peroksidasyonunun arttığı düşünülmektedir. Ural (2013) balık dokularındaki lipid peroksidasyonunun toksikantlar tarafından oluşturulan oksijen radikallerinin antioksidan enzimler tarafından tamamen uzaklaştırılmamasının sonucu olduğunu ifade etmiştir. Talas vd. (2008) yaptıkları çalışmalarında ağır metallerin etkisinde balık dokularında SOD ve CAT aktivitesinin azaldığını ve metallerin antioksidan enzim aktivitelerini baskılanmasının bir sonucu olarak da MDA düzeylerinin arttığını belirtmişlerdir.

Sunulan araştırmada *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer dokularında saptanan artan veya azalan SOD ve CAT aktivitesiyle artan MDA düzeylerinin cıva+selenyum karışımına oranla cıvanın tek başına etkisinde daha fazla olmuştur. Çalışmamız cıvanın bu oksidatif stres parametreleri üzerine olan toksik etkilerinin selenyumun varlığında azaldığını ya da tamamen iyileştiğini göstermektedir. Önceki çalışmalarda da selenyumun cıvanın toksik etkilerini engellediği ve cıva toksisitesine karşı antogonistik bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Fridin vd. (2015) cıva ve cıva+selenyum karışımlarının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un beyin ve böbrek dokularında CAT aktivitesi ve MDA düzeylerinin cıvanın tek başına etkisinde daha fazla arttığını ve selenyumun cıvanın toksik etkilerini azalttığını saptamışlardır. Su vd. (2008) de ratlarla yaptıkları çalışmalarında cıva ve cıva+selenyum içeren diyetlerle beslenen hayvanlarda karaciğer ve böbrek dokularında cıvanın doğrudan etkisinde SOD aktivitesinin azaldığı MDA düzeylerinin ise arttığı; bununla birlikte, selenyum varlığında ise enzim aktivitesinin arttığı ve MDA düzeylerinin ise azaldığı rapor edilmiştir. Araştırmacılar cıva toksisitesi üzerine selenyumun antogonistik bir etkiye sahip olduğunu vurgulamışlardır. Yine başka metaller ile yapılan çalışmalarda da selenyumun koruyucu etkisi gösterilmiştir. Jihen vd. (2008) selenyumun ratlarda kadmiyumun oksidatif toksisitesi üzerine koruyucu rolünü rapor etmişlerdir. *O. mykiss*'te bir hafta süreyle 2 mg/L Cr ve

