

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

**ZEBRA MİDYESİ (*Dreissena polymorpha*)'NİN
KADMİYUMA KARŞI BAZI BİYOKİMYASAL YANITLARI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
AHMET BEDRETTİN ALİŞER**

Anabilim Dalı: Su Ürünleri

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Rahmi AYDIN**

**II. DANIŞMAN
Arş. Gör. Dr. Osman SERDAR**

TUNCELİ – 2020

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

ZEBRA MİDYESİ (*Dreissena polymorpha*)’NİN
KADMİYUMA KARŞI BAZI BİYOKİMYASAL YANITLARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
AHMET BEDRETTİN ALİŞER
172106101

Anabilim Dalı: Su Ürünleri

DANIŞMAN
Prof. Dr. Rahmi AYDIN

II. DANIŞMAN
Arş. Gör. Dr. Osman SERDAR

TUNCELİ – 2020

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**ZEBRA MİDYESİ (*Dreissena polymorpha*)'NİN
KADMIYUMA KARŞI BAZI BİYOKİMYASAL YANITLARI**

Ahmet Bedrettin ALİŞER
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 04/02/2020 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği/oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

İmza:.....

İmza:.....

Prof. Dr. Rahmi AYDIN
(Munzur Üniversitesi)

Doç. Dr. Fahrettin YÜKSEL
(Munzur Üniversitesi)

Prof. Dr. Erkan CAN
(İzmir Katip Çelebi
Üniversitesi)

DANIŞMAN

ÜYE

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Olcay KAPLAN İNCE
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLMUB018-14

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”ndaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Bu çalışmada, kadmiyum (Cd)'un farklı konsantrasyonlarına 96 saat süreyle maruz bırakılan zebra midyesi (*Dreissena polymorpha*)'nde biyokimyasal yanıtının araştırılması amaçlanmıştır.

D. polymorpha organizmaları Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği (SKKY)'de su kalite sınıflarında bulunabilirlik oranlarıda göz önüne alınarak biri kontrol (0,00) 10µg/L Cd, 20 µg/L Cd ve 40 µg/L Cd olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur. Kontrol grubu dahil 4 grupta süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), Glutasyon Reduktaz (GPx) enzim aktivitelerindeki değişimler ile TBARS ve GSH seviyeleri ELISA kitleri kullanılarak belirlenmiştir.

D. polymorpha'nın SOD enzim aktivitesinde 24. saat uygulamasına bağlı olarak her üç konsantrasyonda da istatistiksel olarak önemli düzeyde azalma olmuştur ($p<0.05$). CAT enzim aktivitesi ise; tüm uygulama konsantrasyonunda anlamlı derecede değişiklik olmamıştır ($p>0.05$). GPx enzim aktivitesinde ise; Cd uygulaması sonrası kontrole kıyasla önemli bir artış bulunmuştur ($p<0.05$). TBARS ve GSH seviyelerinde hem 24. saat hemde 96. saatte kontrole kıyasla tüm Cd uygulama gruplarında önemli düzeyde artış olmuştur.

Cd'a karşı *D. polymorpha*'da SOD, CAT, GPx enzim aktiviteleri ile TBARS ve GSH seviyelerinde meydana gelen değişikliklere bakıldığında söz konusu biyokimyasal yanıtların alındığı parametrelerin biyobelirteç olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Dreissena polymorpha*, Kadmiyum, Antioksidan, Oksidatif stres, Biyobelirteç

ABSTRACT

Some Biochemical Responses Against Cadmium of Zebra Mussels (*Dreissena polymorpha*)

The aim of this study was to investigate the biochemical response of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*), which was exposed to different concentrations of cadmium (Cd) for 96 hours.

D. polymorpha organisms Water Pollution Control Regulation (SKKY), taking into consideration the availability rates in water quality classes, one control (0.00) 10 µg / L Cd, 20 µg / L Cd and 40 µg / L Cd groups were formed. In 4 groups including control group, changes in enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), Glutathione Reductase (GPx) and TBARS and GSH levels were determined by using ELISA kits.

There was a statistically significant decrease in all three concentrations of *D. polymorpha* due to the application of SOD enzyme activity at 24 hours ($p < 0.05$). CAT enzyme activity; there was no significant change in the overall application concentration ($p > 0.05$). In GPx enzyme activity; A significant increase was found after Cd administration compared to control ($p < 0.05$). TBARS and GSH levels were significantly increased in all Cd administration groups at 24 and 96 hours compared to control.

When the changes in SOD, CAT, GPx enzyme activities and TBARS and GSH levels in Cd *D. polymorpha* were evaluated, it was concluded that these biochemical responses could be used as biomarkers.

Keywords: *Dreissena polymorpha*, Cadmium, Antioxidant, Oxidative stress, Biomarker

TEŞEKKÜRLER

Yüksek Lisans tez çalışmamın hazırlanmasında ve yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Rahmi AYDIN'a, ikinci danışmanlığımı üstlenen hocam Dr. Osman SERDAR'a araştırmanın yapılabilmesi için gerekli altyapıyı sunan Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığına ve öğretim elemanlarına, çalışmayı maddi yönden destekleyen Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine teşekkür ederim.

Çalışma hayatım boyunca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim tüm aile fertlerime sonsuz şükranlarımı sunarım.

Ahmet Bedrettin ALİŞER

Tunceli - 2020

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza
Ahmet Bedrettin ALİŞER

ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜRLER	IV
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
RESİMLER LİSTESİ.....	IX
KISALTMALAR.....	X
SEMBOLLER LİSTESİ	XII
1. GİRİŞ	1
1.1. Su	2
1.2. Su Kirliliği	2
1.3. Sanayi Ağır Metal Kirliliği	2
1.4. Kadmiyum (Cd) kirliliği	3
1.5. Oksidatif Stres.....	4
1.6. Biyoindikatörler	5
1.7. Sucul Canlılarda Kirlilik ve Midyeler.....	5
1.8. Antioksidanlar.....	7
2. MATERYAL VE METOT.....	11
2.1. Materyal	11
2.1.1. Test Organizması (<i>D. polymorpha</i>).....	11
2.1.2. <i>D. polymorpha</i> 'ların Laboratuvar Koşullarına Adaptasyonu.....	11
2.2. Metot	12
2.2.1. Konsantrasyon Uygulamaları.....	12
2.2.2. Diseksiyon İşlemleri ve Süpernatantların Hazırlanması	13
2.2.3. Biyokimyasal Yanıtın Belirlenmesi	13
2.2.3.1. SOD Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	13
2.2.3.2. CAT Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	14
2.2.3.3. GPx Aktivitesinin Belirlenmesi	14
2.2.3.4. TBARS Seviyesinin Belirlenmesi	14
2.2.3.5. GSH Seviyesinin Belirlenmesi.....	14
2.3. İstatistiksel Analizler.....	15
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	16
3.1. Meristik Bulgular	16
3.2. Biyokimyasal Bulgular	16
3.2.1. SOD Enzim Aktivitesi.....	16
3.2.2. CAT Enzim Aktivitesi.....	17
3.2.3. GPx Enzim Aktivitesi.....	17
3.2.4. TBARS Seviyesi	18
3.2.5. GSH Seviyesi	19
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	25
KAYNAKLAR.....	27
ÖZGEÇMİŞ.....	34

SEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 3.1. Cd'un <i>D. polymorpha</i> 'da SOD enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	16
Şekil 3.2. Cd'un <i>D. polymorpha</i> 'da CAT enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	17
Şekil 3.3. Cd'un <i>D. polymorpha</i> 'da GPx enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	18
Şekil 3.4. Cd'un <i>D. polymorpha</i> 'da TBARS seviyeleri	18
Şekil 3.5. Cd'un <i>D. polymorpha</i> 'da GSH seviyeleri	19



TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Midyeler ve bazı sucul organizmalarda yapılmış ağır metal toksisitesi üzerine çalışmalar.....	9
--	---



Resim 2.1. Stok <i>D. polymorpha</i> akvaryumları	12
--	----



KISALTMALAR

ACh	:Asetilkolin
AChE	:Asetilkolinesteraz
CAT	:Katalaz
DNA	:Deoksiribonükleikasit
FMO	:Flavin monooksijenaz
GSH	:Glutasyon
GSH-Px	:Glutasyon peroksidaz
GST	:Glutasyon S-transferaz
LPO	:Lipid peroksidasyonu
OP	:Organofosfat
SOD	:Süperoksit dismutaz
AChE	:Asetilkolinesteraz
As	:Arsenik
ATP	:Adenozin trifosfat
CAT	:Katalaz
Cd	:Kadmiyum
Cr	:Krom
Cu	:Bakır
DNA	:Deoksiribonükleikasit
EDTA	:Etilendiamintetraasetikasit
Fe	:Demir
G6PD	:Glukoz 6 fosfataz dehidrojenaz
GR	:Glutasyon redüktaz
GSH	:Redükte glutasyon
GPx	:Glutasyon peroksidaz
GSSG	:Okside glutasyon
GST	:Glutasyon -S- transferaz
Hg	:Civa
KCl	:Potasyum klorür
LDH	:Laktat dehidrojenaz
MDA	:Malondialdehit
MT	:Metallotionin

NADPH	:Nikotinamidadenindinükleotidfosfat
Pb	:Kurşun
ROS	:Reaktif oksijen türleri
SOD	:Süperoksit dismutaz
TBA	:2-Thiobarbituric acid
TCA	:Trikloroasetik asit



SEMBOLLER LİSTESİ

Na_2CO_3	:Sodyum karbonat
NaCl	:Sodyum klorür
$\text{O}_2^\cdot$	:Süperoksit Radikali
$^1\text{O}_2$	:Singlet Oksijen
$\text{HO}^\cdot$	:Hidroksil Radikali
H_2O_2	:Hidrojen peroksit
KH_2PO_4	:Potasyum dihidrojenfosfat
Na_2HPO_4	:Sodyum fosfat
HClO_4	:Perklorik asit
HNO_3	:Nitrik asit
Na_2CO_3	:Sodyum karbonat
H_2O_2	:Hidrojen peroksit
KH_2PO_4	:Potasyum dihidrojenfosfat
Na_2HPO_4	:Disodyum hidrojen fosfat
NaNH_3	:Sodyum Azide
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	:Amonyum Sülfat

1. GİRİŞ

Dünyamıza uzaydan bakıldığında yeryüzünün yaklaşık olarak % 75'lik kısmını katı ve sıvı haldeki su kütesinden oluşturduğu görülmektedir. Görülen bu suyun yaklaşık olarak % 96,5'lik kısmı okyanuslarda, geri kalan kısmı kutuplarda, göllerde, akarsularda ve yer altında bulunmaktadır. Gezegenimizdeki sular sürekli bir döngü halinde olduğundan sabit kalmazlar, sürekli bir formdan başka bir forma dönüşme halindedir. Bu dönüşümler yeryüzündeki iklimsel değişimlere de sebep olmaktadır. Su yaşamın temel bileşenidir. Suya ihtiyaç duymayan hiçbir canlı türü yoktur. Çöllerde yaşayan canlılar bile atmosferdeki ya da topraktaki mevcut çok az miktarlardaki suyu kullanmaktadırlar. Bu kadar hayati bir öneme sahip olan su kaynaklarımızı maalesef gereği gibi kullanmıyoruz. Su kaynaklarımızın büyük bir kısmını tarım ve hayvancılıkta kullanılan kimyasal maddeler ve evsel atıklar ile kirletiyoruz. Bütün bu kirlenmelere ilave olarak mevcut su kaynaklarımızın plansız ve aşırı kullanılması sonucu tatlı su ekosistemlerimizin büyük bir çoğunluğu bozulmuş durumdadır. Buna bağlı olarak su kaynaklarının iyi yönetimi ve sürdürülebilirliği çağımızın en önemli sorunları arasında yer almaktadır. Bu nedenle mevcut su kaynaklarımızın üzerindeki risklerin ortaya konulması ve gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir. Son yıllarda dünya genelinde artan nüfusun besin ihtiyacını karşılamak için tarım ve hayvancılıkta verimi artırmak amacıyla pestisit ve insektisit kullanımı aşırı derecede artmış durumdadır. Tarım ve hayvancılıkta kullanılan bu kimyasal maddeler hedef organizmaların dışında kalan ve hedef olmayan organizmalara da çok zarar vermektedir. Söz konusu bu zirai ilaçlar yüzey suları ve yer altı sularına karışarak ekosistemi bozmakta ve içinde yaşayan organizmaları etkileyerek ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle tarım ve hayvancılıkta kullanılan kimyasal maddelerin kontrollü kullanılması, kimyasal mücadele yerine biyolojik mücadele yollarının seçilmesi hem çevre hem de insan sağlığı bakımından oldukça önemli ve gerekli bir durumdur. Çünkü Birleşmiş Milletler verilerine göre her 9 kişiden biri temiz su kaynağına ulaşamıyor. Buna ilaveten yeryüzündeki su kaynakları her geçen gün biraz daha kirleniyor ve insan yararına kullanımından biraz daha uzaklaşıyor. Bu nedenle mevcut su kaynaklarımızın ekonomik, çevresel ve sosyal faydaları bakımından en verimli bir şekilde değerlendirilmesinin sağlanması gerekmektedir. Bu amaçla su kaynaklarının mevcut

yasalar çerçevesinde kontrol altına alınması ve toplumun bu konuda bilinçlendirilmesi çok büyük bir önem arz etmektedir.

