

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ADIGÜZEL VE VALİ RECEP YAZICIOĞLU BARAJLARI İLE
GÖKPINAR ÇAYI'NDA BULUNAN SAZAN BALIĞININ (*Cyprinus
carpio*) DOKULARINDA BAZI BİYOMARKÖR DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SERDAR POLAT

DENİZLİ, OCAK - 2015

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**ADIGÜZEL VE VALİ RECEP YAZICIOĞLU BARAJLARI İLE
GÖKPINAR ÇAYI'NDA BULUNAN SAZAN BALIĞININ (*Cyprinus
carpio*) DOKULARINDA BAZI BİYOMARKÖR DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SERDAR POLAT

DENİZLİ, OCAK - 2015

KABUL VE ONAY SAYFASI

Serdar POLAT tarafından hazırlanan “**ADIGÜZEL VE VALİ RECEP YAZICIOĞLU BARAJLARI İLE GÖKPINAR ÇAYI'NDA BULUNAN SAZAN BALIĞININ (*Cyprinus carpio*) DOKULARINDA BAZI BİYOMARKÖR DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı **07/01/2015** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüriler tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Prof. Dr. Mustafa DURAN

Pamukkale Üniversitesi

.....

Üye

Doç. Dr. Şevki ARSLAN

Pamukkale Üniversitesi

.....

Üye

Yrd. Doç. Dr. Adile SARI

Pamukkale Üniversitesi

.....

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Orhan KARABULUT
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından 2011FBE067 no.lu proje ile desteklenmiştir.

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

Serdar POLAT

ÖZET

ADIGÜZEL VE VALİ RECEP YAZICIOĞLU BARAJLARI İLE GÖKPINAR ÇAYI'NDA BULUNAN SAZAN BALIĞININ (*Cyprinus carpio*) DOKULARINDA BAZI BİYOMARKÖR DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Serdar POLAT

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. Mustafa DURAN

DENİZLİ, Ocak – 2015

Bu çalışmada, Denizli il sınırları içerisinde yer alan Gökpınar Çayı, Adıgüzel ve Gökpınar Vali Recep Yazıcıoğlu Baraj göllerinden Mayıs 2014-Eylül 2014 tarihleri arasında yakalanan sazan balıklarının (*Cyprinus carpio* L.) kas, karaciğer ve solungaçlarından sitozolik ve mikrozomal fraksiyonlar elde edilmiştir. Bu fraksiyonlarda; Asetilkolinesteraz (AChE), Glutasyon S-Transferaz (GST) ve Etoksirezorufin *O*-Deetilaz (EROD) aktiviteleri ile Tiyobarbiturik Asit Reaktif Ürünleri (TBARS) miktarları ve Metallotiyonin (MT) içerikleri ölçülmüştür. Böylelikle istasyonlar arasında su kalitesi farkı biyomarkörler yardımıyla ortaya çıkarılmış ve balık toksisite testlerinden yaygın olarak kullanılan AChE, GST, EROD, MT ve TBARS yöntemlerinden hangilerinin kas, karaciğer ve solungaç dokularında daha belirleyici olduğu ortaya konulmuştur.

Çalışmanın sonucunda GST aktivitesi karaciğer dokusu, diğer dokularla istatistiksel olarak $p<0,001$ seviyesinde anlamlı farklılık göstermektedir. TBARS miktarlarında ise kullanılan dokunun önemli olduğu ve karaciğer dokusu, diğer dokularla $p<0,001$ seviyesinde, kas ve solungaç arasında ise $p<0,05$ seviyesinde anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir. Fakat MT içerikleri ile AChE ve EROD aktivitelerinde dokular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Ağır metal kirliliği açısından Adıgüzel Barajı'nın diğer istasyonlara göre oldukça kirli olduğu PAH ve pestisit açısından ise Adıgüzel Barajı ve Gökpınar Çayı'nın, Gökpınar Barajı'na kıyasla daha fazla kirli olduğu belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: *Cyprinus carpio*, AChE, GST, EROD, MT, TBARS, kas, karaciğer, solungaç

ABSTRACT

ASSESSMENT OF SOME BIOMARKER LEVELS IN CARP TISSUES IN GÖKPINAR VALİ RECEP YAZICIOĞLU, ADIGÜZEL DAM LAKES AND GÖKPINAR STREAM

Serdar POLAT

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY

SUPERVISOR: Prof. Dr. Mustafa DURAN

DENİZLİ, January – 2015

In this study, activity of Acetylcholinesterase (AChE), Glutathione S-transferases (GST), Ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) and quantity of Metallothionein (MT) and Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were measured from microsomes and cytosol which obtain from carps (*Cyprinus carpio* L.) liver, muscle and gill which caught in Gökpınar Stream, Gökpınar Vali Recep Yazıcıoğlu Dam and Adıgüzel Dam sampling sites in between May 2014 and September 2014. The aim of this study is to expose the difference in water quality between designated sampling sites by using biomarkers, which is the more decisive method that became common in use of fish toxicity test, AChE, GST, EROD, MT and TBARS in liver, gills or muscles.

In conclusion, the measured GST activity and amount of TBARS in carp, statistically significant difference was observed between the liver and the other tissues (muscle, gill) ($p<0,001$). Statistically significant difference were also determined among muscle and gill tissues ($p<0.05$). According to result of AChE, EROD and MT, no significant difference was observed between the distinct tissues. The Adıgüzel Dam's MT results can be reported in terms of heavy metal pollution which is quite in threatened comparing to other sampling sites. According to AChE and EROD activity results, we considered that Adıgüzel Dam and Gökpınar Stream to be more contaminated than Gökpınar Vali Recep Yazıcıoğlu Dam.

KEYWORDS: *Cyprinus carpio*, AChE, GST, EROD, MT, TBARS, muscle, liver, gill

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR	ix
ÖNSÖZ.....	xi
1. GİRİŞ	1
1.1 Canlılarda Stres Oluşturan Faktörler	4
1.1.1 Ağır Metaller.....	4
1.1.2 Pestisitler.....	5
1.1.3 Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar.....	6
1.1.4 Serbest Radikallerin Oluşumu ve Oksidatif Stres	7
1.2 Biyomonitör Çalışmalarında Kullanılan Molekül ve Enzimler.....	7
1.2.1 Metalloprotein.....	7
1.2.2 Esterazlar	8
1.2.2.1 Asetilkolinesterazlar.....	9
1.2.3 Sitokrom P450 Monooksijenazlar	10
1.2.3.1 CYP1 Ailesi ve CYP1A1	10
1.2.4 Glutatyon S-Transferaz.....	11
1.2.5 Lipid Peroksidaz.....	12
1.3 Çalışmanın Amacı.....	13
2 YÖNTEM	14
2.1 Araştırma Alanı	14
2.1.1 Gökpınar Çayı Örnekleme Noktası	14

2.1.2	Gökpınar Vali Recep Yazıcıoğlu Baraj Gölü Örnekleme Noktası	15
2.1.3	Adıgüzel Baraj Gölü Örnekleme Noktası.....	16
2.2	Fizikokimyasal Verilerin Belirlenmesi	16
2.3	Balıkların Tespiti	17
2.4	Biyomarkör Çalışmaları İçin Balıklardan Sitozolik ve Mikrozomal Fraksiyonlarının Elde Edilmesi	19
2.5	Protein Miktarı Tayini.....	21
2.6	Metallotiyonin İçerik Tayini.....	21
2.7	Asetilkolinesteraz Aktivite Tayini	22
2.8	Etoksirezorufin- <i>O</i> -deetilaz Aktivite Tayini.....	22
2.9	Glutasyon-S-Transferaz Aktivite Tayini	23
2.10	Lipid Peroksidasyon Ölçümü (TBARS Yöntemi)	24
2.11	İstatistiksel Analizler.....	25
3	BULGULAR	26
3.1	Fizikokimyasal Değerler	26
3.2	Aktivite ve Molekül Ölçüm Sunuları	27
3.2.1	MT İçeriği	28
3.2.2	AChE Aktivitesi	31
3.2.3	EROD Aktivitesi	33
3.2.4	GST Aktivitesi	36
3.2.5	TBARS İçeriği	38
4	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
5	KAYNAKLAR.....	53
6	ÖZGEÇMİŞ	66

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2. 1: Gökpınar Çayı örnekleme noktası.....	15
Şekil 2. 2: Gökpınar Baraj Gölü örnekleme noktası.....	15
Şekil 2. 3: Adıgüzel Baraj Gölü örnekleme noktası	16
Şekil 2. 4: Fanyalı sazan ağı.....	18
Şekil 2. 5: Samus 725 elektrofischer	18
Şekil 2. 6: Balıkların diseksiyonu ve arındırma işlemi	19
Şekil 3. 1: <i>Cyprinus carpio</i> balık türüne ait farklı doku ve istasyonlardaki ortalama MT içerikleri ve standart sapmaları (farklı zamanlarda ve aynı istasyonda yakalanan balıklardaki AChE aktivitelerinin ortalamaları alınarak) verilmiştir.....	29
Şekil 3. 2 : MT içeriklerinin tüm istasyonlardaki toplam değerlerinin dokulara göre dağılımı	30
Şekil 3. 3: <i>Cyprinus carpio</i> balık türüne ait farklı doku ve istasyonlardaki ortalama AChE aktiviteleri ve standart sapmaları (farklı zamanlarda ve aynı istasyonda yakalanan balıklardaki AChE aktivitelerinin ortalamaları alınarak) verilmiştir.....	31
Şekil 3. 4: AChE aktivitesinin tüm istasyonlardaki toplam değerlerinin dokulara göre dağılımı	33
Şekil 3. 5: <i>Cyprinus carpio</i> balık türüne ait farklı doku ve istasyonlardaki ortalama EROD aktiviteleri ve standart sapmaları (farklı zamanlarda ve aynı istasyonda yakalanan balıklardaki EROD aktivitelerinin ortalamaları alınarak) verilmiştir.....	34
Şekil 3. 6: EROD aktivitesinin tüm istasyonlardaki toplam değerlerinin dokulara göre dağılımı	35
Şekil 3. 7: <i>Cyprinus carpio</i> balık türüne ait farklı doku ve istasyonlardaki ortalama GST aktiviteleri ve standart sapmaları (farklı zamanlarda ve aynı istasyonda yakalanan balıklardaki GST aktivitelerinin ortalamaları alınarak) verilmiştir.....	36
Şekil 3. 8: GST aktivitesinin tüm istasyonlardaki toplam değerlerinin dokulara göre dağılımı	38
Şekil 3. 9: <i>Cyprinus carpio</i> balık türüne ait farklı doku ve istasyonlardaki ortalama TBARS miktarları ve standart sapmaları (farklı zamanlarda ve aynı istasyonda yakalanan balıklardaki TBARS miktarlarının ortalamaları alınarak verilmiştir).	40
Şekil 3. 10: TBARS içeriklerinin tüm istasyonlardaki toplam değerlerinin dokulara göre dağılımı	41