Cd'nin tek başlarına ve selenyumla birlikte etkisinde karaciğer SOD ve CAT aktivitelerindeki azalış ve MDA düzeylerinde ise artışın Cr+Se ve Cd+Se karışımlarının etkisine oranla metallerin tek tek etkilerinde daha fazla olduğu saptanmıştır (Talas vd. 2008). Araştırmacılar selenyumun ağır metallerin olumsuz etkilerin giderilmesinde kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Sonuç olarak sunulan çalışmada *O. niloticus*'un dokularındaki oksidatif stress parametrelerinin cıva toksisitesinden etkilendiği ve bu etkinin metalin düşük ortam derişimine oranla yüksek ortam derişimlerinde ve süreye bağılı olarak arttığı belirlenmiştir. Solungaç ve karaciğer dokularında cıvanın etkisinde azalan SOD ve CAT aktivitesi ve buna bağılı olarak artan MDA düzeyi *O. niloticus*'ta oksidatif stresin oluştuğunu göstermektedir. Bununla birlikte cıvanın selenyumla birlikte etkisinde antioksidan enzimler ve lipid peroksidasyonu üzerindeki cıva toksisitesinin azaldığı ya da tamamen engellendiği belirlenmiştir. Araştırmamız selenyumun cıva toksisitesi üzerine koruyucu bir rolü olduğunu göstermektedir. Selenyumun, balıklardaki cıva alnım düzeylerini azaltarak ya da metalin vücuttan atılım oranlarını artırarak dokulardaki cıva birikimini azaltarak, cıvaya bağlanarak Hg-Se kompleksi oluşturup cıvanın hareketsiz bir formda kalmasını sağlayarak ya da antioksidan aktivitesine bağılı olarak cıva toksisitesi üzerine antogonistik etki gösterdiği düşünülmektedir. Araştırmamız sucul organizmalardaki ağır metal toksisitesinin belirlenmesinde ve selenyumun bu toksisite üzerine olan koruyucu rolünün değerlendirilmesinde bir biyobelirteç olarak oksidatif stres parametrelerinin kullanılabileceğini de göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Abele, D., Vazquez-Medina, J.P. and Zenteno-Sav, T., (2012). Oxidative stress in aquatic ecosystems, First Edition, Blackwell Publishing Ltd.
- Ateşşahin, A., Yılmaz, S., Karahan, İ., Pirinçci, İ. and Taşdemir, B., (2005). The effects of vitamin E and selenium on cypermethrin-induced oxidative stress in rats, Turk. J. Vet. Anim. Sci., 29: 385-391.
- ATSDR, (2006). Agency for toxic substances and disease registry, CERCLA priority list of hazardous substances, Available at: <http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/05list.html>. Accessed October, 05, 2006.
- Authman, M.M.N., Zaki, M.S., Khallaf, E.A. and Abbas, H.H., (2015). Use of fish as bioindicator of the effects of heavy metals pollution, J. Aquac. Res. Development., 6: 328.
- Avci, A., Kac-Maz, M. and Durak, I., (2005). Peroxidation in muscle and liver tissues from fish in a contaminated river due to a petroleum refinery industry. Ecotoxicology and Environmental Safety, 60: 101-105.
- Bainy, A.C.D., Saito, E., Carvalho, P.S.M. and Junqueira, V.B.C., (1996). Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site, Aquat. Toxicol., 34: 151–62.
- Ballesteros, M.L., Wunderlin, D.A. and Bistoni, M.A., (2009). Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan, Ecotoxicol. Environ. Saf., 72: 199–205.
- Banerjee, B.D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S.T. and Chakraborty, A.K., (1999). Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers, Toxicol. Lett., 107: 33–47.
- Basha, P.S. and Rani, A.U., (2003). Cadmium-induced antioxidant defence mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia), Ecotoxicol. Environ. Safe., 56: 218–221.
- Bebianno, M.J., Company, R., Serafim, A., Cosson, R.P. and Fiala-Medoni, A., (2005). Antioxidant systems and lipid peroxidation in *Bathy modiolusazoricus* from Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent fields, Aquat. Toxicol., 75: 354–373.

- Beck, M.A., Levandert, O.A. and Handy, J., (2003). Selenium deficiency and viral infection, *J. Nutr.*, 133: 1463-1467.
- Berntssen, M. H.G., Aatland, A., and Handy, R.D., (2003). Chronic dietary mercury exposure causes oxidative stress, brain lesions, and altered behaviour in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr, *Aquatic Toxicology*, 65: 55-72.
- Bjerregaard, P., Andersen, B.W. and Rankin, J.C., (1999). Retention of methyl mercury and inorganic mercury in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (W): effect of dietary selenium, *Aquatic Toxicology*, 45: 171–180.
- Bjerregaard, P., Fjordside, S., Hansen, M.G. and Petrova, M.B., (2011). Dietary selenium reduces retention of methyl mercury in freshwater fish, *Environ. Sci. Tech.*, 45: 9793–9798.
- Black, F.J., Bruland, K.W. and Flegal, A.R., (2007). Competing ligand exchange solid phase extraction method for the determination of the complexation of dissolved inorganic mercury (II) in natural waters, *Anal. Chim. Acta*, 598: 318–333.
- Bollen, A., Wenke, A. and Biester, H., (2008). Mercury speciation analyses in HgCl₂ contaminated soils and groundwater implications for risks assessment and remediation strategies, *Water Res.*, 42: 91–100.
- Borkovic, S.S., Saponjic, J.S., Pavlovic, S.Z., Blagojevic, D.P. and Milosevic S.M., (2005). The activity of antioxidant defence enzymes in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Adriatic Sea, *Comp. Bioch. Physiol.*, 141C: 366-374.
- Cabanero, A.I., Madrid, Y. and Camara, C., (2004). Selenium and mercury bioaccessibility in fish samples: An *in vitro* digestion method, *Analytica Chimica Acta*, 526: 51–61.
- Carvalho, C.D.S., Bernusso, V.A., Araujo, H.S.S., Espindola, E.L.G. and Fernandes, M.N., (2012). Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*, *Chemosphere*, 89: 60–69
- Chien, L.C., Yeh, C.Y., Huang, S.Y., Shieh, M.J. and Han, B.C., (2003). Pharmacokinetic model of daily selenium intake from contaminated seafood in Taiwa,. *Sci. Total. Environ.*, 311: 57-64.
- Clarkson, T.W. and Marsh, D.O., (1982). Mercury toxicity in man, in Prasad, A.S. (ed.). *Clinical, biochemical, and nutritional aspects of trace elements*, New York, pages 549-568.