1.1. Su

Su yeryüzündeki canlılar için hayati öneme sahip bir elementtir. Toplumların gelişmişlik seviyeleri ve yaşam kalitelerinin belirlenmesi, canlılığın sürdürülebilirliği için en önemli doğal kaynaktır (Tokatlı, 2012).

1.2. Su Kirliliği

Sucul alanların içerisinde çok sayıda tür yaşamsal faaliyetlerini sürdürmekte, bu türlerin birçoğunu besin olarak kullandığımızdan sularda olabilecek kirlilikler, besin zinciri ve ekolojik dengeyi etkiler. Su kirliliğinin, sucul alan ve çevresinde bulunan canlıları doğrudan etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle kirliliklerin çevrenin yaşam standartlarında oluşturduğu düşüşü anlayabilmek için biyoindikatörler den faydalanılmaktadır. (Kazancı ve ark., 1997).

Tarım ilaçları, yapay gübreler, deterjanlar, gemi taşımacılığı, petrol ve türevleri, evsel ve endüstriyel atıklar vb. hiçbir ön arıtma işlemi yapılmadan doğrudan denizel ortama verilmekte ve ekosistemin bozulmasına sebep olmaktadır. Toksik kirleticiler su ortamlarına çoğunlukla endüstriyel kaynaklardan ulaşmakta bununla beraber atmosferin de kaynak olabileceği ortaya konulmuştur (Hornbuckle ve ark., 1993).

Kirlilikten ötürü denizlerdeki ekolojik dengenin bozulması nedeniyle denizel organizmaların sayısında azalmalar gözlenirken, insanlar tarafından doğrudan beslenmek için tüketilen türler (balık, molluska, krustase) ile insan sağlığını riske sokmaktadır. (Grimanis ve ark., 1982; Kocataş ve Geldiay, 1979; Uysal ve Tuncer, 1982).

1.3. Sanayi Ağır Metal Kirliliği

Ağır metal, yoğunluğu 5 g/cm³ 'ten yüksek, düşük konsantrasyonlarda bile toksik etkiler gösterebilen metaller ve metaloidler için kullanılan terimdir (Jarup, 2003).

Bakır, çinko, demir gibi bu tanıma uyan ağır metaller canlıların bazı yaşamsal faaliyetlerinin devamlılığı için gerekli fonksiyonlara sahip olup esansiyel metaller adıyla

adlandırılırlar. Kadmiyum, kurşun, civa gibi ağır metaller canlılar için hiçbir fonksiyonu bulunmamasına karşı düşük konsantrasyonlarda dahi toksik olabilirler, non-esansiyel metaller adıyla adlandırılırlar. Esansiyel metallerin de belirli dozların üzerinde toksik olabileceği bilinmektedir. (Jarup, 2003; Özbolat ve Tuli, 2016; Ergönül ve Atasagun, 2017).

Özellikle endüstriyel atıklarda olan ve su kirliliği yapan en önemli inorganik kirleticiler olan ağır metaller, boşaltıldıkları ortamda uzun zaman kalmaları , sucul canlılarda toksik etkilere neden olmaları ve besin zinciriyle insanlara ulaşp sağlığını tehlikeye sokmaları için çok önemlidirler. (Wildi ve ark., 2004; Köse, 2007; Tokatlı, 2012).

Sucul ortamlarda ağır metaller ekosistem sağlığını bozan büyük stres kaynaklarından biridir ve suda yaşayan canlılar için tehlike oluşturmaktadır. (Del Valls ve ark., 1998; Türkoğlu, 2008; Tokatlı, 2012).

1.4. Kadmiyum (Cd) Kirliliği

Ağır metal kirleticilerinden olan kadmiyum (Cd) düşük konsantrasyonlarda dahi toksik etkiye sahip ve zararlıdır (Katalay ve Parlak, 2002; Asri ve ark., 2007).

Kadmiyum su ile buluştuğunda en yüksek çözünürlüğe sahip ağır metaldir. Yüksek çözünürlükten ötürü yayılım hızı oldukça yüksektir. Canlıların yaşamı için bir gerekliliği de bulunmamaktadır. Cd²⁺ hali canlılar tarafından biyolojik sistemlere alınır ve birikir (Duffus, 1981).

Cd, metalloenzimlerdeki çinko (Zn), kalsiyum (Ca), bakır (Cu) ve demir (Fe)'in yerine geçerek bu metallerin bağlı olmayan türlerini artırır; glutatyon ve benzeri serbest radikal süpürücüler tiyol gruplarına bağlanarak, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzim faaliyetlerini engel olur. Fenton metalik olmamasına rağmen, süperoksit ve nitrik oksit gibi serbest radikallerin üretimini sağlar ve hücre membranındaki bileşenlerin peroksidasyonuna, DNA bozunması ve protein oksidasyonuna neden olabileceği tahmin edilmektedir. Mitokondri membranındaki sorunlar, kadmiyumun mitokondriden hücrelere geçişine neden olur (Brzóska ve Moniuszko-Jakoniuk, 2001; Waisberg ve ark., 2003; Bertin ve Averbek 2006; Göktaş, 2007).

Kadmiyum elle şekillendirilebilen ve levha haline getirilebilen gümüşü beyaz bir metaldir. Kadmiyum, ağır metallerin çoğunluğuyla alaşım oluşturmak için birleşir.

Çevrede yarı ömrü 10-25 yıl arasında değişir. Kadmiyum doğada Cd S halinde, çinko filizi ile birlikte bulunur. Metalik kadmiyum korezyona dayanıklı olduğundan dolayı geniş kullanma alanı bulmaktadır. Alaşımlarda, kadmiyum kaplamada, kadmiyum buharlı lambalarda, boya maddeleri yapımında, cam boyanmasında, cila yapımı gibi yerlerde, lehim ve elektrik alanlarında, pigmentlerde, plastik, çöp, pestisit, galvanize demir gibi yerlerde kullanılır (Güley ve Kural, 1978). Kadmiyuma maruziyet genel olarak hava, su ve yiyecektir. İnsanların kadmiyuma maruziyeti ise büyük çoğunlukla, sindirim (yeme) ve solunum yoluyla olmaktadır. (Fleischer, 1974). Bu maruziyetinin en büyük kaynaklarından biri tütün sigarasıdır. Her sigara yaklaşık olarak 1,5 - 2,0 mg kadar kadmiyum içerir. Suyla taşınan kadmiyum büyük problemler oluşturabilir. Kadmiyum su ortamında çok yaygındır. Yiyecek tüketimi, insanlar ve hayvanlar tarafından kadmiyuma maruziyette büyük kaynak oluşturmada rol oynar. Çünkü suda yaşayan organizmalar kadmiyumun yüksek miktarlarını önemli oranda biriktirirler (Guthrie and Pery, 1980). Kadmiyumun küçük miktarları toksiktir. Ortalama çilebilir su yaklaşık 10 ppb kadmiyum içerir. Ortalama 2-3 L su tüketildiğinde günde yaklaşık 20-30 mg kadmiyum alınır (Friberg, 1974). Günlük yiyecekten alınan kadmiyum ise tahminen 35-90 mg dır. Ağız yoluyla kadmiyum zehirlenmesi; şiddetli gastrit, bulantı, kusma, diyare ve metalik lezzet hissi ile başlar. Kronik zehirlenme ise hiperkronik anemi, büyümenin durması eklinde kendini gösterir (Güley ve Kural, 1978). Ayrıca kadmiyum hipertansiyon, kemik iliği iltihabı gibi toksik etkilere neden olmaktadır (Haris and Fobris, 1979).

1.5. Oksidatif Stres

Oksidanlar ve antioksidanlar arasında bulunan dengenin oksidan lehine artması şeklinde tanımlanabilir. Aerobik canlılarla beraber oksijen kaynaklı radikaller oluşmuş ve oksidatif hasara karşı bu canlıların tamamında antioksidan savunma sistemleri oluşmuştur. Oksidatif stres, serbest radikal düzeyleri ile antioksidanlar arasında dengeler bozulduğunda oluşmaktadır. Antioksidanlar zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonlarının engellenmesine neden olmakla birlikte antioksidanların lipitleri, proteinleri, nükleik asitleri ve diğer bazı makromolekülleri koruma etkisinin varlığı bilinmektedir. Antioksidanlar arasında glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimlerle metal iyonlarını bağlayan proteinlerde bulunmaktadır.

Oksidatif strese sebep olan serbest oksijen radikalleri ,en az bir eşleşmemiş elektrona sahip, moleküler ağırlığı düşük, kısa süre yaşayan, kararsız, etkin, aktif ara bileşiklerdir (Abdollahi ve ark., 2003).

Moleküler oksijen, hücre içerisine çok rahat girebilir ve hücrede çok fazla kullanılır. Aerobik canlılarda serbest radikaller için oksijen en önemli kaynaktır, oksijen türevlerinden başka karbon, kükürt içerikli radikaller de bulunmaktadır. Metal katalizörlü reaksiyonların sonucunda, UV, X-ray ve gamma-ray ışınlarının radyasyonu esnasında, atmosferde mevcut bulunan kirletici maddelerle, enfeksiyon anında nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilerek, mitokondri-katalizli elektron taşıma zinciri reaksiyonları olarak meydana gelmektedir (Cadenas, 1989).

1.6. Biyoindikatörler

Çevre kirliliği içinde önemli rol al alan ağır metal gibi toksik maddeler sebebiyle birçok canlı olumsuz yönde etkilenmiş sağlıkları tehdit edilmeye başlamıştır. Günümüzde biyoindikatör canlılarla biyoizleme çalışmaları yapmak yaygınlaşmıştır. Bu çalışmalar toksik maddeleri bünyelerine alan biyoindikatör canlılar üzerinde yapılmaktadır. Çevresel şartların bozulmasıyla ekosistemde oluşan etkiler tüm canlılar için tehlikeli olabilme ihtimali bulundurmaktadır. Canlı organizmalar doğası gereği bu olaylar karşısında etki-tepki verir ve bu sayede biyolojik yöntemler ortaya çıkmıştır böylece çevre kalitesini belirleme ve izleme imkânı bulunmuştur. Biyoindikatör canlılar, yaşamsal fonksiyonlarını değiştirerek veya toksik maddeleri bünyelerinde biriktirerek çevre kirliliğini gösteren canlılardır. Belirli bir türün etkileşimi genel olarak ekosistemin tamamının etkileşimini göstermektedir. Biyoindikatör tür olarak çok çeşitli canlı grupları kullanılabilmektedir (Kazancı ve Girgin, 1997).

1.7. Sucul Canlılarda Kirlilik ve Midyeler

Nüfusun hızla artması sonucu insanlar dengeli beslenmek için hayvansal proteini karşılamada ve içerdiği vitamin ve minerallerle, hem ucuz hem de besleyici özelliği olan su ürünlerini tercih etmeye başlamışlardır. Su ürünleri içeriklerindeki A ve D vitaminleri ile minareller açısından çok zengin olduğundan çocuk ve bebek gelişmesinde son derece önemli bir yeri vardır. İnsanlarında aktif olarak tükettikleri yumuşakça su ürünlerinden

olan midyeler, içerdği protein, yağ, karbonhidrat (glikojen) ve çeşitli vitaminler ile değerli bir besin olmuştur. Midye etinde %80 su, %9-13 protein, %0-2 yağ ve %1-7 karbonhidrat bulunmaktadır (Göğüş ve Kolsarıcı, 1992).

Boğazlarda, Marmara Denizi'nden Karadeniz'e ve Ege'ye kadar zengin midye yatakları bulunmaktadır. Denizel ekosistemlere ulaşan ve çeşitli formlarda ve yoğunluklarda bulunan ağır metaller, deniz canlıları tarafından farklı şekillerde vücutlarına alınabilmektedirler (Merlini, 1980).

Çok kısıtlı hareket kabiliyeti olan midyeler, deniz suyunu kabukları arasında süzerek içerisinde bulunan bazı fitoplankton ve organik maddeleri ,kimyasal ve endüstriyel atıkları , patojenik mikroorganizmaları ve çözünmüş oksijeni bünyelerine alabilirler. Bu yüzden midyeler, suyun mikrobiyolojik özelliklerini göz önüne sermektedirler. Atık suların bulunduğu, çöp ve kanalizasyon sularıyla bağlantılı olan yerleşkelerde ve avlanan midyelerin tüketilmesi, sağlık açısından büyük risk taşımaktadır (Plusquellec, 1995; Wekel ve ark., 1994).

Midyeler, bazı kirleticileri, ağır metaller gibi toksik olabilecek maddeleri vücutlarında biriktirirler. Vücutlarında bulunan kirletici düzeyleri ölçüldüğünde yaşadıkları ortamın kirliliğini görmüş oluruz (Phillips, 1980).

Tüm bu özelliklerinden ötürü özellikle midye türleri, deniz kirliliğinin belirlenmesinde yoğun olarak kullanılmaktadır (UNEP, 1993).

Denizlerin kirlenmesi, deniz ürünleri (balıklar ve yumuşakçalar) değerlerinin, popülasyon ve ticaretinin azalmasına neden olur (Küçükgül, 1997).

Tatlı su midyelerinin yaşam sürelerinin uzun, hareket yeteneklerinin sınırlı olması ve süzerek beslenmelerinden dolayı, sucul ekosistemlerdeki kirliliğinin incelendiği toksikolojik çalışmalarda biyobelirteç canlı olarak yaygın ve güvenilir bir şekilde kullanılmaktadırlar. Aynı zamanda tatlı su midyelerinin ağır metal toksisitesine karşı son derece duyarlı oldukları bilinmektedir. *Dreissena polymorpha* (Zebra midyesi) istilacı bir tür olarak tanınmasına rağmen model ve biyolojik izleme organizması olarak da uygun bir canlı türü olup, antropojenik stres faktörlerini araştırmak için sucul ekosistemlerde kullanılır (Yıldırım ve ark., 2015).

Çalışmamızda bu özelliklere uygunluğu, ekonomik değeri bulunması ve ulaşılabilirliği ile bizlere uygun olduğundan Zebra Midyesi (*Dreissena polymorpha*)'nin kadmiyuma (Cd) karşı birikim düzeyleri ve mikrobiyolojik yönden araştırılması yapılmıştır.

1.8. Antioksidanlar

Antioksidanlar, ilaçların, senobiyotiklerin, kanserojenlerin, toksik maddelerin ve radikallerin etkilerine karşı hücreyi korumaktadır (Eaton ve Hale, 1993).

Antioksidanlar etkilerini iki şekilde gösterirler (Özbey, 2009):

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi;
 - Başlatıcı reaktif türevlerini uzaklaştırma
 - Oksijeni uzaklaştırma veya konsantrasyonunu azaltma
 - Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırma
2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi;
 - Toplayıcı (scavenging): ROS'u etkileyerek tutması veya daha az reaktif olan bir moleküle dönüştürülmesi (örneğin: Enzimler),
 - Bastırıcı (quencher): ROS ile etkileşip bir proton ekleyerek aktivite göstermesi (örneğin: Vitaminler)
 - Onarıcı (repair): Hedef moleküllerin tamir edilmesi (örneğin: Glutatyon),
 - Zincir kırıcı (chain breaking): ROS'u ve zincirleme reaksiyonları başlatacak maddeleri kendilerine bağlayarak ve zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önlemesi.

Antioksidan savunma sistemleri enzimatik olan ve enzimatik olmayan olmak üzere 2 tip molekülden oluşmaktadır.

Enzimatik olan antioksidanlar:

- SOD
- CAT
- GPx
- Glutatyon-S-Transferazlar (GST)
- Glutatyon Redüktaz (GR)

Enzimatik olmayan antioksidanlar ise,

- Glutatyon (GSH)
- Vitaminler (A, C, E)
- Melatonin (MT)

gibi bazı elementleri içeren antioksidan molekülden oluşmaktadır (Özbey, 2009).

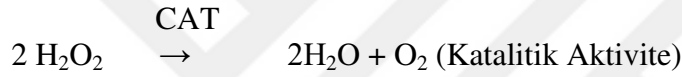
Bazı organizmalarda, ROS'un oluşumu ile oluşan oksidatif strese karşı, antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki (GPx, GST, GR, CAT vb.) değişimle beraber antioksidan savunma sistemi de cevap oluşturmaktadır (Güngördü, 2007).

CAT, yapısında dört tane hem grubu olan hemoproteindir. Bu enzim, esas olarak peroksizomlarda ve daha az sitozolde ve mikrozomal fraksiyonlarda bulunmaktadır. Hidrojen peroksiti (H_2O_2) suya ve oksijene parçalayarak lipid peroksidasyonuna karşı engelleyici olmaktadır. CAT, H_2O_2 bulunmasında bazı küçük substrat moleküllerine karşı peroksidatif aktivite göstermektedir (Paller, 1991).

Enzim iki tip tepkimeyle etkisini gösterir:

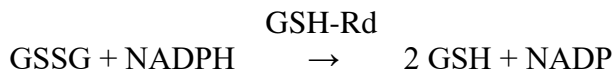
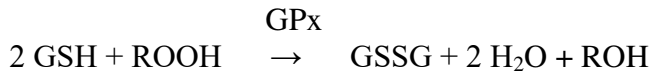
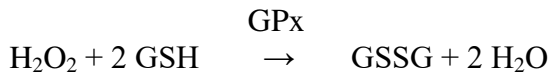
1- H_2O_2 'nin dismutasyonu (katalitik tepkime)

2-Alifatik alkollerin peroksidasyonu (peroksidatif aktivite) (Mavelli ve Rotilio, 1984).



CAT; monofonksiyonel hem katalazlar, katalaz-peroksidazlar ve Mangan (Mn) içeren katalazlar adında üç enzim ailesine ayrılmaktadır (Chelikani ve ark., 2004).

GPx enzimi; H_2O_2 ve lipid peroksidasyonunda zincir kırıcı etkiyi katalizler. GPx enzimi indirgenmiş GSH elektron alıcısı olarak kullanır oluşan okside ise glutatyon (GSSG) NADPH bağımlı GSH-Rd enzimi ile rejenere edilir (Ak ve ark., 1994; Yanbeyi, 1999).



Zebra midye ile yapılmış bazı çalışmalar ile sucul organizmalar üzerine ağır metal toksisitesini ve etkisini incelemek için yapılan literatür çalışmaları Tablo1’de verilmiştir.

Tablo 1.1. Midyeler ve bazı sucul organizmalarda yapılmış ağır metal toksisitesi üzerine çalışmalar

Toksiste	Bulgular	Referans
ZnPT	<i>D. polymorpha</i> , <i>U. mancus eucirrus</i> biyokimyasal yanıtlar belirlenmiştir.	Batmaz, 2019
Polycyclic aromatic hydrocarbons	<i>Perna viridis</i> üzerindeki antioksidatif yanıtlar	Cheung ve ark., 2003
Heavy Metal	<i>Sparus aurata</i> üzerine ağır metal toksitesi	Del Valls ve ark., 1998
Çinko ve kurşun	<i>Cyprinus carpio</i> üzerine SOD ve CAT aktivitesi	Dimitrova ve ark., 1994
Bakır	<i>Unio tumidus</i> SOD, CAT, GPx GR aktiviteleri ile GSH seviyeleri	Doyotte ve ark., 1997
Kadmiyum	Kadmiyumun neden olduğu oksidatif stres üzerine resveratrolün koruyucu etkisi	Göktaş, 2007
İz Elementler	<i>Mytilus galloprovincialis</i> midyesinde birikimi	Grimanis ve ark., 1982
Metal	Metal kirliliğinin zararları	Järup, 2003
Kadmiyum	Su ürünlerinde kadmiyumun biyobirikimi ve toksisitesi	Kayhan, 2006
Kadmiyum	Sıcaklığın ve Kadmiyumun <i>Gammarus pulex</i> üzerindeki akut toksitesi	Serdar ve ark., 2019
Nikel	Ni metalinin <i>Tigriopus japonicus</i> üzerinde biyokimyasal yanıtının araştırılması	Wang, ve Wang, 2010

Sanayi, kentsel, zirai vb. gibi gelişmeler günümüz çevresel sorunlarını artırmakta, bu çevresel sorunlar özellikle sucul organizmalar üzerine olumsuz etki yapmaktadır.

Yapılan bu çalışmada, model organizma olarak *D. polymorpha* kullanarak kadmiyumun bazı konsantrasyonlarına maruz bırakılarak sucul ortamlardaki etkilerini değerlendirmeyi amaçladık. Bu amaçla *D. polymorpha*'daki bazı biyokimyasal parametreler (SOD, CAT, GPx aktiviteleri ile TBARS ve GSH seviyelerin)'deki değişiklikler değerlendirilmiştir.

Literatür taraması ve incelenen çalışmalar ışığında şu ana kadar bu konuda yapılmış bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın bundan sonraki benzer çalışmalara ışık tutacağı ve literatürdeki boşluğu dolduracağı düşünülmektedir.



2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Test Organizması (*D. polymorpha*)

İstilacı ür olarak da tanımlanan zebra midyelerin yaşam toleransı oldukça geniştir. Açlık, kuruluk, yüksek sıcaklık farklılıkları ve suyun fiziko kimyasal özelliklerindeki (çözülmüş oksijen, pH, sertlik vb.) değişimlerine uyum sağlayabilmektedirler (Bobat ve ark, 2001). Çalışmada kullanılan zebra midyesinin sitematikteki yeri;

Alem: Animalia

Şube: Mollusca

Sınıf: Bivalvia

Takım: Cardiida

Familya: Dreissenidae

Cins: *Dreissena* (Beneden, 1835)

Tür: *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771)

Çalışmada kullanılan *D. polymorpha* örnekleri, Keban Baraj Gölü'nden temin edilmiştir.