- Dantas, F.J.S., Moraes, M.O., Carvalho, E.F., Valsa, J.O., Filho, M. and Araujo, A., (1996). Lethality induced by stannous chloride on *Escherichia coli* AB 1157: participation of reactive oxygen species, *Food Chem. Toxicol.*, 34: 959–962.
- Dar, S.A., Yousuf, A.R., Balkhi, M.H., Ganai, F.A. and Bhat, F.A., (2015). Assessment of endosulfan induced genotoxicity and mutagenicity manifested by oxidative stress pathways in freshwater cyprinid fish crucian carp (*Carassius carassius* L.), *Chemosphere*, 120: 273–283.
- Dautremepuits, C., Paris-Palacios, S., Betoulle, S. and Vernet, G., (2004). Modulation in hepatic and head kidney parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) induced by copper and chitosan, *Comp. Biochem. Physiol.*, 137C: 325–333.
- Devlin, E.W., (2006). Acute toxicity, uptake and histopathology of aqueous methyl mercury to fathead minnow embryos, *Ecotoxicology*, 15: 97–110.
- Diez, S., (2008). Human health effects of methylmercury exposure, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 198: 113–132.
- Dimitrova, M.S.T., Tsanova, V. and Velcheva, V., (1994). Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase- catalase system in carp (*Cyprinus carpio*), *Comp. Biochem. Physiol.*, 108C:43–46.
- 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 tumidus*, *Aquatic Toxicology*, 39: 93–110.
- 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* L. larvae (Lepidoptera, Pyralidae), *Comp. Biochem. Physiol.*, 148C: 1–5.
- 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*, 36(4): 489– 499.
- El-Gazzar, A.M., Ashry, K.E. and El-Sayed, Y.S., (2014). Physiological and oxidative stress biomarkers in the freshwater Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., exposed to sublethal doses of cadmium, *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 40: 29–43.

- Fernandes, C., Fontainhas-Fernandes, A., Ferreira, M. and Salgado, M.A., (2008). Oxidative stress response in gill and liver of *Liza saliens*, from the Esmoriz-Paramos Coastal Lagoon Portugal, Arch. Environ. Con. Tox., 55: 262–269.
- Fırat, Ö. and Kargin, F., (2010). Effects of zinc and cadmium on erythrocyte antioxidant systems of a freshwater fish *Oreochromis niloticus*, Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 24(4): 223-229.
- Fırat, Ö., Cogun, H.Y., Yüzereroğlu, T.A., Gök, G., Fırat, Ö., Kargin, F. and Kötemen, Y., (2011). A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, Fish Physiology and Biochemistry, 37: 657-666.
- Firidin, G., Kargin, F., Fırat, Ö., Cogun, H.Y., Fırat, Ö., Firidin, B., Yüzereroğlu, T.A., (2015). Antioxidant defence systems, lipid peroxidation and acetylcholinesterase activity of *Oreochromis niloticus* exposed to mercury and mercury + selenium, Fresenius Environmental Bulletin, 24(5): 1958-1965.
- Frenzilli, G., Bocchetti, R., Pagliarecci, M., Nigro, M., Annarumma, F., Scarcelli, V., Fattorini, D. and Regoli, F., (2004). Time-course evaluation of ROS mediated toxicity in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, during a field translocation experiment, Mar. Environ. Res., 58: 609–613.
- Fridovich, I., (1989). Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas, J. Biol. Chem., 264: 7761–7764.
- Gammons, C., Slotton, D.G., Gerbrandt, B., Weight, W., Young, C.A., Mcneary, R.L., Camac, E., Calderon, R. and Tapia, H., (2006). Mercury concentrations of fish, river water, and sediment in the Rio Ramis-Lake Titicaca watershed, Peru, Sci. Total Environ., 368: 637–648.
- Girotti, A.W., (1998). Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems, J. Lipid Res., 39: 1529-1542.
- Gold-Bouchot, G., Zapta-Perez, O., Rodriguez-Fuentes, G., Ceja-Moreno, V., Rio-Garcia, M.D. and Chzan-Cocom, E., (2006). Biomarkers and pollutants in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in four lakes from San Miguel, Chiapa, Mexico, Int. J. Environ. Pollut., 26:130–141.
- Halliwell, B., Clement, M.V. and Long, L.H., (2000). Hydrogen peroxide in the human body, FEBS Letters, 486:10–13.