D. polymorpha el yordamıyla toplanarak, hava takviye edilmiş plastik kaplarla Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akuatik Toksikoloji Araştırma Laboratuvarına canlı olarak getirilmiştir.

2.1.2. *D. polymorpha*'ların Laboratuvar Koşullarına Adaptasyonu

Yapılan tüm çalışmalar Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Merkezi Eğitim Öğretim ve Su ürünleri Toksikoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada model canlı olarak *D. polymorpha* kullanılmıştır.

Laboratuvara canlı olarak getirilen *D. polymorpha* örnekleri doğal ortamına benzer şekilde hazırlanmış akvaryumlara yerleştirilmiştir. Bu amaçla canlı materyalin yaşam ortamından su 80x40x25 cm ebatlarındaki stok akvaryumlarına ilave edilmiştir. Laboratuvar aydınlatmasında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde fotoperiyot uygulanmıştır (Welton ve ark., 1980). Ortam sıcaklığı termostatlı klima sayesinde hem

adaptasyon hem de test aşamalarında 23°C'ye ayarlanarak sabit tutulmuştur (Resim 2.1). *D. polymorpha*'ların beslenmeleri için kültüre edilmiş fitoplanktonlar kullanılmıştır.

Stok akvaryumlarında oksijen ihtiyacını karşılamak için akvaryumun hava motoru kullanılmıştır. Akvaryumlardaki suların %70'i canlıların doğal ortamından temin edilen dinlenmiş suyla haftada bir değiştirilerek yenilenmiştir. Adaptasyon süresince test organizmalarının beslenmesi ve hayatta kalmaları gözlemlenmiştir.

Biyokimyasal analizden önce midyelerin metrik-meristik ölçümleri (uzunluk verileri 0,001mm hassasiyetli dijital kumpasla, ağırlık verileri ise 0,0001g hassasiyetli hassas terazi ile tartılarak) kayıt edildi.



Resim 2.1. Stok *D. polymorpha* akvaryumları (Orijinal)

2.2. Metot

2.2.1. Konsantrasyon Uygulamaları

Biyokimyasal deneyler için Cd'un KSKY (Kıta İçi Su Kalite Yönetmeliği)'ne göre doğal sularda bulunabilirlik miktarları;

- I. Sınıf sular için 3µg/L,
- II. Sınıf sular için 5 µg/L,
- III. Sınıf sular için 10 µg/L,

IV. Sınıf sular için >10 µg/L olarak belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada Cd etkisinin belirlenmesi için biri kontrol grubu olmak üzere 4 Cd konsantrasyonu içeren grup oluşturulmuştur. Bunlar;

Kontrol grubu 0 µg/L Cd,
K1 grubu 10 µg/L Cd,
K2 grubu 20 µg/L Cd,
K3 grubu 40 µg/L Cd'dır.

Organizmalar, oluşturulan gruplarda belirlenen Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılarak, 24 ve 96 saatlerdeki biyokimyasal yanıtları tespit edilmek üzere -80 °C dondurucuda muhafaza edildi.

2.2.2. Diseksiyon İşlemleri ve Süpernatantların Hazırlanması

Test organizma bireylerinden 0,5 g tartılmış ve 1/5 w/v oranında PBS tamponu (fosfat ile tamponlanmış tuz çözeltisi) eklenerek, buz ile birlikte homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenize edilen bu örnekler soğutmalı santrifüjde 17000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek ve elde edilen süpernatantlar -80 °C derin dondurucuda ölçüm işlemleri tamamlanıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

2.2.3. Biyokimyasal Yanıtın Belirlenmesi

Çalışmamızda biyokimyasal yanıtın belirlenmesi için, SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri ile TBARS ve GSH seviyeleri belirlendi.

Çalışmada kullanılan SOD (Katalog No 706002), CAT (Katalog No 707002), GPx (Katalog No 703102), TBARS (Katalog No 10009055) ve GSH (Katalog No 703002) kitleri CAYMAN firmasından satın alınmıştır.

2.2.3.1. SOD Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Kit içeriğinin belirlediği bu yöntem, ksantin oksidaz ve hipoksantin ürettiği süperoksit radikallerinin belirlenmesi için tetrazolium tuzunu kullanılır. Bir ünite SOD Süperoksit radikalının %50'sinin dismutasyonunu gösteren enzim miktarı olarak tanımlamaktadır. Bu yöntem üç tip SOD'un aktivitesini de belirlemektedir (Cu/Zn, Mn, Fe-SOD).

2.2.3.2. CAT Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Kullandığımız kit ile CAT enzim aktivitesinin belirlenmesi için peroksidatik fonksiyonunu kullanır. Yöntem enzimin optimal bir H_2O_2 konsantrasyonunun varlığında metanol ile reaksiyona girmesine dayanır. Üretilen formaldehit, 4-amino-3-hidrazino-5-merkapto-1,2,4-triazol (Purpald) ile kromojen olarak spektrofotometrik olarak ölçülür. 1,2 Purpald, özellikle aldehitlerle bisiklik bir heterosikl oluşturur; oksidasyon değişimine bağlı olarak renksizden mor renge doğru bir değişim gözlenir.

2.2.3.3. GPx Aktivitesinin Belirlenmesi

GPx aktivitesini dolaylı olarak glutatyon redüktaz (GR) ile birleştirilmiş bir reaksiyonla ölçer. GPx ile hidroperoksitin azaltılmasıyla üretilen oksitlenmiş glutatyon (GSSG), GR ve NADPH ile indirgenmiş haline geri dönüştürülür:

NADPH'nin $NADP^+$ 'ya oksidasyonuna 340 nm'de absorbansta bir azalma eşlik eder. GPx aktivitesinin hız sınırlayıcı olduğu koşullar altında, A340'taki azalma hızı numunedeki GPx aktivitesi ile doğru orantılıdır. GPx enzim aktivitesi Cayman Test Kiti ELISA yöntemine göre mikropate okuyucu ile belirlenmiştir.

2.2.3.4. TBARS Seviyesinin Belirlenmesi

Cayman'ın TBARS Test Kiti midye doku homojenatlarında lipit peroksidasyonunu (LPO) test etmek için basit, tekrarlanabilir ve standartlaştırılmış bir araç sağlar. MDA ve TBA'nın yüksek sıcaklık (90-100 ° C) ve asidik koşullar altında reaksiyonu sonucu oluşan MDA-TBA eklentisi 530 nm'lik bir uyarılma dalga boyunda ve 550 nm'lik bir emisyon dalga boyunda kolorimetrik olarak ölçülür.

2.2.3.5. GSH Seviyesinin Belirlenmesi

Cayman'ın GSH Testi, GSH ölçümü için glutatyon redüktaz kullanarak dikkatle optimize edilmiş bir enzimatik geri dönüşüm yöntemi kullanmaktadır. Sülfhidril grubu GSH, DTNB (5,5'-ditio-bis-2- (nitrobenzoik asit), Ellman'ın reaktifi) ile reaksiyona girer

ve sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB) üretir. Eşzamanlı olarak üretilen karışık disülfür, GSTNB (GSH ve TNB arasında), GSH'yi geri dönüştürmek ve daha fazla TNB üretmek için glutatyon redüktaz ile indirgenir. TNB üretim hızı, numunedeki GSH konsantrasyonu ile doğru orantılı olan bu geri dönüşüm reaksiyonuyla doğru orantılıdır. TNB'nin 405-414 nm'de absorbansının ölçülmesi, numunedeki GSH'nin doğru bir tahminini sağlar.

2.3. İstatistiksel Analizler

Çalışma sonunda var olan verilerin istatistiksel analizleri SPSS 24.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Aynı uygulama süre içinde farklı gruplar arasındaki istatistiksel fark (K1, K2, K3 ve K0 (kontrol)) DUNCAN testi ile belirlenmiştir. Uygulama süreleri (24 ve 96 saat) arasındaki fark ise bağımsız 2 testi ile belirlenmiştir. (Sümbüloğlu, 1998; Kalaycı, 2010).

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Meristik Bulgular

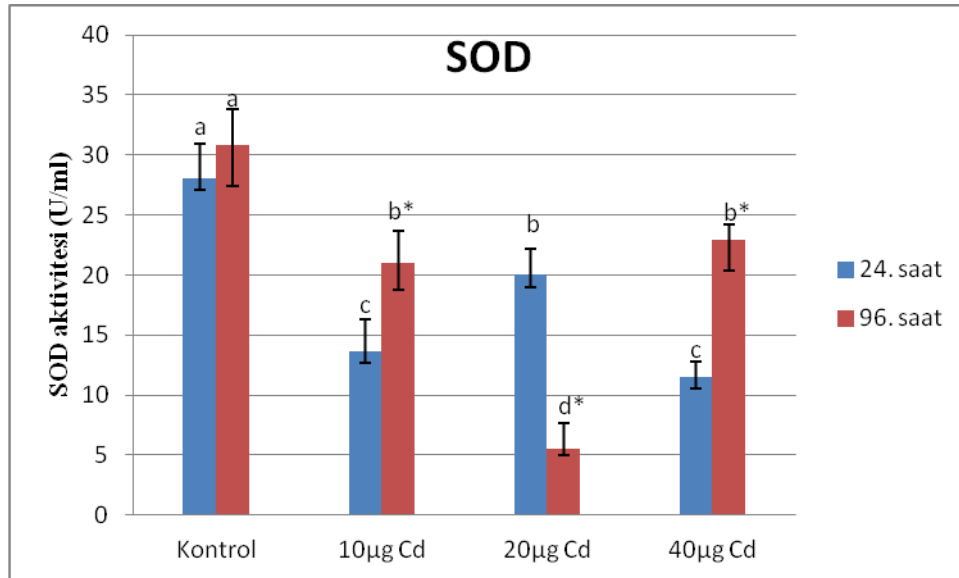
Çalışmada kullanılan midyelerin ağırlıkları $1,092 \pm 0,27$ g, uzunlukları $20,276 \pm 2,09$ mm, genişlikleri $10,13 \pm 0,94$ mm ve yükseklikleri $9,741 \pm 1,07$ mm olarak ölçülmüştür.

3.2. Biyokimyasal Bulgular

Yapılan bu çalışmada biyokimyasal yanıtın belirlenmesi için, SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri ile TBARS ve GSH seviyeleri CAYMAN kitleri ile ELISA testi mikroluka okuyucu ile belirlenmiştir.

3.2.1. SOD Enzim Aktivitesi

Farklı Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılan *D. polymorpha*'da SOD aktivitesindeki değişimler belirlenmiştir (Şekil 3.1). SOD aktivitesi kontrole kıyasla 24. saatte de 96. saatte de azalmıştır ($p < 0,05$).