- Hansen, B.H, Romma, S., Softeland, L.I.R., Olsvik, P.A. and Andersen R.A., (2006). Induction and activity of oxidative stress-related proteins during waterborne Cu-exposure in brown trout (*Salmo trutta*), *Chemosphere*, 65: 1707–1714.
- Heinz, G.H. and Hoffman, D.J., (1998). Methylmercury chloride and selenomethionine interactions on health and reproduction in mallards, *Environ. Toxicol. Chem.*, 17: 139–145.
- 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.
- Hu, H., (2000). Exposure to metals, *Occup. Environ. Med.*, 27: 983–996.
- Huang, D.J., Zhang, Y.M., Song, G., Long, J., Liu, J.H. and Ji, W.H., (2007). Contaminants-induced oxidative damage on the carp *Cyprinus carpio* collected from the upper Yellow River, China, *Environ. Monit. Assess.*, 128: 483–488.
- Hunt, C., Sim, J.E., Sullivan, S.J., Featherstone, T., Golden, W., Kapp-Herr, C.V., Hock, R.A., Gomz, R.A., Parsian, A.J. and Spitz, D.R., (1998). Genomic instability and catalase gene amplification induced by chronic exposure to oxidative stress, *Cancer Res.*, 58: 3986–3992.
- Ji, Y., Lu, G.H., Wang, C. and Zhang, J., (2012). Biochemical responses of freshwater fish *Carassius auratus* to polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides, *Water Science and Engineering*, 5(2): 145-154.
- Jihen, E.H., Imed, M., Fatima, H. and Abdelhamid, K., (2009). Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver of the rat: Effects on the oxidative stress, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1559–1564.
- Kaneko, J.J. and Ralston, N.V.C., (2007). Selenium and mercury in pelagic fish in the Central North Pacific Near Hawaii, *Biol. Trace. Elem. Res.*, 119: 242–254.
- Karadag, H., Fırat, Ö. and Fırat, Ö., (2014). Use of oxidative stress biomarkers in *Cyprinus carpio* L. for the evaluation of water pollution in Ataturk Dam Lake (Adiyaman, Turkey), *Bull. Environ. Contam. Toxic.*, 92: 289-293.
- Kılınç, İ., Altıntaş, İ., Kaptanagası, M., Doğuç, D.K., Mollaoglu, H. and Kaleli, S., (2003). Investigation of the *in vivo* lipoperoxidative effect of chlorpyrifos-ethyl in plasma of rats and ameliorating effects of melatonin and the combination of