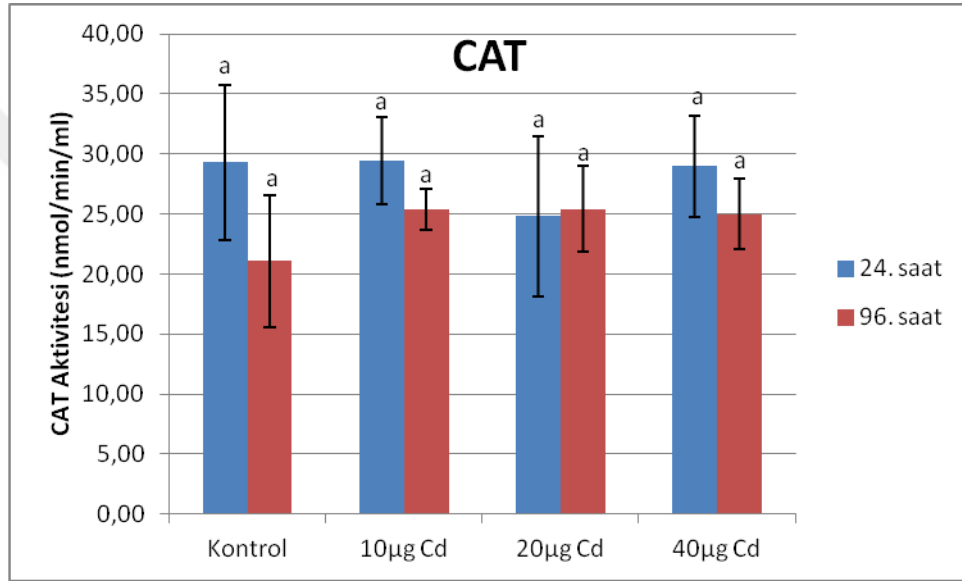


Şekil 3. 1. Cd'un *D. polymorpha*'da SOD enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Sutunlardaki farklı harfler, aynı uygulama döneminde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gösterir, abcp <0.05 (Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi). *; aynı uygulama grubundaki 24. ve 96. saatler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (Bağımsız T testi)

3.2.2. CAT Enzim Aktivitesi

Farklı Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılan *D. polymorpha*'da CAT aktivitesindeki değişimler belirlenmiştir (Şekil 3.2). CAT aktivitesi kontrole kıyasla 24. saatte de 96. saatte istatistiksel açıdan önemli fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

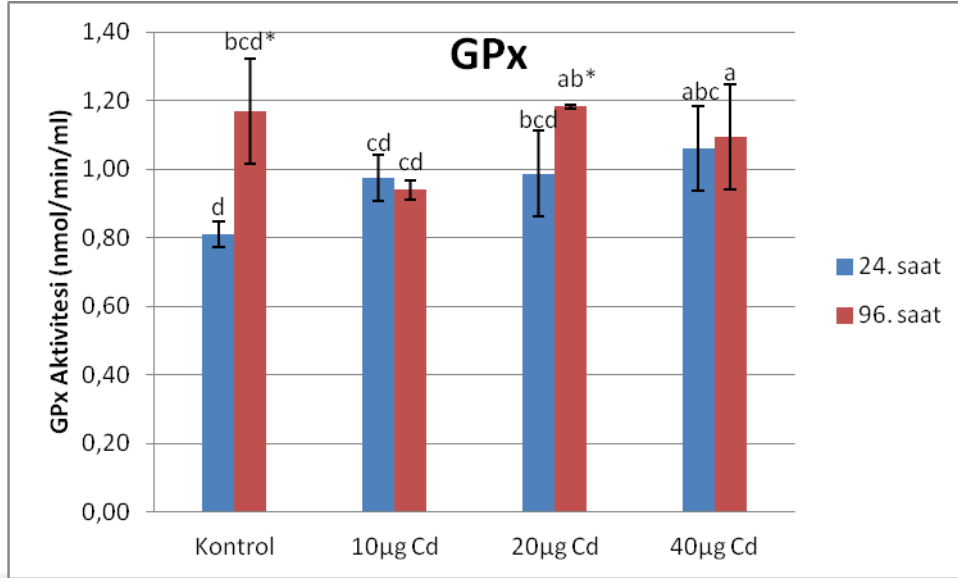


Şekil 3. 2. Cd'un *D. polymorpha*'da CAT enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Sutunlardaki farklı harfler, aynı uygulama döneminde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gösterir, abcp <0.05 (Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi). *; aynı uygulama grubundaki 24. ve 96. saatler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (Bağımsız T testi)

3.2.3. GPx Enzim Aktivitesi

Farklı Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılan *D. polymorpha*'da GPx aktivitesindeki değişimler belirlenmiştir (Şekil 3.3). GPx aktivitesi kontrole kıyasla yüksek Cd konsantrasyonlarında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar oluşturduğu tespi edilmiştir ($p<0,05$).

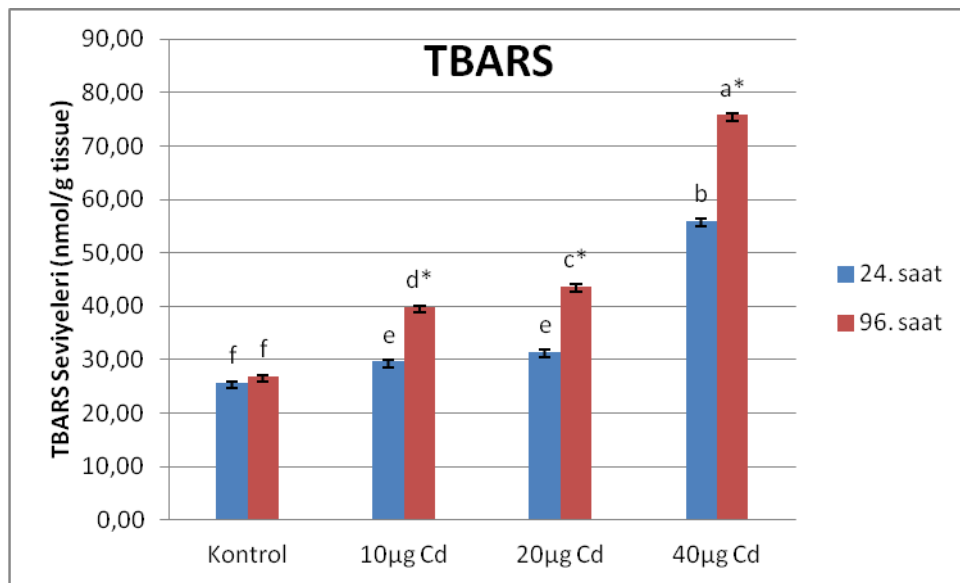


Şekil 3. 3. Cd'un *D. polymorpha*'da GPx enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Sutunlardaki farklı harfler, aynı uygulama döneminde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gösterir, abcp <0.05 (Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi). *; aynı uygulama grubundaki 24. ve 96. saatler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (Bağımsız T testi)

3.2.4. TBARS Seviyesi

Farklı Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılan *D. polymorpha*'da TBARS seviyelerindeki değişimler belirlenmiştir (Şekil 3.4). TBARS Seviyeleri kontrole kıyasla hem 24. saatte hem de 96. saatte istatistiksel açıdan önemli derecede arttığı tespit edilmiştir (p<0,05).

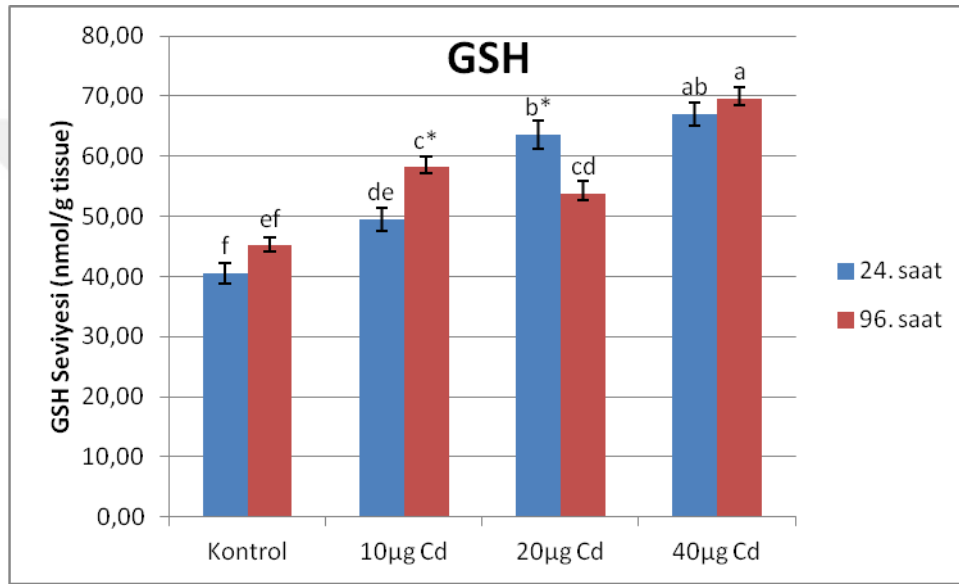


Şekil 3. 4. Cd'un *D. polymorpha*'da TBARS seviyeleri

Sutunlardaki farklı harfler, aynı uygulama döneminde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gösterir, $abcp < 0.05$ (Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi). *; aynı uygulama grubundaki 24. ve 96. saatler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (Bağımsız T testi)

3.2.5. GSH Seviyesi

Farklı Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılan *D. polymorpha*'da GSH seviyelerindeki değişimler belirlenmiştir (Şekil 3.5). GSH seviyeleri kontrole kıyasla 24. ve 96. saatte istatistiksel açıdan önemli derecede arttığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$).



Şekil 3. 5. Cd'un *D. polymorpha*'da GSH seviyeleri

Sutunlardaki farklı harfler, aynı uygulama döneminde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gösterir, $abcp < 0.05$ (Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi). *; aynı uygulama grubundaki 24. ve 96. saatler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (Bağımsız T testi)

Sucul kaynakları kirleten çeşitli kirleticiler tüm çevre için yaygın bir problemdir (Stancova ve ark., 2017). Sanayileşme ile büyük miktarlarda çözünmüş metal su ortamlarına bırakılmıştır.

Midyeler bulundukları sucul ortamlarda suyu süzerek beslenen canlılar olduğundan maruz kaldığı ksenobiyotik maddeleri dokularında yüksek seviyelerde biriktirebilirler. Bu nedenle ekotoksikoloji alanında sucul ekosistemlerin izleme çalışmalarında belirteç olarak kullanılan organizmalardandır. Bu etkileri fizyolojik, davranışsal, hücresel, biyokimyasal ve moleküler değişimler şeklinde gözlemlenebilir (Faggio et al., 2018).

Oksidatif stres, reaktif oksijen ksenobiyotik kaynaklı aşırı ROS üretilmesi ile aerobik oranın antioksidan savunma mekanizmasında meydana gelen dengesizlik

olarak tanımlanır. SOD, CAT, GPx ve Glutasyon S-transferaz (GST) dahil olmak üzere antioksidan ve biyotransformasyon enzimleri organizmaları ROS'a karşı korur. Çeşitli çevresel kirleticiler, oksidatif stresin indüklenmesi yoluyla toksisite gösterebilir. Metal maruziyeti ve antioksidan savunma sistemi arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışma, sucul canlılar kullanılarak yapılmıştır.

Bir grup metaloenzim olan SOD, süperoksit radikallerinin aerobik organizmalardaki toksik etkilerine karşı birincil savunmadır ve süperoksit radikallerinin antioksidan sistemde önemli bir rol oynayan H_2O_2 ve O_2 'ye dönüşümünü katalize eder.

Ksenobiyotik konsantrasyonlarındaki artışın antioksidan aktiviteye yol açması genel bir kural değildir (Cheung ve ark. 2001). Bazı durumlarda, O_2^- tek başına veya H_2O_2 'ye dönüşmesinden sonra, sistemin enzimde güçlü bir oksidasyonuna neden olur ve SOD aktivitesini azaltır (Dimitrova ve ark. 1994; Durmaz ve ark. 2006). Ksenobiyotik varlığında, antioksidan sistemde başlangıçtaki azalmış bir tepkiyi bir indüksiyon izleyebilir. Dolayısıyla, indüklenebilir bir antioksidan sistemin varlığı organizmanın bir adaptasyonunu yansıtabilir (Doyotte ve ark. 1997; Oruç ve Usta 2007). Antioksidan sistemin çeşitli dokulardaki oksidatif strese yanıtı, bu dokuların antioksidan potansiyelindeki farklılıklar nedeniyle bir türden diğerine farklılıklar göstermektedir (Ahmad ve ark. 2000; Oruç ve Usta 2007). Bu çalışmada, *D. polymorpha*'da Cd'a maruz kaldıktan sonra SOD aktivitesi azalmıştır. Benzer şekilde, çeşitli kirleticilere maruz kalan bazı su organizmalarında da SOD aktivitesinin azaldığını bildiren çalışmalar (Durmaz ve ark. 2006; Tatar ve ark. 2018; Serdar ve ark. 2018) mevcuttur.