- vitamin C + vitamin E on this effect, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 10(2): 24 - 28.
- Kohen, R. and Nyska, A., (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification, Toxicol. Pathol., 30: 620–650.
- Kohrle, J., Jakob, F., Contempre, B. and Dumont, J.E., (2005). Selenium, the thyroid, and the endocrine system, Endocr. Rev., 26(7): 944–984.
- Kumar, O., Sugendran, K. and Vijayaraghavan, R., (2003). Oxidative stress associated hepatic and renal toxicity induced by ricin in mice, Toxicon, 41: 333–338.
- Lartillot, S., Kadziora, P. and Athios, A., (1988). Purification and characterization of new fungal catalase, Preparative Biochemistry, 18: 241-246.
- Li, Z.H., Zlabek, V., Velisek, J., Grabic, R., Machova, J. and Randak, T., (2010). Modulation of antioxidant defence system in brain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after chronic carbamazepine treatment, Comp. Biochem. Physiol., 151C: 137–141.
- Lima, A.P.S., Sarkis, J.E.S., Shihomatsu, H.M. and Muller, R.C.S., (2005). Mercury and selenium concentrations in fish samples from Cachoeira do Piria Municipality, ParaState, Brazil, Environmental Research, 97: 236–244.
- Livingstone, D.R., (1998). The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: Quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish, Comp. Biochem. Physiol., 120: 43–49.
- Lopez-Lopez, E., Sedeno-Diaz, J.E., Soto, C. and Favari, L., (2011). Responses of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and Na⁺/K⁺-ATPase in liver of the fish *Goodea atripinnis* exposed to Lake Yuriria water, Fish Physiol. Biochem., 37: 511–522.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., (1951). Protein measurements with the folin phenol reagent, The Journal of Biological Chemistry, 193: 265-275.
- Ma, J., Zhou, C., Li, Y. and Li, X., (2014). Biochemical responses to the toxicity of the biocide abamectin on the fresh water snail *Physa acuta*, Ecotoxicology and Environmental Safety, 101: 31–35.

- Mieiro, C.L., Ahmad, I., Pereira, M.E., Duarte, A.C. and Pacheco, M., (2010). Antioxidant system breakdown in brain of feral golden grey mullet (*Liza aurata*) as an effect of mercury exposure, *Ecotoxicology*, 19: 1034–1045.
- Miller, L.L., Wang, F., Palace, V.P. and Hontela, A., (2007). Effects of acute and subchronic exposures to waterborne selenite on the physiological stress response and oxidative stress indicators in juvenile rainbow trout, *Aquat. Toxicol.*, 83: 263–271.
- Min, E.Y. and Kang, J.C., (2008). Effect of waterborne benomyl on the hematological and antioxidant parameters of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 92: 138–143.
- 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* (Gunther, 1869) exposed to organophosphate insecticide Folisuper 600 BR- (methyl parathion), *Comp. Biochem. Physiol. C.*, 149: 40–49.
- Monteiro, D.A., Rantin, F.T. and Kalinin A.L., (2010). Inorganic mercury exposure: toxicological effects, oxidative stress biomarkers and bioaccumulation in the tropical freshwater fish matrinxa, *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829), *Ecotoxicology*, 19: 105–123.
- Morales, A.E., Perez-Jimenez, A., Hidalgo, M.C., Abellan, E. and Gabriel, C.G., (2004). Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver, *Comp. Biochem. Physiol.*, 139C: 153–161.
- Muscatello, J.R. and Janz, D.M., (2009). Selenium accumulation in aquatic biota downstream of a uranium mining and milling operation, *Sci. Total Environ.*, 407: 1318–1325.
- Nogueira, C.W., Quinhones, E.B., Jung, E.A.C., Zeni, G. and Rocha, J.B.T., (2003). Anti-inflammatory and antinociceptive activity of biphenyl diselenide, *Inflam. Res.*, 52: 56–63.
- NRC (National Research Council), (2005). Selenium: Mineral tolerance of animals, Committee on minerals and toxic substances, National Academies Press, Washington, DC, USA.

- Oliveira, M., Pacheco, M. and Santos, M.A., (2008). Organ specific antioxidant responses in golden grey mullet (*Liza aurata*) following a short-term exposure to phenanthrene, *Science of the Total Environment*, 396: 70-78.
- Oliveira Ribeiro, C.A., Gumaraes, J.R.D. and Pfeiffer, C., (1996). Accumulation and distribution of inorganic mercury in a tropical fish (*Trichomycterus zonatus*), *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 34: 190–195.
- 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* (Bl . and Schn.), *Sci . Tot. Environ.*, 309: 105–115.
- Pandey, S., Parvez, S., Ansari, R.A., Ali, M., Kaur, M., Hayat, F., Ahmad, F. and Raisuddin, S., (2008). Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa Punctata* Bloch, *Chemico-Biological Interactions*, 174: 183-192.
- Paris-Palacios, S., Biagianti-Risbourg, S. and Vernet, G., (2000). Biochemical and (ultra)structural hepatic perturbations of *Brachydanio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) exposed to two sublethal concentrations of copper sulphate, *Aquat. Toxicol.*, 50:109–124.
- Pathiratne, A., Chandrasekera, L.W.H.U. and Pathiratne, K.A.S., (2009). Use of biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to assess the impacts of pollution in Bolgoda Lake, an urban water body in Sri Lanka, *Environ. Monit. Assess.*, 156: 361–375.
- Perottoni, J., Lobato, L.P., Silveira, A., Rocha, J.B.T. and Emanuelli, T., (2004). Effects of mercury and selenite on d-aminolevulinatase activity and on selected oxidative stress parameters in rats, *Environ. Res.*, 95: 166–173.
- Plessi, M., Bertelli, D. and Monzani, A., (2001). Mercury and selenium content in selected seafood, *J. Food Comp. Anal.*, 14: 461-467.
- Rai, D.K. and Sharma, B., (2007) Carbofuran–induced oxidative stress in mammalian brain, *Molecular Biotechnology*, 37: 66–71.
- Ralston, N.V. and Raymond, L.J., (2010). Dietary selenium’s protective effects against methylmercury toxicity, *Toxicol*, 278: 112–23.
- Rayman, M., (2000). The importance of selenium to human health, *Lancet* 356: 233–241.

- Reddy, P. and Sreenivasula, G., (1997). Modulations in antioxidant enzymes in the gill and hepatopancreas of the edible crab *Scylla serrata* during exposure to cadmium and copper, *Fresen. Environ. Bull.*, 6: 589–597.
- Regoli, F. and Principato, G., (1995). Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metal under field and laboratory conditions: Implications for the use of biochemical biomarkers, *Aquatic Toxicol.*, 31: 143–164
- Shi, H., Sui, Y., Wang, X., Luo, Y. and Ji, L., (2005). Hydroxyl radical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus*, *Comp. Biochem. Physiol.*, 140C: 115–121.
- Sieja, K. and Talerzyk, M., (2004). Selenium as an element in the treatment of ovarian cancer in women receiving chemotherapy, *Gynecol. Oncol.*, 93: 320–327.
- Soares, S.S., Martins, H., Gutierrez-Merino, C. and Aureliano, M., (2008). Vanadium and cadmium *in vivo* effects in teleost cardiac muscle: Metal accumulation and oxidative stress markers, *Comp. Biochem. Physiol.*, 147C: 168–178.
- Stohs, S.J. and Bagchi, D., (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metals ions, *Free Radical Biology and Medicine*, 2: 321–336.
- Su, L., Wang, M., Yin, S., Wang, H., Chen, L., Sun, L. and Ruan, D., (2008). The interaction of selenium and mercury in the accumulations and oxidative stress of rat tissues, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70: 483–489.
- Sun, Y., Oberley, L.W. and Li, Y., (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clin. Chem.*, 34: 497–500.
- Sureda, A., Batle, J.M., Tauler, P., Cases, N., Aguilo, A., Tur, J.A. and Pons, A., (2004). Neutrophil tolerance to oxidative stress induced by hypoxia/reoxygenation, *Free Radic. Res.*, 38: 1003–1009.
- Sureda, A., Box, A., Enseñat, M., Alou, E., Tauler, P., Deudero, S. and Pons, A., (2006). Enzymatic antioxidant response of a labrid fish (*Coris julis*) liver to environmental caulerpene, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 144C: 191–196.