Wang ve Wang (2010), yaptıkları çalışmada Ni metali konsantrasyonları maruz bıraktıkları *Tigriopus japonicus* eklem bacaklı organizmasında biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisi SOD aktivitesi ilk günlerde inhibe olduğu ve 7. günde kopepodun SOD aktivitesi üzerinde önemli ölçüde indüklenebilir bir etki başlattığını bildirmişlerdir. SOD aktivitesinin sonraki zaman aralığında (12. günde) zirveye ulaştığını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da benzer şekilde 96. saatte tüm Cd gruplarında SOD aktivitesinin inhibe edildiği belirlenmiştir.

CAT, oksijen kullanan hemen hemen tüm canlı organizmalarda bulunan çok yaygın bir enzimdir. Hidrojen peroksitin ayrışmasını katalize ederek su ve oksijen oluşumunda etki eder (Chelikani ve ark. 2004). CAT aktivitesi, maddeye bağlı olarak kontamine ortamlarda artabilir veya azalabilir (Sobjak ve ark. 2017).

Çeşitli kirleticilere maruz kalan sucul organizmalarda CAT aktivitesinde azalmalar bildirilmiştir (Thomas ve Murthy 1976; Hasspieler ve ark 1994; Sayeed ve ark 2003; Zhang ve ark 2004; Crestani ve ark 2007; Yıldırım ve ark.2018). Literatürde bu enzimin aktivitesi ile ilgili olarak elde edilen sonuçlara göre, tür, habitat, vb.'ye göre potansiyel antioksidan değişiklikler açıklanabilir (Gluszczak ve ark. 2007). Yapılan bu çalışmada Cd'un *D. polymorpha* üzerindeki CAT aktivitesindeki değişimler istatistiksel açıdan farklı bulunmamıştır.

GSH pahasına lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu bir enzim olarak kabul edilen GPx, hidrojen peroksit ve lipit peroksitlerin azaltılmasını katalize eder (Moreno ve ark. 2005).

Wang ve Wang (2010), yaptıkları çalışmada Ni metali konsantrasyonları maruz bıraktıkları *T. japonicus* kopepodunda GPx aktivitesinin Ni maruziyetine verdiği yanıtı belirlemişlerdir. Artan Ni konsantrasyonu maruziyeti ile kayda değer bir indüksiyon etkisi oluştuğunu bildirmişlerdir ($p<0,05$). GPx aktivitesinin, 4. günde yüksek Ni konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir ($p<0,05$). Yapılan bu çalışmada Cd'un *D. polymorpha* üzerindeki GPx aktivitesindeki değişimler kontrole kıyasla istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmuştur. Çalışma bu yönüyle literatürdeki diğer çalışmalara benzerdir.

SOD ve GPx aktiviteleri, kirleticilerin neden olduğu ROS ve metabolitlerini ortadan kaldırmak için uyarılmış olsa da, kopepodların gereksiz oksidatif ürünleri atmak için GST aktivitesini uyarması gerekebilir (Lee ve ark. 2007; Raisuddin ve ark. 2007; Seo ve ark., 2006). Artan konsantrasyonlar ile 24 ve 96. saatlerdeki Cd maruziyeti indüklenebilir GST aktivitesi, GPx aktivitesinin geri kazanılmasından sorumlu olabilir.

Hücrel zar hasarında ilk adım olarak bilinen hücrel bileşenlerin oksidatif hasarının değerli bir göstergesi olarak kabul edilen lipit peroksidasyonuna pestisitler, metaller ve diğer ksenobiyotikler neden olmaktadır (Gamble ve ark., 1995; Regoli ve ark., 1998). Hücrel yapı ve fonksiyonun çoğu bileşeninin potansiyel olarak oksidatif hasar hedefleri olması muhtemeldir ve oto-oksidasyon için en duyarlı substratlar, hızlı eradikasyona tabi tutulan hücre zarının çoklu doymamış yağ asitleridir.

Batmaz, (2019) yaptıkları çalışmada çinko piritiyon (ZnPT)'un *D. polymorpha* üzerindeki biyokimyasal etkisini araştırmışlardır. *D. polymorpha*'nın solungaçlarında ve sindirim bezinde MDA düzeyleri kontrol grubuna kıyasla deney grubunda göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bunun sebebi su ortamından alınan ZnPT'nin solungaç

hücrelerinde lipid peroksidasyonuna yol açtığı kanısına varmıştır. Sindirim bezinde ise vücuda alınan ksenobiyotik maddelerin detoksifikasyonundan sorumlu olduğundan hücrelerin bu maddeye maruz kalması sindirim bezi hücrelerinde lipid peroksidasyonunun gerçekleştiği kanısına varmışlardır. Yapılan bu çalışmada da benzer şekilde *D. polymorpha*'da artan Cd konsantrasyonu ile TBARS seviyelerinin arttığı belirlenmiştir.

Batmaz (2019), yaptıkları çalışmada ZnPT'ye 96 saat süresince maruz kalan tatlısu midyesi (*U. mancus eucirrus*)'nin sindirim bezi ve solungaç dokularında MDA düzeyleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığını ($p<0,05$) bildirmişlerdir.

Wang ve Wang (2010), yaptıkları çalışmada kopepodlardaki LPO seviyesinin, 12 günlük maruziyetten sonra farklı Ni konsantrasyonları ile belirgin bir şekilde ilişkili olduğunu ($p<0.05$) ve Ni maruziyetlerinin, LPO seviyesini çarpıcı bir şekilde baskıladığını, bununda Ni konsantrasyonundaki bir artışla, yani LPO seviyesini azalttığını gösterdiğini bildirmişlerdir.

Son çalışmalar, metallerin aşırı sülfhidrit grupları, LPO ve DNA hasarının tükenmesiyle ROS'u aşırı üretebileceğini göstermiştir (Stohs ve Bagchi 1995; Kasprzak ve ark., 2003; Kodipura ve ark., 2004). Bununla birlikte, antioksidan enzimler (SOD ve GPx) ROS'u azaltmak için indüklenebilir ve bu nedenle sonuçta bu çalışma ile tutarlı olan oksidatif hasarı azaltır, yani organizmalarda SOD ve GPx aktiviteleri, maruziyet sırasında kirlenici maruziyeti ile önemli ölçüde uyarılmış olur (Wang ve Wang, 2010). Bu çalışmada da Cd maruziyeti, *D. polymorpha*'da ROS aşımı yoluyla oksidatif stresden muzdarip olmaya zorlayabilir ve organizma buna karşılık olarak bu strese karşı koymak için antioksidan sistemlerini başlatabilir. Bu artış, membran lipidlerinde oksidatif stres sonucu lipid peroksidasyonu hasarının oluştuğunu göstermektedir.

Hfaiedh ve ark. (2008), nikel klorürün LPO'daki artış ve antioksidan enzim aktivitelerindeki değişikliklerle kanıtlandığı gibi oksidatif stresi indüklediğini, yani SOD aktivitesinin arttığını, GPx ve katalaz aktivitelerinin azaldığını bulmuşlardır. Ni toksisitesinde etkili olabilecek en olası mekanizma, LPO'yu başlatan ve böylece protein veya DNA gibi kritik makromoleküllerin yanı sıra hücre hasarı ve ölümüne neden olan ROS oluşumudur (Huang ve ark. 1994). Örneğin, Stinson ve ark. (1992), nikel klorürün Fenton reaksiyonu yoluyla HO üretebileceğini ve bunun sonucunda da LPO ve DNA hasarıyla sonuçlandığını bildirmiştir.

Antioksidan sistemin (SOD, GPx, GST ve GSH) Cd maruziyatine yanıtları dikkate alındığında, *D. polymorpha*'larda Cd kaynaklı oksidatif stres hatta oksidatif hasardan

muzdarip olması muhtemeldir. Birçok çalışma, LPO'da yer alan faktörlerin, antioksidan enzimlerin operasyonlarına ve fonksiyonlarına ciddi şekilde bağlı olmadığını, yani LPO seviyesinin, her zaman diğer faktörler tarafından da kontrol edilebilen ROS içeriği ile ilişkili olmadığını göstermektedir (Hussain et al. 1987 ; Strubelt ve ark., 1996; Nigam ve ark., 1999).

Yapılan bu çalışmada, farklı üç Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılan *D. polymorpha*'da yapılan çalışmalara benzer şekilde, kontrole kıyasla Cd'a maruz bırakılan gruplarda TBARS seviyelerinde istatistiksel açıdan önemli artışlar belirlenmiştir.

ROS kaynaklı hasar sırasındaki tipik reaksiyonun doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu içerdiği göz önüne alındığında, yapılan bu çalışmada TBARS'ın *D. polymorpha* için iyi bir biyobelirteç olduğu belirlenmiştir

Antioksidan savunmanın önemli bir bileşeni olan GSH, enzimatik olmayan bir temizleyicidir. Glutasyon, serbest radikaller ve peroksitler ile reaksiyona girer ve hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Meister ve Anderson, 1983).

Batmaz (2019), 96 saat süresince subletal çinko piritiyon'a maruz bıraktıkları tatlı su midyesi *U. mancus eucirrus*'un sindirim bezi ve solungaç dokularındaki glutasyon (GSH) düzeylerinin kontrole kıyasla önemli düzeyde arttığını ($p<0,05$) belirlemişlerdir. Hücrede başlıca oksidatif stres, antioksidan, savunma mekanizması olan redükte glutasyon düzeylerindeki artış ZnPT'nin hücresel antioksidan savunma mekanizmalarına olumsuz etkisini gösterdiğini belirtmişlerdir.

Metal maruziyeti sırasında GSH'nin inhibe edici durumdadır. Ayrıca, antioksidan ve detoksifikatör yanıtı SOD, GPx ve GST gibi enzimlerden daha hızlıdır (Wang ve Wang, 2010). GSH, metalle doğrudan karmaşıklığı veya GPx veya GST'nin detoksifikasyon sürecine katılımıyla metal saldırısına karşı ilk savunmayı üstlenebilir (Sies 1999). Benzer şekilde, bazı yazarlar Ni'nin toksik etkilerini hücresel GSH'deki bir azalmaya ve GSSG'de eşlik eden bir artışa bağlayarak hücrelerin redoks durumunu değiştirir (De Luca ve ark. 2007). Böylece, GSH / GSSG biyolojik organizmalarda oksidatif stres veya yaralanma için uygun bir biyobelirteç olabilir (Hwang ve ark. 1992). Ayrıca, güçlü pozitif korelasyon GSH seviyesinin GSH / GSSG oranına sahip olması, GSH'nin dikkat çekici bir şekilde tükenmesinin, hücresel redoks durumuna önemli ölçüde müdahale ederek kirletici saldırısının neden olduğu organizmaların oksidatif durumunu yansıtabileceğini düşündürmektedir (Wang ve Wang, 2010)..