- Talas, Z.S., Orun, I., Ozdemir, I., Erdoğan, K., Alkan, A. and Yılmaz, I., (2008). Antioxidative role of selenium against the toxic effect of heavy metals (Cd^{+2} , Cr^{+3}) on liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792), Fish Physiol. Biochem., 34: 217-222.
- Tchounwou, P.B., Ayensu W.K., Ninashvili, N. and Sutton, D., (2003). Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health, Environ. Toxicol., 18: 149–75.
- Ural, M.Ş., (2013). Chlorpyrifos-induced changes in oxidant/antioxidant status and haematological parameters of *Cyprinus carpio carpio*: Ameliorative effect of lycopene, Chemosphere, 90: 2059–2064.
- Valko, M., Morris, H. and Cronin, M.T.D., (2005). Metals, toxicity and oxidative stress, Current Medicinal Chemistry, 12: 1161-1208.
- Van Der Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N.P.E., (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review, Environ. Toxicol. Pharm., 13: 57–149.
- Van Dyk, J.C., Pieterse, G.M., and Van Vuren, J.H.J., (2007). Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc, Ecotoxicol. Environ. Saf., 66: 432–440.
- Verlecar, X.N., Jena, K.B. and Chainy, G.B.N., (2008). Modulation of antioxidant defenses in digestive gland of *Perna viridis* (L.), on mercury exposure, Chemosphere, 71: 1977–1985.
- Verma, R.S., Mehta, A. and Srivastava, N., (2007). *In vivo* chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins, Pestic. Biochem. Physiol., 88: 191–196.
- Winston, G.W. and Di Giulio, R.T., (1991). Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms, Aquatic Toxicology, 19: 137–161.
- Yonar, M.E. and Sakin, F., (2011). Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in *Cyprinus carpio* during pyrethroid deltamethrin exposure, Pestic. Biochem. Physiol., 99: 226–231.
- Zaki, M.S., Authman, M.M.N., Hammam, A.M.M. and Shalaby, S.I., (2014). Aquatic environmental pollution in the Egyptian countryside and its effect on fish production (review), Life Sci. J., 11: 1024-1029.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Özlem KAYA
Doğum Yeri : ADIYAMAN
Doğum Tarihi : 09.07.1985
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Atatürk Lisesi Lisesi – 2002

Lisans : Adıyaman Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji
Bölümü – 2013

Yüksek Lisans : Adıyaman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü - 2016

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

-

Yayınları (SCI ve diğer)

- Ö. Fırat, Ö. Fırat, R. Tutuş, H. Karadağ, **Ö. Koç**, R.C. Bozat. Adıyaman'ın Güncel Çevre Sorunları. Adıyaman Üniversitesi Bilim, Kültür ve Sanat Sempozyumu-II, 02-03 Nisan 2015, Adıyaman.

EK-1. Etik Kurul Kararı

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

Toplantı Sayısı	Toplantı Tarihi	Toplantı Yeri	Oturum Başkanı
6	29.09.2014	Ç.Ü.T.F.-DETAUM	Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK

KARAR NO 5- Adıyaman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç.Dr.Özgür FIRAT'ın sorumlu araştırmacı olarak yürütmesi öngörülen, "CİVA TOKSİSİTESİ ÜZERİNE SELENYUMUN KORUYUCU ROLÜNÜN OREOCHROMIS NILOTICUS'UN SOLUNGAÇ VE KARACİĞER DOKULARINDAKİ OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ" başlıklı proje, araştırma etiği yönünden değerlendirildi; toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

BAŞKAN Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK
Araştırmacı Uzman Üye
Farmakoloji A.B.D. Öğretim Üyesi

ÜYELER Doç. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU
Veteriner Hekim
ÇÜTF-DETAUM Müdürü

Prof. Dr. Fatih KÖKSAL
Araştırmacı Uzman Üye
Mikrobiyoloji A.B.D. Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Mustafa EMRE
Araştırmacı Uzman Üye
Biyofizik A.B.D. Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Gülşah SEYDAOĞLU
Araştırmacı Uzman Üye
Biyoistatistik A.B.D. Öğretim Üyesi

Doç. Dr. Selim KADIOĞLU
Tıp Etiği Uzmanı Üye
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.B.D. Öğretim Üyesi

Doç. Dr. Bertan YILMAZ
Araştırmacı Uzman Üye
Tıbbi Biyoloji A.B.D. Öğretim Üyesi

Av. Mehmet Ali AKGÜL
Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi
[Meslek Dışı ve Kurum Dışı Üye]

Sezgin KERTMEN
Sivil Üye
[Meslek Dışı ve Kurum Dışı Üye]