GSH değerleri doku antioksidanı olarak m¼cadele sırasında d¼şmesi beklenirken y¼kselme g¼stermiřtir. Bunun sebebi s¼reye ve organizmaya bağlı olabilir. Nunes ve Costa (2019), *Hediste diversicolor* ¼zerinde ZnPT'un akut potansiyel toksisitesinin oksidatif stres parametreleri açısından belirlendiği çalışmada elde edilen sonuçlar GST aktivitesinin, ZnPT'nin 40 ve 160 µg/L konsantrasyonlarına maruz kalan organizmalar için ¼nemli ¼l¼de arttığını bildirmiştir. Batmaz 2019, *U. mancus euriccus* t¼r¼yle yaptığı çalışmada GSH'ın 96. saatte arttığını bildirmiştir. *Corbicula fluminea* istilacı midye t¼r¼nde ZnPT'nin etki ettiği biyokimyasal parametrelerden CAT, GST ve AChE aktivitelerinin ZnPT'ye maruz kalmanın ardından yalnızca test edilen en y¼ksek konsantrasyonda CAT ve AChE aktivitesinde ¼nemli bir artış meydana gelmiştir. Bu bulgu, ¼zellikle bu antioksidan mekanizmaların artışına işaret etmektedir. GST aktivitesinde anlamlı farklılıklar bulunmamış olsa da, GST'lerin organizmalarda aktivitesinde hafif bir azalma olmuştur (Nogueira ve ark, 2018). Literart¼r incelendiğinde yapılan bu çalışmada GSH'ın artışının benzer organizmalarda da artışa sebebiyet verebidiğinin bu y¼n¼yle benzerlikler içerdiğini g¼stermiřtir.

Cd'a karşı *D. polymorpha*'da SOD, CAT, GPx enzim aktiviteleri ile TBARS ve GSH seviyelerinde meydana gelen değişikliklere bakıldığında s¼z konusu biyokimyasal yanıtların alındığı parametrelerin biyobelirteç olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Canlı organizmalar, ekosistemdeki oluşan kirliliklere karşı davranışsal ve fizyolojik tepkiler gösterirler. Tüm ekosistem kirliliklerinin nihai durağı olan sucul ortam ve sucul canlılar için durum daha kritiktir. Sulardaki her türlü fiziko-kimyasal değişimler sucul canlıların üreme, beslenme, barınma ve göç gibi hayati faaliyetlerini etkilemektedir. Kirlletici faktörlerin sucul canlıların üzerindeki etkisinin araştırılması, belirlenmesi ve bertaraf edilmesi temiz bir çevre ve sucul canlıların refahları için önemlidir.

Özellikle sucul ekosistemde, sedimente bağımlı sesil dip organizmaları olan çift kabuklu yumuşakçalar (midyeler), suyu süzerek beslendikleri için kirlilikten en fazla etkilenen canlılardır. Bu yapıları nedeni ile kirlilikten en fazla etkilenen canlılardır.

Sanayileşme ile artan endüstriyel kirlilik beraberinde ağır metal kirliliğini de getirmiştir. Bir metal, herhangi bir canlının biyolojik sistemine girdiği zaman, o canlının üzerindeki yaşamsal işlevlerine zarar verme kapasitesine sahiptir (Hu, 2000; Kayhan, 2006). Sn yıllarda, sucul ortamlarda ağır metallerin artan konsantrasyonları sucul canlılar tarafından vücutlarına alınarak besin zinciri vasıtasıyla üst trofik düzeylere taşınmaktadır. Ağır metallerin SKKY'ne göre belirlenen konsantrasyonlarda ve bu konsantrasyonların üzerindeki konsantrasyonlara maruz kalan sucul canlıların ilgili organlarında yüksek düzeyde birikmektedir.

Canlılar aleminin ortak serveti olan su rezervleri ve barındırdıkları sucul organizmalar, kaliteli protein arayışı içinde olan toplumların gıda deposudur. Tüm toplumların ana hedefi, endüstrileşmenin yanında, yaşam kalitesini bozmadan, taze ve temiz ürünlerle sağlıklı beslenme olanaklarını korumak ve sürekliliğini sağlamak olmalıdır (Kayhan, 2006).

Sulardaki metal kirliliği, zirai, endüstriyel atıklar ve eski madenlerdeki sızıntılardan kaynaklanmaktadır. Yağmur suları da çevredeki topraktan metallerin süzülmesine sebep olmaktadır. Balık fizyolojisi üzerine yapılmış çalışmalarda kirlilik etkilerinin en yaygın olduğu görülen metaller; Cu, Zn, Sn, Cd, Hh, Cr, Pb, Ni, As ve Al'dir. Salmonlarda toksik etki açısından ağır metallerin sıralanışı $Hg \geq Cd > Cu$ şeklindeyken, vücutta birikme bakımından sıralama $Hg \gg Pb > Cr$ ve Cd olmaktadır (Atamanalp ve Yanık, 2003).

Bütün sucul ortamlarda, içerisinde barındırmış oldukları organizmalara zarar verebilecek her çeşit yabancı maddelerin karıştırılmaması insan sağlığı açısından, çevre

calı ilişkileri açısından, ekonomik açıdan ve organizmaların sağlığı açısından büyük önem arz etmektedir (Atamanalp ve Yanık, 2003). Dolayısıyla gerekli ön tedbirler ve yasal düzenlemelerin yanısıra güçlü bir denetimin olması elzemdir. Su yaşamın temel kaynaklarından biri olup yaşamın idamesi için olmazsa olmazdır. Bu sebeple doğal su kaynaklarımızın her çeşit kirleticilerden korunması zorunludur.

Bu araştırmada elde edilen bulguların sonuçlarına göre;

- Kadmiyum ağır metalinin *D.polymorpha* sucul canlı bireylerine toksik etki yaptığı tespit edilmiştir. Bu nedenle alıcı ortamlara karışma olasılığı yüksek gelişmiş sanayiye sahip kentlerde ağır metallerin doğaya salınımı kontrol altında tutulması, salınım esnasında sucul ortamdaki metallerin ortama bulaştırılmadan giderimi üzerine araştırma ve yatırımların yapılması tavsiye edilebilir.
- Yetkili kurum ve kuruluşlarca belirlenen, su kalite sınıflarına ait Cd'un alıcı ortamlardaki konsantrasyonu limit değerlerinin üstüne çıktığında sucul organizmalarda ani ölümler olabileceği gibi canlı organizmada birikim yaparak av avcı ilişkisiyle balık, kuş ve insanlara taşınabilme riskleri gözardı edilmemelidir.
- Deneysel çalışmalarda laboratuvar ortamında toksik maddeye maruz bırakılan canlı bireylerin iç güdüsel (avlanma, beslenme, üreme vb.) davranışlarının da etkilenebileceği ve birçok canlı neslinin tehlike altında olabileceği için farklı davranış şekillerindeki değişimlerin de belirlenmesi önerilir.
- Ağır metal gibi toksik maddelerin oluşturduğu kirliliklerin, kirliliğe duyarlı indikatör türler ve gıda zincirinin basamaklarındaki canlılar kullanılarak bu tür çalışmalar yaygınlaştırılmalıdır.
- Toksik maddelerin canlılara öldürücü etkisinin yanında canlının toksik madde tarafından nasıl etkilendiği, nörotoksik ve genotoksik etkileri ve bu etkilerin canlıların dokularında ne gibi değişiklikler yaptığının da bilinmesi için histopatolojik çalışmalar yaygınlaştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emmami, B., Fooladian, F., ve Zafariet K.,** 2003. Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp. Biochem. Physio, C: Comp. Pharma.*, 135(3): 331-336.
- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H.S., Jain, S.K., Athar, M., ve Raisuddin, S.,** 2000. Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1523(1):37-48
- Ak, H., Dingiloğlu, T., ve Habif, N.,** 1994. Plasma lipid peroxidation, Vit. E, superoxide dismutase and glutathione peroxidase alterations in coronary atherosclerosis. *Tr J Med Sci*, 26: 11-15.
- Asri, F.Ö., Sönmez, S., ve Çıtak, S.,** 2007. Kadmiyumun çevre ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Derim*, 24(1): 32-39.
- Atamanalp, M., ve Yanık, T.,** 2003. Salmonidlerde yapılan toksikolojik çalışmalar. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 34(1): 105-110.
- Batmaz, G.,** 2019. Zinc pyrithione'un iki tür tatlı su bivalvi üzerine ekotoksikolojik etkileri. *Yüksek Lisans Tezi.* Gazi Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı. Ankara 73s.
- Bertin, G., ve Averbeck, D.,** 2006. Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie*, 88(11): 1549-1559.
- Bobat, A., Hengirmen, O.M., ve Zaplethal, W.,** 2001. Tatlısu Ekosisteminde Teknik, Ekonomik ve Ekolojik bir Zararlı: Zebra Midye. *Kırsal Çevre Yıllığı*, 112-127.
- Brzóska, M.M., ve Moniuszko-Jakoniuk, J.,** 2001. Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food and Chemical Toxicology*, 39(10): 967-980.
- Cadenas, E.,** 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annual Review of Biochemistry*, 58(1): 79-110.
- Chelikani, P., Fita I., ve Loewen, P.C.,** 2004. Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61(2): 192-208.
- Chen, C.Y., Wang, Y.F., Lin, Y.H., ve Yen, S.F.,** 2003. Nickel-induced oxidative stress and effect of antioxidants in human lymphocytes. *Arch Toxicol* 77:123-130

- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Li, A.M.Y., Richardson, B.J., ve Lam, P.K.S., 2001.** Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquat Toxicol* 52(3–4):189–203
- Crestani, M., Menezes, C., Glusczak, L., dos Santos Miron, D., Spanevello, R., ve Silveira A., 2007.** Effect of clomazone herbicide on biochemical and histological aspects of silver catfish (*Rhamdia quelen*) and recovery pattern. *Chemosphere* 67(11):2305–2311
- De Luca, G., Gugliotta, T., Parisi, G., Romano, P., Geraci, A., Romano, O., Scuteri, A., ve Romano, L. 2007.** Effects of nickel on human and fish blood cells. *Biosci Rep* 27:265–273
- Del Valls, T. A., Blasco, J., Sarasquete, M.C., Forja, J.M., ve Gómez-Parra, A., 1998.** Evaluation of Heavy Metal Sediment toxicity in littoral ecosystems using juveniles of the fish *Sparus aurata*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 41(2): 157-167.
- Dimitrova, M.S., Tishinova, V., ve Velcheva, V., 1994.** Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase-catalase system in carp (*Cyprinus carpio*). *Comp Biochem Physiol C: Pharmacol Toxicol Endocrinol* 108(1):43–46
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M.C., Babut, M., ve 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*. *Aquat Toxicol* 39(2):93–110
- Duffus, J.H., 1981.** Environmental toxicology, John Wiley.
- Durmaz, H., Sevgiler, Y., ve Üner, N., 2006.** Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in *Oreochromis niloticus*. *Pestic Biochem Physiol* 84 (3): 215–226
- Eaton, R. A., ve Hale, M. D. C., 1993.** Wood: Decay, pest and protection, Chapman and Hall, London 546
- Ergönül, M.B. ve Atasağun, S. 2017.** Chapter 16 -The effects of chronic low level zinc (Zn) exposure on the hematological profile of tench, *Tinca tinca* L.1758. In: Trends in fisheries and aquatic animal health, editor: Berilis, P. Bentham Science Publishing.

- Faggio, C., Tsarpali, V., ve Dailanis, S.** 2018. Mussel digestive gland as a model tissue for assessing xenobiotics: An overview. *Science of The Total Environment*, 636, 220-22.
- Gajewska, E., ve Sklodowska, M.,** 2007 Effect of nickel on ROS content and antioxidant enzyme activities in wheat leaves. *BioMetals* 20:27–36
- Gamble, S.C., Goldfarb, P.S., Porte, C., ve Livingstone, D.R.,** 1995. Glutathione peroxidase and other antioxidant enzyme function in marine invertebrates (*Mytilus edulis*, *Pecten maximus*, *Carcinus maenas* and *Asterias rubens*). *Mar Environ Res* 39(1–4):191–195
- Gluszczak, L., dos Santos Miron, D., Moraes, B.S., Simões, R.R., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M., ve Loro, V.L.** 2007. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 146(4):519–524
- Göğüş, A.K., ve Kolsarıcı, N.** 1992. Su Ürünleri Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları, No: 358, Ankara, 281 s.
- Göktaş, Ö.,** 2007. Kadmiyumun neden olduğu oksidatif stres üzerine resveratrolün koruyucu etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Malatya, 72s.
- Grimanis, A.P., Zafiropoulus, D., Papadopolou, C., Economou, T. Vassilaki, M., 16.Grimani,** 1982. Trace elements in *Mytilus galloprovincialis* from the Gulf of Greece. *VI. jour. poll. cannes. CIESM*, 319-322
- Güngördü, A.,** 2007. Karakaya Baraj Gölü'nün su kalitesinin ekotoksikolojik yaklaşımla değerlendirilmesi. *Doktora Tezi*, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Malatya, 135s.
- Hasspieler, B.M., Behar, J.V., Carlson, D.B., Watson, D.E., ve Di Giulio R.T.** 1994. Susceptibility of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and brown bullhead (*Ameriurus nebulosus*) to oxidative stress: a comparative study. *Aquat Toxicol* 28(1–2):53–64
- Hfaiedh, N., Allagui, M.S., Hfaiedh, M., Feki, A.E., Zourgui, L., ve Croute, F.,** 2008. Protective effect of cactus (*Opuntia ficus indica*) cladode extract upon nickel-induced toxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 46:3759–3763
- Hornbuckle, K.C., Achman, D.R., ve Eisenreich, S.J.** 1993. Over-water and over-land polychlorinated bipheyls in Gren Bay, Lake Michigan, *Environmental Science and Technology*, 87-98
- Hu, H.,** 2000. Exposure to metals. Primary care: clinics in office practice, 27(4): 983-996.

- Hussain, T., Shukla, G., ve Chandra, S.V.** 1987. Effects of cadmium on superoxide dismutase and lipid peroxidation in liver and kidney of growing rats: in vivo and in vitro studies. *Pharm Toxicol* 60:355–359
- Hwang, C., Sinskey, A.J., ve Lodish, H.F.** 1992. Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic-reticulum. *Science* 57:1496– 1502
- Järup, L.** 2003. Hazards of metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68, 167-182.
- Katalay, S., Parlak, H.,** 2002. Su kirliliğinin, *Gobius niger* Linn., 1758 (Pisces: Gobiidae)’in kan parametreleri üzerine etkileri. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 19 (12):115-121.
- Kayhan, F.E.,** 2006. Su ürünlerinde kadmiyumun biyobirikimi ve toksisitesi. *Su Ürünleri Dergisi* 23, (1-2): 215–220
- Kazancı, N., Girgin, S., Dügel, M., Oğuzkurt, D.,** 1997. Akarsuların çevre kalitesi yönünden değerlendirilmesinde ve izlenmesinde biyotik indeks yöntemi. İmaj Yayıncılık, Ankara, 100.
- Kocataş. A., Geldiay, R.** 1979. Pollusyonun İzmir Körfezi’nde neden olduğu bazı biyolojik ve hidrografik etkileri. *TUJBB Bülteni*, 11 : 89-97.
- Köse, E.,** 2007. Enne Barajı’nda yaşayan balıklarda ağır metal birikiminin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya 70s.
- Küçükgül, E.Y.,** 1997. Çanakkale Boğazı’nda Oluşan Gemi Kazalarında Denize Petrol Dökülmesi ve Alınacak Önlemler, Yerleşim ve Çevre Sorunları; Çanakkale İli, Editör: Ayşe Filibeli.
- Lee, K.W., Raisuddin, S., Hwang, D.S., Park, H.G., ve Lee, J.S.** 2007 Acute toxicities of trace metals and common xenobiotics to the marine copepod *Tigriopus japonicus*: evaluation of its use as a benchmark species for routine ecotoxicity tests in Western Pacific coastal regions. *Environ Toxicol* 22:532–538
- Mavelli, I., ve Rotilio, G.,** 1984. Oxygen free radicals and tumor cells. *Icosanoids and Cancer*: 1-10.
- Meister A., ve Anderson M.E.** 1983. Glutathione. *Annu Rev Biochem* 52:711–760
- Merlini, M.,** 1980. Some considerations on heavy metals in the marine hydrosphere – biosphere. *Thalassia Jugoslavica*, 16 (2 – 4), pp: 367-376.
- Moreno, I., Pichardo, S., Jos. A., Gomez-Amores, L., Mate, A., Vazquez, C.M., ve Camean, A.M.,** 2005. Antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rats exposed to microcystin-LR administered intraperitoneally. *Toxicon* 45(4):395–402

- Nigam, D., Shukla, G.S., ve Agarwal, A.K.,** 1999 Glutathione depletion and oxidative damage in mitochondria following exposure to cadmium in rat liver and kidney. *Toxicol Lett* 106:151–157
- Oruç, E.Ö., ve Usta, D.,** 2007. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environ Toxicol Pharmacol* 23(1):48–55
- Özbey, E.,** 2009. Radyasyona dirençli *Deinococcus radiodurans* ile *Escherichia coli*'de radyasyonun antioksidan sistem üzerine etkisinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya. 106s.
- Özbolat, G. ve Tuli, A.,** 2016. Ağır metal toksisitesinin insan sağlığına etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 25(4), 502-521.
- Paller, M.S.,** 1991. Hydrogen peroxide and ischemic renal injury: effect of catalase inhibition. *Free Radical Biology and Medicine*, 10(1): 29-34.
- Phillips, D.J.H.,** 1980. Quantitative aquatic biological indicators, Applied Science Publishers LTD, London, Pollution Monitoring Series, Ed. byk. Mellon by.
- Plusquellec, A.** 1995. Fisheries products, fish, crustaceans, and shellfish. (ed. C. M. Bourgeois ve J. Y. Leveali) Microbiological control for Food and Agricultural products, VCH Publishhershers, NY, P 437-443.
- Raisuddin, S., Kwok, K.W.H., Leung, K.M.Y., Schlenk, D., ve Lee, J.-S.,** 2007. The copepod *Tigriopus*: a promising marine model organism for ecotoxicology and environmental genomics. *Aquat Toxicol* 83:161–173
- Regoli, F., Nigro, M., ve Orlando, E.,** 1998. Lysosomal and antioxidant responses to metals in the Antarctic scallop *Adamussium colbecki*. *Aquat Toxicol* 40(4):375–392
- Tokatlı, C.,** 2012. Emet Çayı su, sediment ve bazı balık türlerinde ağır metal birikimlerinin araştırılması. *Doktora Tezi*, Dumlupınar Üniversitesi.
- Türkoğlu, M.,** 2008. Van Gölünden alınan su, sediment ve İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas, 1811) örneklerinde bazı ağır metal düzeylerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, Van. 59s.
- Regoli F., Nigro M., Orlando E.** 1998. Lysosomal and antioxidant responses to metals in the Antarctic scallop *Adamussium colbecki*. *Aquat Toxicol* 40(4):375–392

- Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R., ve Raisuddin, S., 2003.** Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicol Environ Saf* 56(2):295–301
- Seo, J.S., Lee, Y.M., Park, H.G., ve Lee, J.S., 2006** The intertidal copepod *Tigriopus japonicus* small heat shock protein 20 gene (Hsp20) enhances thermotolerance of transformed *Escherichia coli*. *Biochem Biophys Res Commun* 340:901–908
- Serdar, O., Aydın, R., ve Çalta, M. 2019.** The evaluation in different temperature of acute toxic effect of cadmium on *Gammarus pulex* (Freshwater Amphipoda). *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(3), 366-370.
- Serdar, O., Yildirim, N.C., Tatar, S., Yildirim, N., ve Ogedey, A., 2018.** Antioxidant biomarkers in *Gammarus pulex* to evaluate the efficiency of electrocoagulation process in landfill leachate treatment. *Environ Sci Pollut Res* 25:12538-12544
- Sobjak, T.M., Romão, S., do Nascimento, C.Z., dos Santos, A.F.P., Vogel, L., ve Guimarães, A.T.B., 2017.** Assessment of the oxidative and neurotoxic effects of glyphosate pesticide on the larvae of *Rhamdia quelen* fish. *Chemosphere* 182:267–275
- Stancova, V., Plhalova, L., Blahova, J., Zivna, D., Bartoskova, M., Siroka, Z., ... ve Svobodova, Z., 2017.** Effects of the pharmaceutical contaminants ibuprofen, diclofenac, and carbamazepine alone, and in combination, on oxidative stress parameters in early life stages of tench (*Tinca tinca*). *Veterinární medicína*, 62(2), 90-97.
- Stinson, T.J., Jaw, S., Jeffery, E.H., ve Plewa, M., 1992.** The relationship between nickel chloride-induced peroxidation and DNA strand breakage in rat liver. *Toxicol Appl Pharmacol* 117:98–103
- Strubelt, O., Kremer, J., Tilse, A., Keogh, J., Peutz, R., ve Younes, M., 1996.** Comparative studies on the toxicity of mercury, cadmium and copper toward the isolated perfused rat liver. *J Toxicol Environ Health* 47:267–283
- Tatar, Ş., Cıkıkcıoğlu Yildirim, N., Serdar, O., Yildirim, N., ve Ogedey, A., 2018** The using of *Gammarus pulex* as a biomonitor in ecological risk assessment of secondary effluent from municipal wastewater treatment plant in Tunceli, Turkey. *Hum Ecol Risk Assess Int J* 24:(3) 819–829
- Thomas, P.C., ve Murthy, T.L., 1976.** Studies on the impact of a few organic pesticides on certain fish enzymes. *Indian J Anim Sci* 46(11):619–624

- UNEP**, 1993. Guidelines for monitoring chemical contaminants in the sea using marine organisms, reference method for marine pollution studies.
- Uysal, H., ve Tuncer, S.**, 1982. Etude des metaux lourds chez les mollusques dans les differentes zones de la baide d'İzmir (Turquie). VI. Journ. Ed. Poll. Pp. 307-313.Cannes.
- Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., ve Beyersmann, D.**, 2003. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology*, 192(2): 95-117.
- Wang, M., ve Wang, G.** 2010. Oxidative damage effects in the copepod Tigriopus japonicus Mori experimentally exposed to nickel. *Ecotoxicology*, 19(2), 273-284.
- Wekell, M. M., R. Manger, K. Colburn, A. Adams ve W, Hill.** 1994. Microbiological quality of seafoods (ed. F. Shahidi ve J. R. Chemistry, Processing Technology and Quality, Blackie Academic & Professional, Glasgow, p 196-219. Botta) Viruses, Bacteria and Parasites. Sea foods.
- Wildi, W., Dominik, J., Loizeau, J. L., Thomas, R. L., Favarger, P. Y., Haller, L., Perroud, A., ve Peytremann, C.**, 2004. River, reservoir and lake sediment contamination by heavy metals downstream from urban areas of Switzerland. *Lakes & Reservoirs: Research & Management*, 9(1): 75-87.
- Yanbeyi, S.**, 1999. Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, *Doktora Tezi*, Samsun, 88s.
- Yildirim, N.C., Tanyol, M., Yildirim, N., Serdar, O., ve Tatar, S.**, 2018. Biochemical responses of *Gammarus pulex* to malachite green solutions decolorized by *Coriolus versicolor* as a biosorbent under batch adsorption conditions optimized with response surface methodology. *Ecotoxicol Environ Saf* 156:41–47
- Zhang, J., Shen, H., Wang, X., Wu, J., ve Xue, Y.** 2004 Effects of chronic exposure of 2, 4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. *Chemosphere* 55(2):167–174

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ahmet Bedrettin ALİŞER

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- Yıl, Üniversite, Enstitü/Fakülte, Bölüm, Anabilim Dalı

2016, Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği