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2. 1: Parametreler ve ölçüm cihazları.....	17
Tablo 2. 2: Metalotiyonin aktivite ölçüm karışımının içeriği.....	22
Tablo 2. 3: Asetilkolinesteraz aktivite ölçüm karışımının içeriği.....	22
Tablo 2. 4: EROD aktivite ölçüm karışımının içeriği.	23
Tablo 2. 5: GST aktivite ölçüm karışımının içeriği.	24
Tablo 3. 1: Temmuz, Ağustos ve Eylül 2014 aylarına ait fizikokimyasal parametre ölçüm sonuçları.....	27
Tablo 3. 2: Adıgüzel Barajı, Gökpınar Barajı ve Gökpınar Çayı'nda farklı dokularda ölçülen; AChE, GST ve EROD aktiviteleri ile MT ve TBARS içeriği	28
Tablo 4. 1: Adıgüzel Barajı, Gökpınar Barajı ve Gökpınar Çayı'nda farklı dokularda ölçülen ; AChE, GST ve EROD aktiviteleri ile MT ve TBARS içerikleri . ($\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama \pm Standart sapma şeklinde tabloda gösterilmiştir.).....	45

SEMBOL LİSTESİ

μ	:	Mikron
μg	:	Mikrogram
μl	:	Mikrolitre
μM	:	Mikromolar
μm	:	Mikrometre
μS	:	Mikrosimens
$^{\circ}\text{C}$:	Santigrat derece
Ag	:	Gümüş
CaCl_2	:	Kalsiyum klorür
CCl_4	:	Karbon tetra klorür
Cd	:	Kadmiyum
cm	:	Santimetre
CO	:	Karbonmonoksit
Cu	:	Bakır
Da	:	Dalton
dak	:	Dakika
dH_2O	:	Distile su
dO_2	:	Oksijen doygunluğu
g	:	Gram
GWh	:	Giga Watt Hertz
H_2O_2	:	Hidrojen peroksit
HCl	:	Hidroklorikasit
Hg	:	Civa
hm^3	:	Hektometreküp
HO	:	Hidroksil radikali
kg	:	Kilogram
km	:	Kilometre
km^2	:	Kilometrekare
l	:	Litre
m	:	Metre

m ²	:	Metrekare
m ³	:	Metreküp
mg	:	Miligram
ml	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
mM	:	Milimolar
mV	:	Milivolt
MW	:	Mega Watt
N	:	Azot
Na ⁺	:	Sodyum
NaCl	:	Sodyum klorür
NaOH	:	Sodyum hidroksit
ng	:	Nanogram
nm	:	Nanometre
nmol	:	Nanomol
O ₂	:	Oksijen
Pb	:	Kurşun
pmol	:	Pikamol
Se	:	Selenyum
sn	:	Saniye
SO ₂	:	Çözünmüş oksijen
U	:	Ünite
Zn	:	Çinko

KISALTMALAR

1O ₂	:	singlet oksijen
AChE	:	Asetilkolinesteraz
ATC	:	Asetiltiyokolin
B(a)P	:	Benzo(a)piren
BHT	:	Bütil hidroksi toluen
BSA	:	Sığır serum albumin
CaE	:	Karboksil esterazlar
CAT	:	Katalaz
CB	:	Karbamat
CDNB	:	1-kloro 2,4-dinitrobenzen
ChE	:	Kolinesterazlar
CYP	:	Sitokrom
CYP1A1	:	Sitokrom P4501A1
DDT	:	Dikloro difenil trikloroethan
DTNB	:	5,5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit
EDTA	:	Etilendiamin tetraasetik asit
EROD	:	Etoksirezorufin- <i>O</i> -deetilaz
Folin	:	Fosfomolibdik-fosfotungstik asit
GR	:	Glutasyon redüktaz
GSH	:	Glutasyon
GSH-Px	:	Glutasyon peroksidaz
GST	:	Glutasyon S-Transferaz
Kpi	:	Potasyum fosfat tamponu
LOO	:	Lipid peroksit
LOOH	:	Lipid peroksit
LPO	:	Lipid reroksidaz

MC	:	Metil kolantren
MDA	:	Malondialdehit
MT	:	Metallotiyonin
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
OP	:	Organofosfor
ORP	:	Oksidasyon redüksiyon potansiyeli
PAH	:	Polisiklik aromatik hidrokarbon
PCB	:	Poliklorlubifenil
PMSF	:	Fenil metan sülfonil florid
PUFA	:	Poliansatüre yağ asitleri
RNA	:	Ribo nükleik asit
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
TBA	:	Tiyobarbitürik asit
TBARS	:	Tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri
TCDD	:	Tetraklorodibenzo-p-dioksin
TDS	:	Askıda katı madde
UV	:	Ultra viyole
ϵ -ACA	:	Epsilon-amino kaproik asit

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bana her konuda göstermiş oldukları ilgi, destek, anlayış ve yardımları için sayın hocalarım Prof. Dr. Mustafa DURAN, Yrd. Doç. Dr. Adile SARI ve Yrd. Doç. Dr. Gürçay Kıvanç AKYILDIZ'a teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunuyorum.

Laboratuvar çalışmalarım süresince her türlü yardım ve desteğini, bilgilerini esirgemeyen ayrıca laboratuvar ve malzemelerini kullandığım sayın hocalarım Prof. Dr. Alaattin ŞEN ve Doç. Dr. Şevki ARSLAN'a teşekkür ve şükranlarımı sunuyorum.

Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Daire Başkanlığı'na maddi destekleri için teşekkürlerimi sunuyorum.

Tüm eğitim hayatımda olduğu gibi yüksek lisans eğitimim esnasında tezimin her aşamasında göstermiş oldukları maddi ve manevi desteklerinden dolayı canım anneme, babama ve kardeşlerime şükranlarımı ve sevgilerimi sunuyorum.

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun çok hızlı artması, sanayi ve teknolojinin aşırı gelişmesi, ayrıca çevre bilincinin yeterince yerleşmemesi veya yaygınlaşmaması gibi nedenler dünyada içilebilir su miktarının giderek azalmasına sebep olmaktadır. Nüfus artışına paralel olarak artan gıda ihtiyacı, ürün kalitesinin ve miktarının artırılmasını gerektirmekte; bunun sonucunda ise kimyasal gübre ve ilaç kullanımı giderek artmaktadır. Kullanılan kimyasal madde kalıntılarının sulama suları ile tarımsal alanların çevrelerinde bulunan akarsular ve yer altı sularına karışması ise ciddi derecede çevre kirliliğine neden olmaktadır (Kumbur ve diğ. 2008, Causape ve diğ. 2004, Huber ve diğ. 2000). Bunların yanısıra, içilebilir su kaynaklarının sorumsuzca kirlenmesi, geri dönüşümü olanaksız sorunların yaşanmasına zemin hazırlamaktadır (Akın ve Akın 2007, Atalık 2006).

Su ortamlarından göl, nehir, deniz ve okyanuslar insanlar tarafından uzun bir süredir görmezden gelinerek sınırsız kapasitedeki atık bölgeleri olarak görülmektedir. Endüstriyel atık suların, zirai kaynaklı suların ve evsel atık suların sahil sularına geniş ölçüde deşarjı dünyanın birçok kesiminde giderek yaygınlaşmaktadır. Bunun sonucu olarak, sahil ve iç kesimlerdeki su ortamlarında kirlilik hızla artmaktadır. Maalesef su ortamları, günümüzde atıklar için ideal bir deşarj yeri olarak kabul edilerek, basit ve ucuz bir bertaraf seçeneği olarak geniş uygulama görmektedir. Gelişmiş ülkeler de dahil olmak üzere kabul edilen bu kavram zehirli kimyasal maddelerin biyolojik birikiminin ve bazı kirleticilerin su ortamlarında uzun süre kalması nedeniyle ekolojik zehirlenmenin artarak bugünkü vahim duruma gelmesine yol açmıştır (Taylan ve Özkoç 2007).

Genellikle endüstri atık sularından gelen zehirli bileşikler ile suyun oksijen dengesini bozan maddeler akarsuyun biyolojik aktivitesinin yok olmasına veya yavaşlamasına neden olmaktadır. Ancak akarsular dinamik bir yapıya sahip olduklarından ortama herhangi bir yabancı madde girdiğinde akarsu kendi kendini doğal bir arıtımla temizlemeye başlamakta ve belli miktardaki kirliliği özümleyebilmektedir. Akarsuyun kendini temizleme kapasitesi, akarsu debisine, zamana, su sıcaklığına ve havalanmaya bağlıdır (Göksu 2003). Göl ve baraj gibi

durağan sistemlerde ise bu giderim daha yavaş gerçekleşmektedir. Özellikle barajlarda, nehrin yukarisından akan su topraktan süzülen kimyasalları göl yatağında biriktirebilir. Biyolojik birikim, alt düzey üreticilerin toksinleri absorbe etmesiyle ortaya çıkar ve buradan üst düzey tüketicilere besin yoluyla geçerek ölümcül miktarlarda birikebilir. Canlıda biriken bu potansiyel kimyasallar bunlar üzerinden balıklara ve balık yiyen insanlara sindirim yoluyla zarar verebilir (Baxter 1977).

Barajlar, besin değişim özellikleri başta olmak üzere akarsularda canlıların oluşumunu ve dağılımını düzenleyen mevcut hız, sıcaklık ve alt tabaka (Hynes 1970) da dahil olmak üzere habitat özellikleri gibi akarsu sisteminin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirmektedir (Poff ve Hart 2002). Bu değişikliklerin çoğu anında gerçekleşir ve açıkça fark edilebilir. Bunun yanında diğer değişimler kademelidir ve anlaşılması zordur. Örneğin termal rejim değişiklikleri, su kalitesi ve su toprak ilişkilerinin, balıklar ve diğer fauna için besin zincirini etkilemesi bakımından uzun zamanlı etkileri vardır. Ayrıca nehrin akış hızının düşmesiyle birlikte oluşan hipoksik koşullar var olan ekosistemin değişmesine sebep olur. Örneğin, planktonlar daha hızlı çoğalırlar ve özellikle çürüyen bitkilerin besinleri suya karıştıktan sonra üremeleri hızlanır (Baxter 1977). Barajlar nehir boyunca uzanan birçok doğal süreci de yok edebilirler. Örneğin; su altında kalan tüm karasal biyotop ortadan kalkar, ayrıca kurulan setler, bazı sucül canlıların göçlerini engeller. Barajlar sadece membada değil barajın çok uzaklarında bile önemli ekosistem değişikliklerine neden olmaktadır. Örneğin nehirdeki sediment taşınımındaki değişimler akış planını ve hatta kıyı morfolojisini bile yüzlerce kilometre değiştirebilir (McCartney ve diğ. 2001).

Temiz suya olan ihtiyacın artmasıyla birlikte tatlı suların fizikokimyasal özelliklerinin bilinmesi suların planlı bir şekilde kullanılabilmesi açısından önemlidir. Bu yüzden son yıllarda su sistemlerinin kalitesinin belirlenmesi için yapılan çalışmalar artış göstermiştir (Bulut ve diğ 2012, Yang ve diğ. 2009, Shrestha ve diğ. 2007, Başaran ve Egemen 2006).

Ekolojik sistemlerde su kirliliğinin belirlenmesi amacıyla biyolojik parametreler ve suyun kimyasal ölçümleri günümüze kadar yaygın olarak kullanılmıştır (Hynes 1993). Ancak, kimyasal veriler kirleticilerin su içindeki canlılar üzerindeki etkisini gösterememektedir (Webb ve Gagnon 2002). Bundan dolayı

biyomarkörler kullanılarak yapılan biyolojik izleme yöntemleri araştırmacılar tarafından giderek ilgi çekici olmaya başlamış ve su kalitesinin uzun süreli değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Belli bir habitatta metallerin ve diğer kimyasal maddelerin biyolojik olarak kullanılabilirlikleri ve birikimlerinde “biyomonitör” ve “biyoindikatör” gibi terimler tercih edilir. Biyoindikatör, bir türdeki ekolojik etkinin yalnızca yokluğunu ya da var olduğunu tanımlamak için; biyomonitör ise organizmanın solunum hızı, büyümedeki değişiklikler gibi biyolojik, kimyasal, fiziksel ya da davranışsal değişkenlikler ile ekolojik değişkenliğin derecesini gösterir (Taylan ve Özkoç 2007, Rainbow 1995). İndikatör organizmalar zararlı maddelerin alınımı, atılımı ve biyokullanılabilirliğinin izlenmesinde ve toksik etkilerin belirlenmesinde kullanılabilir. Buldukları su ortamları ile doğrudan temas halinde olduklarından su ortamındaki kirleticileri alarak bünyelerinde biriktirebilirler ve bu sayede ortamın kirlilik seviyesi hakkında bilgi verebilirler (Taylan ve Özkoç 2007).

Su, sediment ya da uygun biyoindikatör organizmalar kullanılarak geliştirilen çeşitli metotlarla kirliliğin boyutları saptanabilmektedir. Özellikle enzim aktivite ölçümleri ile düşük seviyelerdeki kirliliği saptamak için kullanılan biyomarkörler, akuatik ekosistemlerin ekolojik risk değerlendirmelerinde gün geçtikçe daha fazla kullanılmaktadır. Bu biyomarkörler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), poliklorlu bifeniller (PCB), pestisitler ya da ağır metaller gibi ksenobiyotiklerce neden olunan etkileri ve maruziyet oranını saptamak için potansiyel öneme sahiptir. Çeşitli tipte çevresel kirleticilere maruz kalan canlılarda, direnç mekanizması ile ilgili enzimlerden Esterazlar, P450 bağımlı Monooksijenazlar, Glutathion-S-Transferazlar (GST) biyomarkör olarak en çok kullanılanlarıdır. Böylece, biyolojik organizasyonlarda yüksek seviyelerdeki potansiyel zarar etkileri için erken tespit yapılabilmektedir (Callaghan ve diğ. 2002, McCarthy ve Shugart 1990).

Balık toksisite testlerinde kullanılan biyoindikatörler, metabolik faaliyetleri etkileyen kontaminasyon ve su kirliliğinin izlenmesinde kullanılır. Bu metabolik faaliyetler, canlı bünyesinde bulunan kimyasal bileşiklerin spesifik gruplarıyla kirletici arasında meydana gelen temas ile teyit edilir (Haluzova ve diğ. 2010). Örneğin, doğal sularda bulunan pestisitler, balıklarda asetilkolinesteraz (AChE) inhibisyonuna neden olmakla birlikte enzimin tekrar sentezini (Szabo ve diğ. 1992)

ve hormonal durumunu (Guhathakurta ve Bhattacharya 1988) da etkilemekte ve kas proteinleri ile ribo nükleik asit (RNA) seviyelerini azaltmaktadır. Arı ve Dere (2002) yaptıkları çalışmada aromatik hidrokarbon olan benzenin artan dozlara ters orantılı olarak GST aktivitesinin azaldığını tespit etmişlerdir. Benzer başka bir çalışmada Parvez ve diğ. (2006), çeşitli ağır metal, dikloro difenil trikloroethan (DDT) ve benzen heksakolorür ile kirlenen nehirden balık ölümleri sırasında toplanan ve ölümlerin durmasından iki ay sonra toplanan *Wallago attu* 'nun böbrek, karaciğer ve solungaç dokularında glutatyon (GSH) miktarı ve lipid peroksidasyon düzeyi ölçülmüştür. Sonuç olarak iki ay sonra alınan balıklarda kirleticilerin düzeyinin azalmasıyla birlikte GSH miktarının arttığını, lipid peroksidasyonunun ise azaldığını bildirmişlerdir.

1.1 Canlılarda Stres Oluşturan Faktörler

1.1.1 Ağır Metaller

Ağır metaller yerkabuğunda doğal olarak bulunan bileşiklerdir. Bozulmaz ve yok edilemezler. Küçük bir miktara kadar vücudumuza gıdalar, içme suyu ve hava yolu ile girebilirler. Eser elementler gibi bazı ağır metaller (örneğin bakır, selenyum, çinko) insan vücudunun metabolizmasını sürdürmek için gereklidir. Bununla birlikte, biyobirikime eğimli olan ağır metaller yüksek konsantrasyonlarda toksik ve tehlikeli olabilirler.

Ağır metallerin organizmaların vücuduna girmesi ve depolanması metabolize edilmelerinden veya atılmalarından daha hızlı gerçekleşir. Ağır metal kirliliği canlılarda önemli sorunlara yol açmaktadır. Canlılarda sağlık sorunlarına neden olan başlıca ağır metaller şunlardır:

Krom (Cr): Ciltte ülserasyon, alerjik reaksiyon, solunum sisteminde, böbrek, karaciğer, mide, bağırsak sisteminde tahribat, akciğer kanseri.

Kurşun (Pb): Beyin tahribi ve ölüm, körlük, böbrek tahribi ve kanseri, bellek bozukluğu, akciğer, mide, bağırsak kanserleri, düşük ve kısırılık.

Kadmiyum (Cd): Karın ağrısı, mide bulantısı ve ishal, akciğer kanseri, solunum yolu tahribatı, karaciğer tahribatı, sinir ve beyin tahribatı.

Çinko (Zn): Çeşitli deri hastalıkları, solunum yollarında tahriş ve zatürre, nefes almada zorluk, kanlı balgam, tüm organlarda kanser.

Bakır (Cu): Görme bozukluğu ve kaybı, karaciğer tahribatı.

1.1.2 Pestisitler

Evlerde ve tarım amaçlı en çok kullanılan insektisitler karbamatlar, piretroidler ve organofosfatlara aittir. Bu üç grubun kimyasal yapıları karbamik, karboksilik ve trifosforik esterlerle uyuşmaktadır. Karbamatların ve piretroidlerin ester bağlarının hidrolizi bu bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli rol oynamaktadır. Bu gruplar memelilerde ve böceklerde nörotoksisite gösterirler ve biyodegrede edilebilirler (Sogorb ve Vilanova 2002).

Organofosforlu insektisitler: Organofosforlu (OP) insektisitlerin en önemli ticari ve toksikolojik ilgisi fosforik, fosfonik, fosfinik ya da fosforamidik asitten elde edilen esterler ya da tiyollerdir.

Organofosforlu insektisitler en önemli toksikolojik etkilerini, esterazların merkezi sinir sisteminde geri dönüşümsüz fosforilasyonu ile gösterirler. Akut toksik etkileri asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonu ile ilgilidir. Bu enzimin inhibisyonu nikotinik ve muskarinik asetilkolin reseptörlerinin aşırı uyarımına neden olur. Zehirlenmenin tipik semptomları: ajitasyon, kas güçsüzlüğü, aşırı tükürük salgısı ve terlemedir (Sogorb ve Vilanova 2002). Şiddetli zehirlenmeler, solunum yetmezliği, bayılma, çarpıntı ya da ölüme neden olabilir.

Organofosforlu insektisitler diğer toksik etkilerini merkezi ve periferik sinir sistemi üzerinde gösterirler. Bu toksik etki 'organofosforlu indüklenmiş geciktirilmiş nöropati' olarak adlandırılır ve bu 'nöropati hedef esteraz' olarak adlandırılan sinir sistemi esterazının fosforilasyonu ve sonra modifikasyonu ile ilgilidir (Sogorb ve Vilanova 2002). Organofosfatlar genellikle oksidasyon ve hidroliz yoluyla detoksifiye edilirler. Bu bileşiklerin hidrolizinde iki önemli enzim grubu ilişkilidir; fosfotriesterazlar ve karboksilesterazlar.

Karbamat insektisitler: Karbamik asitten elde edilen bileşikler büyük olasılıkla en geniş alanda biyosit aktivitesi olan insektisitlerdir.

Karbamatların (CB) toksik akut etkileri organofosforlu insektisitlerin akut etkileri ile benzerdir. Bileşiklerin her iki grubunda AChE inhibitörüdürler ve böylece benzer semptomlara neden olurlar. Bununla birlikte OP ve karbamatlar AChE ile oluşturdukları komplekslerin stabilitesinde farklılık gösterirler. Gerçekte, OP AChE'nin serin rezidülerini geri dönüşümsüz yolla fosforile edebilirken aynı serin rezidünün karbamilasyonu daha az stabildir (tipik karbamilasyon süresi 30 ile 40 dakika arasındadır) (Sogorb ve Vilanova 2002).

1.1.3 Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar

Polisiklik sistemler ya bir halkanın 2 karbonunu diğer bir halkayla paylaşmasıyla ya da halkaların birbirine C-C bağı ile bağlanmasıyla meydana gelirler. Polisiklik karbonlar benzen gibi kömür katranında bulunurlar. En çok rastlanılanları naftalen, antrasen, fenantren, difenil, difenilmetandır. PAH'lar molekül formülleri bakımından doymamışlık gösteren fakat genellikle doymamış bileşikler için karakteristik olan katılma reaksiyonlarını vermeyen, halkalı (siklik) yapıda olan düzlemsel (veya hemen hemen düzlemsel) moleküllerdir. Aromatik halkalar genelde 5, 6, 7 üyeden oluşmuşlardır ve oksidasyona dayanıklı bileşiklerdir.

Çevresel kontaminantlar arasında en yaygın ve en büyük grubu, PAH olarak bilinen grup oluşturmaktadır. Bu bileşikler organik maddelerin parçalanma ürünleridir. Dolayısıyla PAH'lara hem çevresel hem de mesleki olarak maruz kalınmaktadır. Başlıca PAH kaynakları arasında, dizel ve benzinli motor egzozları, petrolün yanması ile oluşan egzozlar, çeşitli şekilde içilen tütün dumanları, grafit ve elektrot üretimi esnasında meydana gelen ürünler, gıdaların pişirilmesi sonucu oluşan duman, kömürün piroliziyle meydana gelen kömür katranı sayılabilir. Her türlü yanma reaksiyonu ve endüstriyel prosesler sonucu bu bileşikler oluşmakta ve çevreye yayılmaktadır. Böylece hava, su ve toprak ve dolayısı ile bunlarla bağlantılı canlılar ve gıda maddeleri bu maddelerce kirletilmektedir. Çok fazla sayıda PAH bileşiği mevcut olmakla birlikte, benzo(a)piren (B(a)P) en toksik olarak bilinen bileşiktir. Bununla birlikte, benzo(a)antrasen krizen, benzo(b)floranten, benzo(e)piren, indeno(1,2,3-cd)piren, dibenzo(a,h)antrasen, benzo(g,h,i)perilen ve koronen gibi PAH'lar da farklı düzeylerde toksisiteye ve karsinojen etkiye sahiptirler.

1.1.4 Serbest Radikallerin Oluşumu ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip olan ürünlerdir. Bu tanım, eşleşmemiş bir elektron içeren hidrojen atomunu, birçok geçiş metalini ve oksijen molekülünü kapsamaktadır (Yılmaz 2010, Halliwell ve Gutteridge 1990). Aerobik yaşamın vazgeçilmez elemanı oksijen, temel enerji seviyesindeki moleküler oksijenin (O_2) süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikale (HO) dönüşümü nedeniyle toksik etkilere de sahip olmaktadır (Yılmaz 2010, Fridovich 1998).

Oksidatif stres, antioksidan savunma sistemi ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir., Lipidler, proteinlere oranla serbest radikallerden daha fazla etkilenirler. Serbest radikaller nedeniyle meydana gelebilecek hücre hasarlarını engelleyen sisteme ‘antioksidan savunma sistemi’ denir. Bu moleküller, serbest oksijen radikallerine bir hidrojen iyonu verirler ve bu radikalleri kendilerine bağlarlar. Bu şekilde onları zayıf bir moleküle çevirirler ve radikal hasarını önlerler (Ünver 2014).

1.2 Biyomonitör Çalışmalarında Kullanılan Molekül ve Enzimler

1.2.1 Metalloprotein

Metalloprotein’ler (MT) Zn ve Cu gibi temel metallerin homeostasisinde ve Cu ve Cd gibi ağır metallerin detoksifikasyonunda önemli rol oynayan sistemin aminoasitince zengin, sıcaklık-stabil, metal bağlama özelliğine sahip, 6000–7000 Da kadar düşük moleküler ağırlığa sahip proteinlerdir (Viarengo ve Nott 1993). Hücredeki yüksek metal konsantrasyonu MT konsantrasyonunda artışı indükler. MT içeriği, Cu, Hg, Cd, Ag gibi ağır metallerin maruziyetinin etkilerinin değerlendirilmesinde ve metal kontaminasyonun izlenmesinde bir biyomarkör olarak kullanılmaktadır (Viarengo ve Nott 1993, Bayne ve diğ. 1988). MT sentezinin birçok metal ile indüklenebilmesi ile birlikte, Ultra Viyole (UV)’ye maruziyet, açlık, fiziksel travma, pestisit kaynaklı oksidatif stres, tuzluluk ve sıcaklık gibi faktörlerle de indüklenebilmektedir (Mosleh ve diğ. 2005, Viarengo ve diğ. 1999).

Solé ve diğ. (2008) yaptığı çalışmada güneybatı İspanya'da farklı tip kontaminasyondan etkilenen poliket *Nereis diversicolor* ve deniztarağı *Scrobicularia plana*'da antioksidant enzim katalaz (CAT), faz II detoksifikasyon enzimi GST ve nörotoksisite markörü AChE ile metal maruziyetinin biyomarkörü MT çalışılmıştır. Tüm bu biyomarkörlerden AChE en sensitif bulunurken *N. diversicolor* bu ekosistemde en güçlü organizma olarak bulunmuştur.

Metallotiyonin ve glutatyon, toksik etkili ağır metalleri bağlayarak enzim gibi molekül ağırlığı yüksek bileşiklere bağlanmasını engelleyen, toksisiteyi düşürücü ve molekül ağırlığı düşük proteinlerdir. *Anguilla anguilla*'da karaciğer hücrelerindeki bakır birikiminin MT gen transkripsiyonunu arttırdığı belirlenmiştir (Cicik ve diğ. 2004, Noel-lambot ve diğ. 1978). Ayrıca, Klerks ve Bartholomew (1991), Wallace ve diğ. (1998)'de *Limnodrilus hoffmeisteri* ile ve Deeds ve Klerks (1999)'da *L. udekemianus* ile yaptıkları arazi ve laboratuvar çalışmalarında MT'nin Cd maruziyetinde indüklendiğini bulmuşlardır. İlave olarak, *Chaetozone setosa* Eriksen ve diğ.(1990), *Eurythoe complanata* (Marcano ve diğ. 1996), *Goniada maculata* (Eriksen ve diğ. 1990) ve *Lumbrineris fragilis* (Eriksen ve diğ. 1988) poliketleri ile yapılan arazi ve laboratuvar çalışmalarında MT içeriklerinin Cd, Cu ve Zn maruziyetleri ile indüklendiği saptanmıştır.

1.2.2 Esterazlar

Esteraz enzimleri feromen ve hormon metabolizması, sindirim sistemi ve sinir iletimi, üreme davranışı ve insektisitlere direnç gibi birçok mekanizmada rol oynamaktadır. Esteraz enzimlerinin Asetil esterazlar, Aril esterazlar, Karboksil esterazlar (CaE) ve Kolin esterazlar (ChE) olmak üzere 4 sınıfı bulunmaktadır. Bu enzimler ester ve amid-bağı içeren geniş çeşitlilikteki ilaçların hidrolizini katalizlemektedirler (Satoh 2005). Esteraz enzimlerinden kolinesterazlar serin hidrolazların bir sınıfıdır ve protozoon ve süngerlerde dahil hayvanlar aleminde tüm canlılarda bulunmaktadır (Focardi ve diğ. 2006, Marcel ve diğ. 1998, Talesa ve diğ. 1993, Wilson ve Cabib 1956). ChE'lar AChE ve juvenil hormon esteraz gibi oldukça özelleşmiş fonksiyonlara sahip üyelerinin bulunduğu α,β -hidrolaz ailesi olarak adlandırılan protein süper ailesine aittirler (Satoh 2005, Marcel ve diğ. 1998). ChE'lar, bir nörotransmitter ya da hormona yüksek derecede seçicilik gösterirler ve biyomolojik izleme programlarında kronik OP ve CB kirliliği tespitinde kullanılan

(Abdel-Halim ve diğ. 2006; Focardi ve diğ. 2006, Bakry ve diğ. 2001) kolin esterlerin ayrılmasını katalizlerler.

1.2.2.1 Asetilkolinesterazlar

Asetilkolin gibi asetil esterleri hidrolize eden enzimler asetilkolinesteraz ya da asetilkolin asetilhidrolaz olarak adlandırılırlar. Asetilkolinesteraz, asetilkolinin kolin ve asetata hidrolizini katalizlemesi (Yi ve diğ. 2006, Wang ve diğ. 2004, Lionetto ve diğ. 2003) ile sinir sisteminde nörotransmitter asetilkolinin işlevini sonlandırıcı anahtar bir role sahiptir (Focardi ve diğ. 2006, Marcel ve diğ. 1998). AChE, invertebrat zararlıların kontrolü için kullanılan OP ve CB'lar gibi nörotoksik pestisitlerin primer hedefi olarak bildirilmiştir (Frasco ve diğ. 2006, Callaghan ve diğ. 2002). AChE inhibisyonu, direk olarak OP ve CB insektisitlerin toksik etki mekanizmaları ile bağlantılıdır (Yi ve diğ. 2006, Lionetto ve diğ. 2003) ve OP'lar ve CB'lar gibi insektisitlere maruz kalan bireylerde AChE'nin inhibisyonu sonucu normal sinir fonksiyonları bozulur (Crane ve diğ. 2002, Habig ve DiGiulio 1991). Bunlardan, OP'lar nörotransmitter asetilkolini hidrolize eden AChE'nin aktif bölgesine aktif okson metabolitleri ile (klorofiyrifos-okson, paraokson gibi) tersinmez bir şekilde bağlanmaktadır (Wang ve diğ. 2004, Callaghan ve diğ. 2002, Sogorb ve Vilanova 2002, Habig ve DiGiulio 1991, Fukuto 1990). Eğer asetilkolin hidrolize edilmez ve postsinaptik membran üzerindeki reseptörden ayrılmazsa devam eden depolarizasyon meydana gelir ve paralizisi takiben ölüme sonuçlanır (Callaghan ve diğ. 2002). CB insektisitler ise AChE'nin tersinir inhibitörleridir. AChE'nin inhibisyon süreci CB insektisit ve asetilkolinin enzimin aktif bölgesindeki yüzey için yarışmaları ile ilişkilidir. Piretroidlerin etki mekanizmaları ise daha farklıdır. Piretroidler, Na⁺ kanallarına yüksek afinite gösterirler ve bu kanalların fonksiyonlarında toksik etki uyandırır. Nörotoksik bileşiklerce AChE inhibisyonu pestisitlere maruziyet ve bunların etkileri için bir biyomarkör (Frasco ve diğ. 2006, Crane ve diğ. 2002, Scaps ve diğ. 1997) olarak doğada ve insanlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Çeşitli invertebratlarda da AChE aktivite ölçümleri pestisit maruziyetinin saptanmasında bir biyomarkör olarak kullanılmıştır (Sturm ve Hansen 1999, Karnak ve Collins 1974).

1.2.3 Sitokrom P450 Monooksijenazlar

Artan çevre kirliliği ile birlikte, çevresel kirleticilerin tüm canlı organizmalarda bulunan sitokrom P450 bağımlı monooksijenazlar tarafından metabolize edilmesi ile ilgili çalışmalar büyük önem kazanmıştır. Sitokrom P450 monooksijenazlar; ilaçlar, çevresel kirleticileri içeren kimyasallar, PAH'lar gibi karsinojenler ve pestisitler gibi ekzojenik maddelerin metabolizmasında ilgili olan bir hemoprotein süper ailesidir (Ranson ve diğ. 2002, Nelson ve diğ. 1996). Çoğunlukla toksik bileşiklerin detoksifikasyonunu başlatan Sitokrom P450, yapısal olarak farklı organik ksenobiyotiklerin metabolizmasında ana rol oynamaktadır (Sturm ve Hansen 1999). Mikrozomal monooksijenazlara bağlı sitokrom P450'ler ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ile ilgili en önemli enzim sistemi olarak gösterilmektedir ve çeşitli çevresel kirleticilere maruz kalan bireylerde spesifik P450 izozimleri artmaktadır (Londoño ve diğ. 2004, Scott 1999).

1.2.3.1 CYP1 Ailesi ve CYP1A1

Sitokrom P450 1 (CYP1) ailesi enzimleri, PAH'ları, PCB'leri ve arilaminleri içeren çevresel kontaminantların hidrolize edilmesinde önemli role sahiptirler. Bu nedenle tanımlanan ve daha sonra saflaştırılan ilk P450 ailelerinden birisidir, indirgenmiş sitokrom P450 proteinlerinin karbonmonoksit (CO) ile oluşturulan komplekslerinin 448 nm'deki maksimum absorpsiyonu nedeniyle P448 olarak adlandırılan CYP1 üzerinde en çok çalışma yapılan ailedir.

Sitokrom P450'ler arasında sitokrom P4501A kanserojenlerin biyoaktivasyonunda önemli bir rol oynar. En fazla sitokrom P450 çalışması sitokrom P4501A üzerinedir. İnsandaki CYP1 alt ailesi 3 üyeden oluşur: CYP1A1, CYP1A2 ve CYP1B1'dir. CYP1A1'in indüklenmesine; akciğer ve plasenta gibi ekstrahepatik dokularda sigara kullanımı ve PAH maruziyeti neden olur (Pelkonen ve diğ. 1998, Guengerich 1991).

P4501A1, çeşitli organik kimyasalların oksidasyonunu katalizleyerek onları daha hidrofilik veya Faz II enzimleri tarafından ileri konjügasyonlara uğratılabilecek formlara dönüştürüp vücuttan atılımını sağlayan sitokrom P450 bağımlı monooksijenazların alt ailesidir. Sitokrom P450 bağımlı monooksijenazlar ayrıca yabancı kimyasalların reaktif ara ürünlere aktivasyonundan da sorumludur. Sitokrom

P4501A proteini kanserojenlerin aktivasyonu ve metabolizmasındaki rolleri (Stegeman 1995, Gelboin 1980), çevresel kirlilik için biyomarkör olarak kullanılma potansiyelleri nedeni ile oldukça geniş bir şekilde çalışılmıştır (Arınç ve diğ. 2000; Goksoyr ve Förlin 1992). B(a)P hidroksilasyonu ve 7-etoksirezorufin *O*-deetilaz (EROD) reaksiyonları için en temel katalizördür. B(a)P, 3-metil kolantren (3-MC), 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksin (TCDD), PCB ve diğer halojenli bileşikler sitokrom P4501A1'in güçlü indükleyicileri olarak bilinirler (Teles ve diğ. 2004). Bununla birlikte muamele olmamış canlılarda çok zor tespit edilirler.

Sonuç olarak, yapılan çalışmalarda sitokrom P450 bağımlı monooksijenazların invertebratlarda organofosfatlı ve piretroidli insektisitlere dirençlilikte rol oynadığı ve bu ksenobiyotiklere maruz kalan bireylerde sitokrom P450 indüksiyonun gözlemlendiği bildirilmiştir. Ayrıca CYP1A1 indükleyicisi PCB gibi ksenobiyotiklere maruz kalan bireylerde saptanan EROD aktivitelerinde de artış gözlemlendiği bildirilmiştir.

1.2.4 Glutasyon S-Transferaz

GST'lar aerobik bakterilerden omurgalılara kadar geniş bir dağılıma sahiptir (Kalinina ve diğ. 1988, Stenersen ve diğ. 1987). Bu enzimler temel olarak karaciğerin sitozolik fraksiyonlarında lokalize olmalarına rağmen bütün dokularda bulunurlar (Sijm ve Opperhuizen 1989).

GST'lar faz II biyotransformasyon enzimlerinden çok fonksiyonlu ve dimerik yapısı olan bir ailedir, protein dizilerine, izoelektrik noktalarına, substrat spesifikliğine, inhibitörlere olan hassaslıklarına ve immünolojik özelliklerine dayanarak 8 sınıfta toplanmışlar ve aerobik organizmalarda oldukça geniş olarak tanımlanmışlardır (Armstrong 1997, Habig ve diğ. 1974). Çeşitli ekzojen veya endojen kaynaklı elektrofilik, hidrofobik bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu katalize ederler. Kataliz reaksiyonlarında GST'lar, elektrofilik substratlar üzerine GSH tripeptidin nükleofilik atağını kataliz ederler (Armstrong 1997, Jakoby ve Habig 1980). Böylece GST'lar, dışarıdan alınan toksik yabancı maddelerin veya oksidatif basamakta oluşan ürünlerin, vücutta bulunan diğer makromoleküller ile birleşmesini önleyip, hücre komponentlerine zarar vermeden atılmasını sağlarlar (Bulavin ve diğ. 1996). Bu anlamda GST'lar, vücut için hayati koruyuculuk fonksiyonu üstlenmiş olan enzim

gruplarından biridir. Ancak bunun yanı sıra GST'lar toksik ve karsinojenik bileşikleri içeren çeşitli kimyasalların aktivasyonunda da rol alırlar (Eaton ve Bammler 1999, Jacoby ve Habig 1980).

1.2.5 Lipid Peroksidaz

Serbest oksijen gruplarının dokulara yönelik olarak meydana getirecekleri hasar ve bunların en önemli sonuçlarından olan lipid peroksidasyon, son yıllarda üzerinde önemle durulan bir konudur. Hayati işlevler için gerekli olan oksijen, serbest oksijen grubu oluşumuna yol açtığı için sonuçta zehirleyici etki de oluşturabilmekte ve çoğu hastalığın patojenitesinde, yaşlanma ve yangı olaylarının açıklanmasında serbest oksijen grupları ortaya çıkmaktadır (Ender 1998; Comporti 1993).

Serbest oksijen radikalleri, oksidatif strese neden olan ve hücrel hasara yol açan, proteinler, membran lipidleri, nükleik asitler ve ekstraselüler matriksi destekleyen yapılar ile tepkime vermektedir (Piner 2009).

Membran kolesterolünde ve yağ asitlerinde bulunan doymamış bağlar reaktif oksijen türleri (ROS) hasarına karşı oldukça duyarlıdır ve lipidlerde peroksidasyona neden olur. Oluşan her bir lipid peroksiti bir serbest radikaldir ve peroksidasyon süreci, oluşan her bir lipid peroksitinin, diğer lipid peroksitlerini oluşturmak üzere komşu yağ asidini etkilemesi ile devam eder. Oluşan bu lipid peroksitleri membranda ve diğer bazı organellerde sabit bölgelerde peroksidasyonu devam ettirerek hasarı artırır. Lipid peroksidasyonu membran akışkanlığını etkileyerek membranın işlev ve yapısını değiştirebilir. Serbest radikallerce başlatılan peroksidasyonun serebral hipoksiya, iskemi gibi patolojik durumlarda ve normal yaşlanma süreci ile ilgili membran hasarında yer aldığı bilinmektedir (Jesberger ve Richardson 1991).

Lipid peroksidasyonu hem ROS aracılıklı tepkimelerle meydana gelen hem de kendisi ROS üretimine neden olan bir olaydır. Lipid peroksidasyonu hakkında çok iyi bilinen iki olgu vardır. Birincisi, hücre membranı ve hücrel organellerde fazlaca bulunan poliansatüre yağ asitleri (PUFA) ROS'a oldukça duyarlıdır; ikincisi, lipid peroksidasyonu zincir tepkimelerle yürümektedir. Lipid peroksidasyonunun

başlamasına singlet oksijen ($1O_2$) gibi ROS veya karbon tetraklorür (CCl_4) gibi kimyasallar neden olmaktadır. ROS PUFA ile etkileştiğinde bu molekülden bir hidrojeni kopartarak bir lipid radikalinin (L) oluşumuna neden olur, PUFA bağ düzenlenmesi ile bir dien konjugatına dönüşür, buna bir oksijenin eklenmesiyle de lipid peroksil radikali (LOO.) meydana gelir. Oldukça reaktif olan peroksil radikali komşu yağ asidinden bir hidrojen alarak lipid hidroperoksidi (LOOH) ve yeni bir lipid radikali meydana getirir. Böylece lipid peroksidasyonu ilerlemeye devam eder. Hücre membranlarında lipid peroksidasyonunun ilerleme tepkimeleri ile alkanlar, isoprostanlar ve karbonil bileşikleri gibi çok çeşitli yan ürünler açığa çıkmaktadır (Sevgiler 2007, Djordjevic 2004).

1.3 Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada; belirlediğimiz örnekleme noktalarından yakalanan sazan balıklarının (*Cyprinus carpio* L.) kas, karaciğer ve solungaçlarından elde edilen sitozolik ve mikrozomal fraksiyonlarda AChE, GST ve EROD aktiviteleri ile TBARS miktarları ve bu dokulardaki MT içerikleri ölçülmüştür. Böylece, örnekleme noktaları arasındaki su kalitesi farkı biyomarkörler yardımıyla ortaya çıkarılmış ve balık toksisite testlerinden yaygın olarak kullanılan AChE, GST, EROD, MT ve TBARS yöntemlerinden hangilerinin kas, karaciğer ve solungaç dokularında daha belirleyici olduğunu ortaya konulmaya çalışılmıştır.

2 YÖNTEM

2.1 Araştırma Alanı

Denizli ili sınırları içerisinde bulunan Gökpınar Çayı, Gökpınar (Vali Recep Yazıcıoğlu) Baraj Gölü ve Adıgüzel Barajı olmak üzere üç farklı lokaliteden birer örnekleme noktası belirlenmiştir.

Belirlenen örnekleme noktalarında Temmuz 2013 ve Ekim 2013 tarihleri arasında bir ön arazi çalışması yapılmıştır. Ön çalışma sonucunda asıl örnekleme Mayıs 2014 ile Ekim 2014 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

2.1.1 Gökpınar Çayı Örnekleme Noktası

Gökpınar Çayı; uzunluğu 38 km, debisi 2,86 m³/sn dir. Tavas'ın 10 km kuzeydoğusundan başlar, Denizli'nin 9 km kuzeyinde sona erer ve Büyük Menderes Nehri'nin yan kolu olan Çürüksu Çayı'na dökülür. Gökpınar Çayı temel olarak kar sularının erimesi ile beslenmektedir. Bunun haricinde Gökpınar Köyü içinden çıkan farklı iki kaynağında bu çayı beslediği bilinmektedir. Gökpınar Çayı sulama, içme ve sanayi suyu amaçlı kullanılmaktadır.

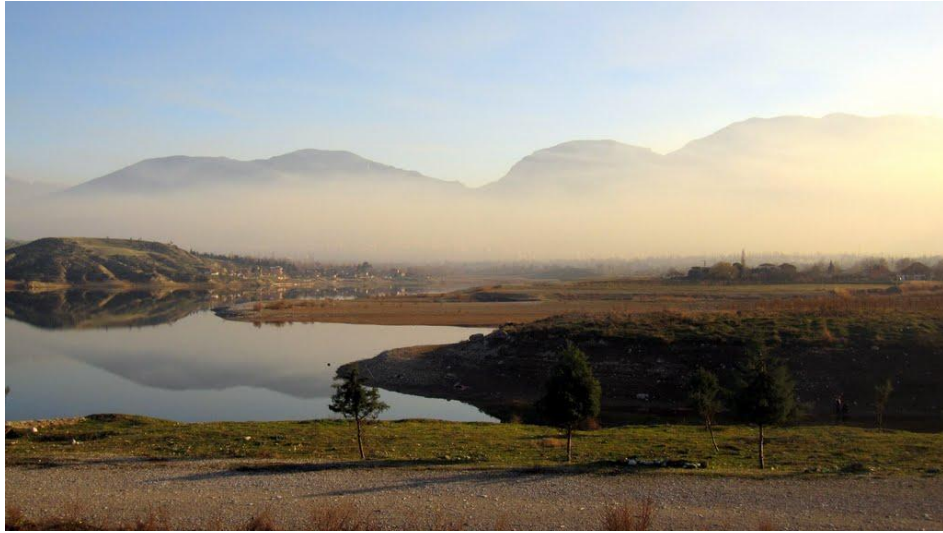
İlk örnekleme noktası, Karakurt Belediyesi'nin yaklaşık 1 km güneydoğusundan seçilmiştir. Gökpınar Çay yatağı ortalama 2,5 m genişliğindedir (Şekil 2.1). Akarsu zemini taşlık ve kumluktur. Kıyı kenarı bitki örtüsü olarak en fazla Söğüt (*Salix alba*), Çınar (*Platanus orientalis*) ve *Brassicaceae* familyasına ait otsu bitkiler bulunmaktadır.



Şekil 2. 1: Gökpınar Çayı örnekleme noktası.

2.1.2 Gökpınar Vali Recep Yazıcıoğlu Baraj Gölü Örnekleme Noktası

İkinci örnekleme noktası, Gökpınar Baraj Gölü'dür. Toprak gövde dolgu tipi olan barajın gövde hacmi $1.497.000 \text{ m}^2$, akarsu yatağından yüksekliği $43,00 \text{ m}$, normal su kotunda göl hacmi $28,20 \text{ hm}^3$, normal su kotunda göl alanı $1,98 \text{ km}^2$ 'dir (Şekil 2.2).



Şekil 2. 2: Gökpınar Baraj Gölü örnekleme noktası.

2.1.3 Adıgüzel Baraj Gölü Örnekleme Noktası

Adıgüzel Barajı, Denizli İli'ne bağlı Güney İlçesi'nin 16 km doğusunda Büyük Menderes Nehri üzerinde sulama, taşkın önleme ve enerji üretme amacıyla inşa edilmiş olup, 1990 yılında hizmete girmiştir. Aşağı Büyük Menderes Projesi içerisinde yer alan Adıgüzel Barajı, Denizli ve Aydın illerindeki sulama alanlarına hizmet sunma yönünden en büyük ve en önemli kilit tesistir. Adıgüzel Barajı'nda depolanan 1,094 milyar m³ toplam hacimden 821,60 milyon m³ suyun önce enerjisi alındıktan sonra ilimiz Sarayköy-Pamukkale Ovası sulaması içinde bulunan tarım arazileri ve Ege Denizi'ne döküldüğü noktaya kadar da Aydın İli'nde bulunan tarım arazileri sulanmaktadır. Barajın tipi zonlu kaya dolgu olup yüksekliği talvegden 145 m'dir. Barajın göl alanı, Denizli ve Uşak il sınırları içerisinde yer almaktadır. Adıgüzel Barajı Türkiye'de işletmeye açılmış olan ve inşa halindeki barajlar içerisinde temelden 9. sırada, dolgu hacmi bakımından 11. sırada ve yıllık enerji üretimi bakımından 62 MW güç ve yıllık 280 GWh'lik elektrik enerjisi ile 20. sırada yer alır (Şekil 2.3).



Şekil 2. 3: Adıgüzel Baraj Gölü örnekleme noktası.

2.2 Fizikokimyasal Verilerin Belirlenmesi

Belirlenen her örnekleme noktasından su sıcaklığı (°C), pH değeri, mV değeri, elektrik iletkenliği ($\mu\text{S}/\text{cm}$), çözünmüş oksijen (SO_2 , mg/L), oksijen doygunluğu (% dO_2), toplam çözünmüş katı madde (TDS, mg/L), salinite (‰)

değerleri arazi çalışmaları sırasında ölçülmüştür (Tablo 2.1). Örnekleme noktalarından, inorganik madde analizi için 0,5'er litre su numunesi alınmıştır. Alınan su örnekleri en kısa zamanda soğuk saklama kaplarında laboratuvar ortamına getirilmiştir.

Tablo 2. 1: Parametreler ve ölçüm cihazları.

PARAMETRELER	ÖLÇÜM CİHAZLARI
Su sıcaklığı	WTW 330i ve Lovibond SensoDirect Oxi200 ile arazide ölçüm yapılmıştır.
dO ₂	Lovibond SensoDirect Oxi200 ile arazide ölçüm yapılmıştır.
SO ₂	Lovibond SensoDirect Oxi200 ile arazide ölçüm yapılmıştır.
TDS	WTW 330i ile arazide ölçüm yapılmıştır.
Tuzluluk	WTW 330i ile arazide ölçüm yapılmıştır.
İletkenlik	WTW 330i ile arazide ölçüm yapılmıştır.
pH	WTW 330i ile arazide ölçüm yapılmıştır.

2.3 Balıkların Tespiti

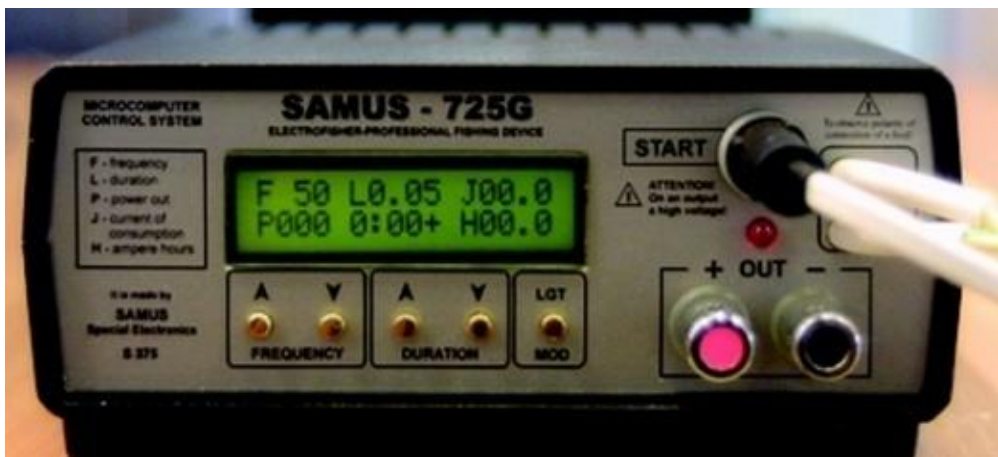
Çalışmamızda enzim aktivite ölçümleri için örnekleme noktalarından sazan (*Cyprinus carpio* L.) balıkları tespit edilmiştir. Mayıs 2014 ve Ekim 2014 ayları arasında her ay en az bir adet olmak üzere tüm istasyonlardan ortalama 1 kg ağırlığında balıklar yakalanmıştır.

Balık örneklerinin yakalanmasında baraj göllerinde sadece büyük (>30 cm) balıkların yakalanmasını sağlayan 50 m uzunluğunda 2 m eninde, 30 mm göz genişliğinde ve 160 mm fanya genişliğinde olan bentik ağ kullanılmıştır (Şekil 2.4). Ağlar ahşap tabanlı bot yardımıyla suya atılmıştır. Ağlar geceden atılarak 12 saat sonra (ertesi gün) toplanmıştır. Çalışmamız için gerekli miktarda balık tespit edildikten sonra sağ olarak yakalanan balıkların fazlası ortama geri bırakılmıştır.



Şekil 2. 4: Fanyalı sazan ağı.

Akarsu örneklemesinde Samus 625 Electrofisher kullanılmıştır. Ortamdan baygın olarak elde edilen balıklar gerekli miktarda tespit edildikten sonra, fazlası ortama geri bırakılmıştır. Daha sonra tespit edilen balıklar içerisinde buz petleri bulunan ayrı saklama kaplarına konulmuştur (Şekil 2.5). Kapların üzerine örnekleme noktası kodu ve tarihi yazıldıktan sonra balıklar enzim yapılarının bozulmaması için canlı bir şekilde laboratuvara getirilmiştir.



Şekil 2. 5: Samus 725 elektrofisher.

Laboratuvara getirilen balık örnekleri içi buzlu diseksiyon tepsisine konularak, kas, karaciğer ve solungaç olmak üzere 3 ayrı doku örneği alınmıştır. Alınan dokular fizyolojik salin (%0,9; +4°C) ve distile suda yıkayıp kurularak hassas terazide tartım işlemi uygulanmıştır (Şekil 2.6). Ağırlıkları tartılan dokular etiketlenerek biyomarkör çalışmaları için -80 °C'deki derin dondurucuya konulmuştur.



Şekil 2. 6: Balıkların diseksiyonu ve arındırma işlemi.

2.4 Biyomarkör Çalışmaları İçin Balıklardan Sitozolik ve Mikrozomal Fraksiyonlarının Elde Edilmesi

Derin dondurucudan (-80 °C) çıkarılan dokulara hassas terazide tartım işlemi uygulanmıştır. Bu işlemden hemen sonra dokular etiketlenerek alüminyum folyolara sarılıp buz üzerine koyulmuştur. Bundan sonraki bütün işlemler buz üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Ağırlıkları tartılmış doku örneklerine 3 mM etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) pH 7,8; 50 mM tris-hidroklorik asit (Tris-HCl) pH 7,5; 0,5 mM fenil metan sülfonil florid (PMSF); 0,3 mM Epsilon-amino kaproik asit (ϵ -ACA); 0,15 mM bütül hidroksi toluen (BHT); %10 gliserol ve %0,15 Triton X-100 içeren homojenizasyon çözeltisi eklenerek buz içine oturtulmuş olan Potter-Elvehjem cam-teflon homojenizatörde homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Homojenizatör tüpüne, konulan doku ağırlığının 3 katı homojenizasyon çözeltisi eklenmiştir. Homojenizasyon işlemi, teflon tokmak cam tüp içinde 10-15 kez aşağı-yukarı şekilde

hareket ettirilerek ve dakikada 2600 dönüş yapacak şekilde çevrilerek gerçekleştirilmiştir. Teflon çubuğun döndürülmesi işlemi matkap (Skil 6375-Konijnenberg 60-Breda-Netherlands) kullanılarak yapılmıştır.

Fraksiyon eldesi çalışmaları bölüm laboratuvarımızda optimize edilmiş olan Shenkman ve Cinti (1978) metodu ile yapılmıştır. Elde edilen homojenat, hücre kalıntıları uzaklaştırmak üzere Sigma 3K30 yüksek hızlı soğutmalı santrifüj (12156 rotor, PO Box 1713, D-37507, Germany) kullanılarak 12500 xg'de 25 dak santrifüj edilmiştir. Süpernatant çift katlı steril sargı bezinden süzülerek peletten ayrıştırılmıştır. Süpernatant ise hacminin 1/4 katı soğuk 0,16 M kalsiyum klorür (CaCl_2) eklenmesi ile 30000 xg'de 25 dak santrifüj edilmiştir. Sıvı sitozol kısmı eppendorf tüplere eşit hacimlerde konularak etiketlenmiş, AChE ve GST enzim aktivite ölçümleri için -80 °C Nuãire (Nuãire Ultralow Freezer NU-6382E 2100 Fernbrook lane Plymouth, MN 55447) derin dondurucuda saklanmıştır. Kalan mikrozomal pelete doku ağırlığında homojenizasyon çözeltisi eklenerek 30000 xg'de 20 dak tekrar santrifüj edilmiştir. Çıkan süpernatant dökülerek pelete başlangıç doku ağırlığının 0,5 katı soğuk süspansiyon tamponu (2 ml 100 mM EDTA pH 7,5; 10 ml gliserin; 90 ml distile su) eklenmiş ve elle homojenize edilip eppendorf tüplere eşit hacimlerde konularak, EROD ve Lipid peroksidaz (LPO) enzim aktivite ölçümleri için -80 °C Nuãire (Nuãire Ultralow Freezer NU-6382E 2100 Fernbrook lane Plymouth, MN 55447) derin dondurucuda saklanmıştır.

MT içerik tayini çalışmaları ise Viarengo ve diğ. (1997) metodu kullanılarak yapılmıştır. Ağırlıkları tartılan numunelere ağırlıklarının 3 katı, 20 mM Tris HCl pH 8,5; 0,006 mM löpeptin; 0,5 mM PMSF; 1 mM ditiyo treitol (DDT) ve %10 gliserol içeren homojenizasyon çözeltisi eklenerek buz içine oturtulmuş olan Potter-Elvehjem cam-teflon homojenizatörde homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Homojenizasyon işlemi teflon tokmak cam tüp içinde 10-15 kez aşağı-yukarı şekilde hareket ettirilerek ve dakikada 2600 dönüş yapacak şekilde çevrilerek gerçekleştirilmiştir. Teflon çubuğun döndürülmesi işlemi matkap kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen homojenat, Sigma 3K30 yüksek hızlı soğutmalı santrifüjde 30000 xg'de 25 dak santrifüj edilmiştir. Elde edilen pelet kısmı uzaklaştırılmıştır. Süpernatanta, 1 ml süpernatant hacmi için 1,05 ml soğuk (-20 °C) absolute etanol ve 80 µl soğuk (-20 °C) kloroform eklenmiş ve 6000 xg'de 10 dak tekrar santrifüj edilmiştir. Elde edilen

pelet uzaklaştırılmış, supernatanta ise 3 hacim %10 HCl içeren soğuk (-20 °C) absolute etanol eklenmiş ve karışım -20 °C’de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası supernatant 6000 xg’de 10 dak santrifüj edilmiştir. Elde edilen supernatant uzaklaştırılmış, pelete ise doku ağırlığının 0,25 katı 0,1 M potasyum fosfat (Kpi) tamponu pH 8,0 eklenmiş ve elle homojenizasyon sonucu elde edilen MT fraksiyonu MT içerik tayini için -20 °C’de derin dondurucuda saklanmıştır.

2.5 Protein Miktarı Tayini

Elde edilen sitozolik ve mikrozomal fraksiyonların protein miktarı tayini, sığır serum albümin (BSA) standardı kullanılarak Lowry ve diğ. (1951)’nin metoduyla yapılmıştır. 1/100 oranında seyreltilmiş olan fraksiyonlar test tüplerine 0,1 ml’den 0,5 ml’ye değişen hacimlerde alınmış ve son hacim dH₂O ile 0,5 ml’ye tamamlanmıştır. Sonra %2’lik bakır sülfat, %2’lik sodyum potasyum tartarat ve %2’lik sodyum karbonat içeren 0,1 N sodyum hidroksit (NaOH)’in 1:1:100 oranında karışmasıyla oluşan 2,5 ml alkali bakır reaktifi ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, dH₂O ile 1:1 oranında seyreltilmiş olan Folin (fosfomolibdik-fosfotungstik asit) reaktifinden her bir tüpe 0,25 ml ilave edilmiştir. Folin reaktifini koyar koymaz hemen karıştırılmış ve 50 °C’lik sıcak su banyosunda 10 dak inkübe edilmiştir. Oluşan rengin şiddeti her bir tüp için 660 nm’de köre karşı ölçülmüştür. Protein miktarları elde edilen eğim değeri kullanılarak hesaplanmıştır.

2.6 Metalloiyonin İçerik Tayini

MT içerikleri, 0,1 M Kpi tamponu pH 8,0 içersinde çözülmüş 0,43 mM 5-5-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) içeren 1 ml’lik reaksiyon ortamına 25 µl MT fraksiyonu eklenmesi ile 412 nm’ de spektrofotometrik olarak tayini ile ölçülmüştür. Ayrıca kör olarak 25 µl dH₂O içeren reaksiyon karışımı Tablo 2.2’de olduğu gibi hazırlanmış ve 0-15 µg GSH standardı kullanılarak MT aktiviteleri hesaplanmıştır.

Tablo 2. 2: Metalloiyonin içerik tayin karışımının içeriği.

zeltiler	Kr	rnek
0,43 mM DTNB pH 8,0	975 µl	975 µl
MT fraksiyonu	-	25 µl
dH ₂ O	25 µl	-

2.7 Asetilkolinesteraz Aktivite Tayini

Hazırlanan sitozolik fraksiyonlarda AChE aktivitesi asetiltiyokolin (ATC) substratı kullanılarak Ellman ve diğ. (1961) tarafından önerilen spektrofotometrik metotla tayin edilmiştir. Ellman metodu, AChE tarafından oluşan tiyokolinin DTNB ile konjugasyonu sonucu oluşan sarı renkli 5-thio-2-nitrobenzoat'ın 412 nm'deki absorpsiyonuna dayanmaktadır.

Tipik reaksiyon ortamı 1 ml son hacimde, 77 mM Tris-HCl tamponu pH 8,50; 0,6 mM DTNB; 50 µg sitozolik protein ve 7,5 mM ATC kullanılarak hazırlanmıştır. Reaksiyon zeltisinin hazırlanmasında belirtilen son konsantrasyonlarda stok zeltilerden kullanılarak, spektrofotometre küvetinde 1 ml reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Reaksiyon en son ATC substratı ilave edilerek başlatılmış ve 10 sn'lik bekleme süresinden sonra absorbans değişimi AnalytikJena Specord 200 UV-1601 ift Işınlı Spektrofotometre'de 412 nm'de 150 sn süresince takip edilmiştir (Tablo 2.3).

Tablo 2. 3 : Asetilkolinesteraz aktivite ölüm karışımının içeriği.

zeltiler	Kr	rnek
100 mM TrisHCl pH 8,5	790 µl	690 µl
10 mM DTNB	60 µl	60 µl
Sitozolik protein (1 mg/ml)	-	100 µl
50 mM ATC	150 µl	150 µl

2.8 Etoksirezorufin-*O*-deetilaz Aktivite Tayini

Hazırlanan mikrozomal fraksiyonlarda EROD aktivitesi 7-etoksirezorufin substratı kullanılarak Burke ve Mayer (1974) tarafından önerilen florometrik metoda dayanarak optimize edilen Arınç ve şen (1994)'e göre tayin edilmiştir. Bu metod, 7-

etoksirezorufinin CYP1A1 tarafından nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) varlığında rezorufine yükseltgenmesinin 535 nm eksitasyon ve 585 nm emisyon dalga boylarında florometrik olarak takibine dayanmaktadır. Reaksiyon çözeltisinin hazırlanmasında Tablo 2.4'te belirtilen hacimlerde stok çözeltilerden alınarak, florometre küvetinde 1 ml reaksiyon karışımı hazırlanmıştır.

Reaksiyon en son substrat ilave edilerek başlatılmış ve Cary Eclipse Florometre'de 120 sn süresince takip edilmiştir. Son olarak, reaksiyon karışımına iç standart olarak rezorufin'in bilinen miktarı eklenmiş ve floresanstaki artış kaydedilmiştir. Enzim aktiviteleri, rezorufin eklenmesinin neden olduğu floresans artış kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 2. 4: EROD aktivite ölçüm karışımının içeriği.

Stok çözeltiler	Son konsantrasyon
Kpi tamponu (pH 7,80)	100 mM
NaCl	100 mM
BSA	1,2 mg
Mikrozomal protein (1 mg/ml)	25 µg
NADPH	0,1 mM
7-Etoksirezorufin	1,5 µM

2.9 Glutasyon-S-Transferaz Aktivite Tayini

GST aktivitesi 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) substratı kullanılarak Habig ve diğ. (1974) tarafından önerilen spektrofotometrik metotla ve Şen ve Kırıkbakan'ın optimize ettiği şartlar kullanılarak tayin edilmiştir. Habig metodu, GST tarafından CDNB ile GSH konjügasyonu sonucu oluşan 2,4-dinitrofenil glutasyon kompleksinin ışığı 340 nm'de absorpsiyonuna dayanmaktadır.

Tipik reaksiyon ortamı son 1 ml hacimde 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,50); 50 µl sitozolik protein; 1 mM CDNB ve 1 mM redükte glutasyon içermektedir. Reaksiyon çözeltisinin hazırlanmasında belirtilen son konsantrasyonlarda stok çözeltilerden alınarak, spektrofotometre küvetinde 1 ml reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Reaksiyon en son GSH ilave edilerek başlatılmış ve 10 sn'lik bir bekleme süresinden sonra absorbans değişimi AnalytikJena Specord 200 UV-1601 Çift Işınlı Spektrofotometre'de 340 nm'de 60 sn üresince takip edilmiştir. Enzim

aktiviteleri, elde edilen dakikada absorbans değişimleri ve 9,6 mM/cm olan molar absorblama katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır.

Glutasyon *S*-transferaz aktivitesini ölçmek için çözeltiler kör ve örnek olmak üzere farklı küvetlere Tablo 2.5'deki gibi eklenerek hazırlanır.

Tablo 2. 5: GST aktivite ölçüm karışımının içeriği.

Çözeltiler	Kör	Örnek
dH ₂ O	680 µl	630 µl
0,4 M Kpi pH 7,5	250 µl	250 µl
Sitozolik protein (1 mg/ml)	-	50 µl
20 mM CDN B	50 µl	50 µl
50 mM GSH	20 µl	20 µl

2.10 Lipid Peroksidasyon Ölçümü (TBARS Yöntemi)

TBARS lipid peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olup, lipidlere ait peroksidasyonun belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir. Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonun tiyobarbitürik asit ile reaksiyonu sonucu oluşan renkli karışımın 532 nm'deki maksimum absorbansı ile ölçülür. Lipid peroksidasyon ürünleri Jain ve Levine (1995)' nin yöntemine göre ölçülmüştür.

1 mg/ml olacak şekilde seyreltilmiş 0,2 ml mikrozoim, 0,8 ml 0,018 M fosfat tuz tamponu (pH 7,4) ve 0,025 ml BHT içeren tüplere eklenmiştir. Daha sonra üzerlerine %30 trikloroasetik asit eklenerek tüpler karıştırılmış ve buz içinde en az iki saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüpler 2000 xg'de 15 dak santrifüj edilmiş ve her bir tüpteki süpernatanttan 1 ml başka bir tüpe aktarılmıştır. Süpernatantın üzerine 0,075 ml 0,1 M EDTA ve 0,25 ml %1 tiyobarbitürik asit (TBA) içeren 0,05 N NaOH eklenmiş ve tüpler kaynayan suda 45 dak bekletilmiştir. Su banyosundan alınan örneklerin 600 nm'deki absorbans değerleri 532 nm'deki absorbans değerlerinden çıkarılarak TBARS miktarları standart formüle göre hesaplanmıştır.

2.11 İstatistiksel Analizler

Örnekleme noktaları ve dokular arasındaki aktivite farklılıklarını belirlemek üzere Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA, %95 güven aralığında) ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara yönelik istatistiksel uygulamalar SPSS ve R programları kullanılarak ortaya konulmuştur.

3 BULGULAR

3.1 Fizikokimyasal Değerler

Bu alışmada Temmuz, Ağustos ve Eylül 2014 aylarında üç kez fizikokimyasal ölçümler yapılmıştır. Sıcaklık, iletkenlik, tuzluluk, TDS, SO₂, dO₂, debi (nehir), genişlik (nehir), derinlik (nehir), oksidasyon redüksiyon potansiyeli (ORP) ve pH olmak üzere 11 farklı parametre ortamda ölçülmüştür (Tablo 3.1).

Tablo 3. 1: Temmuz, Ağustos ve Eylül 2014 aylarına ait fizikokimyasal parametre ölçüm sonuçları.

		Temmuz 2014	Ağustos 2014	Eylül 2014
GÖKPINAR ÇAYI	Sıcaklık	16,3 °C	15,4 °C	13,2 °C
	İletkenlik	632 µS/cm	602 µS/cm	615 µS/cm
	Tuzluluk	0	0	0
	TDS	512 mg/l	488 mg/l	460 mg/l
	SO ₂	105%	89,30%	94,30%
	dO ₂	9,5 mg/l	9,32 mg/l	9,4 mg/l
	Debi	0,345 m/sn	0,54 m/sn	0,41 m/sn
	Genişlik	230 cm	230 cm	230 cm
	Derinlik	30 cm	25 cm	15 cm
	ORP	(-) 81 mV	(-) 77 mV	(-) 96 mV
pH	7,75	7,874	7,96	
GÖKPINAR BARAJI	Sıcaklık	22,3 °C	20 °C	19,1 °C
	İletkenlik	554 µS/cm	536 µS/cm	537 µS/cm
	Tuzluluk	0	0	0
	TDS	448 mg/l	433 mg/l	462 mg/l
	SO ₂	90%	82,00%	76,00%
	dO ₂	7,41 mg/l	7,57 mg/l	7,12 mg/l
	Debi	0 m/sn	0 m/sn	0 m/sn
	Genişlik	-	-	-
	Derinlik	-	-	-
	ORP	(-) 82 mV	(-) 81 mV	(-) 74 mV
pH	7,88	7,91	7,91	
ADIGÜZEL BARAJI	Sıcaklık	24,5 °C	21,2 °C	19,2 °C
	İletkenlik	839 µS/cm	862 µS/cm	912 µS/cm
	Tuzluluk	0,2	0,2	0,3
	TDS	679 mg/l	684 mg/l	736 mg/l
	SO ₂	45%	50,00%	54,00%
	dO ₂	4,47 mg/l	4,66 mg/l	4,94 mg/l
	Debi	0 m/sn	0 m/sn	0 m/sn
	Genişlik	-	-	-
	Derinlik	-	-	-
	ORP	(-) 51 mV	(-) 53 mV	(-) 53 mV
pH	7,94	8,05	7,86	

3.2 Aktivite ve Molekül Ölçüm Sunuları

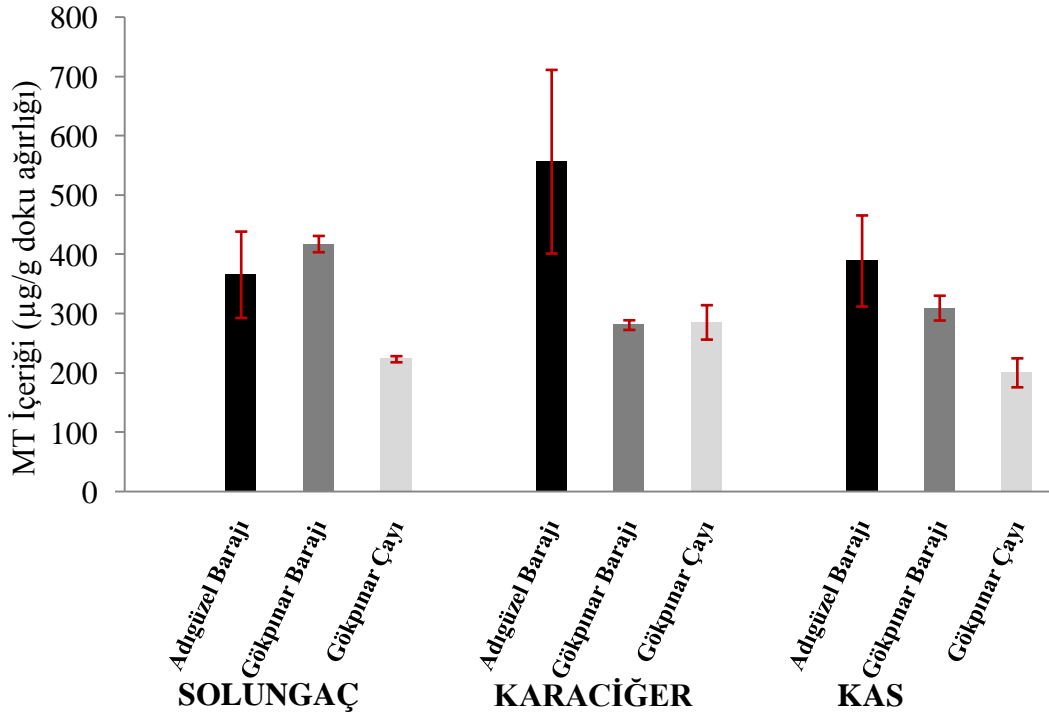
Adıgüzel Barajı, Gökpınar Barajı ve Gökpınar Çayı'ndan Mayıs 2014 ve Ekim 2014 ayları arasında her ay en az bir adet olmak üzere yaklaşık 1 kg ağırlığında yakalanan balıkların kas, karaciğer ve solungaç dokularından alınan örneklerden her örnek için 3 tekrarlı ölçüm yapılmıştır. Tüm ölçüm sonuçlarının ortalamaları alınarak Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3. 2: Adıgüzel Barajı, Gökpınar Barajı ve Gökpınar Çayı'nda farklı dokularda ölçülen; AChE, GST ve EROD aktiviteleri ile MT ve TBARS içerikleri. ($\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama \pm Standart sapma şeklinde tabloda gösterilmiştir.)

MT içeriği ($\mu\text{g/g}$ doku ağırlığı)			
	Solungaç ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Karaciğer ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Kas ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Adıgüzel Barajı	366,23 \pm 72,88	556,91 \pm 154,78	389,53 \pm 76,81
Gökpınar Barajı	418,05 \pm 13,74	281,46 \pm 8,14	310,08 \pm 20,90
Gökpınar Çayı	223,90 \pm 5,16	286,01 \pm 29,04	200,97 \pm 24,43
AChE aktivitesi (U/dak/mg protein)			
	Solungaç ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Karaciğer ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Kas ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Adıgüzel Barajı	138,33 \pm 7,50	113,00 \pm 37,80	197,28 \pm 42,43
Gökpınar Barajı	144,66 \pm 7,09	131,66 \pm 13,79	119,66 \pm 10,78
Gökpınar Çayı	61,00 \pm 1,41	97,00 \pm 10,14	94,00 \pm 12,90
EROD aktivitesi (pmol/dak/mg protein)			
	Solungaç ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Karaciğer ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Kas ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Adıgüzel Barajı	14,07 \pm 2,79	11,6 \pm 2,66	14,86 \pm 1,26
Gökpınar Barajı	16,37 \pm 0,76	14,92 \pm 1,50	15,61 \pm 1,11
Gökpınar Çayı	17,02 \pm 1,38	17,11 \pm 0,67	16,94 \pm 0,50
GST aktivitesi (nmol/dak/mg protein)			
	Solungaç ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Karaciğer ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Kas ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Adıgüzel Barajı	37,36 \pm 18,22	193,16 \pm 17,99	22,12 \pm 8,28
Gökpınar Barajı	87,25 \pm 26,66	57,50 \pm 3,87	22,25 \pm 7,63
Gökpınar Çayı	64,00 \pm 22,08	173,50 \pm 6,13	42,25 \pm 13,32
TBARS miktarı (nmol/mg protein)			
	Solungaç ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Karaciğer ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Kas ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Adıgüzel Barajı	1,50 \pm 0,84	0,70 \pm 0,44	1,30 \pm 0,77
Gökpınar Barajı	0,56 \pm 0,23	0,20 \pm 0,14	0,97 \pm 0,06
Gökpınar Çayı	2,29 \pm 0,94	1,23 \pm 0,06	2,24 \pm 0,81

3.2.1 MT İçeriği

Gökpınar Çayı, Gökpınar Baraj Gölü ve Adıgüzel Baraj Gölü örnekleme noktalarından yakalanan balık örnekleri (*Cyprinus carpio*) üzerinde yapılan tekrarlı ölçümler sonucu saptanan MT içeriklerinin ortalamaları, elde edilen sonuçların standart sapmaları ile birlikte Şekil 3.1'de verilmektedir. Grafiklerde verilen her bir nokta, en az üç set deney ve her bir deney en az üç kez yapılan tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak verilmiştir.



Şekil 3. 1: *Cyprinus carpio* balık türüne ait farklı doku ve örnekleme noktalarındaki ortalama MT içerikleri. Ortalama MT içerikleri ve standart sapmaları en az üç set deney ve her bir deney en az üç kez yapılan tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak verilmiştir.

Elde edilen verilere göre, solungaçlarda en düşük MT içeriği Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Gökpınar Çayı'na oranla Adıgüzel Baraj Gölü'nden yakalanan balık örneklerinde ölçülen MT içerikleri 1,63 kat artış göstermiştir. Gökpınar Baraj Gölü'nden yakalanan balık örneklerinde ise Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerine göre 1,86 katlık bir artış saptanmıştır.

Karaciğerde ölçülen MT içeriklerinde, Gökpınar Barajı ve Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örnekleri birbirine yakın miktarda MT içermektedir. Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ise diğer iki istasyona göre yaklaşık olarak 2 kat daha fazla MT içeriği saptanmıştır.

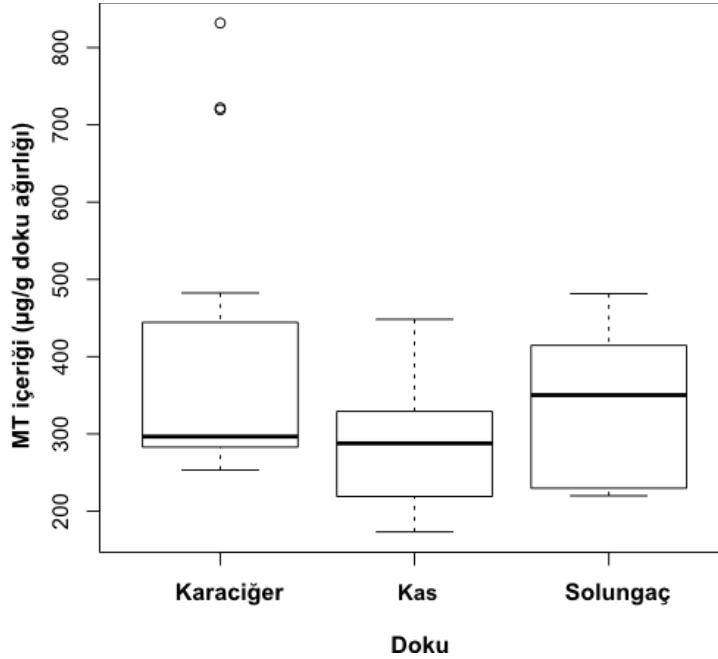
Son olarak Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinin kas dokusunda ölçülen MT içerikleri Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinin yaklaşık 2 katıdır. Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen MT içerikleri ise Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerine göre 1,54 kat daha fazladır.

Yapılan One Way Anova analizleri sonucu, solungaçlarda ölçülen MT içerikleri karşılaştırıldığında Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,05$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ve Gökpınar Barajı arasında ise $p<0,001$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu saptanmıştır.

Karaciğerde ölçülen MT içerikleri ise Gökpınar ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunurken, Gökpınar Barajı ve Gökpınar Çayı'nda ise karaciğer dokuları arasında istatistiksel olarak $p<0,05$ seviyesinde anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Son olarak kas dokusunda; Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,01$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ile Gökpınar Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır.

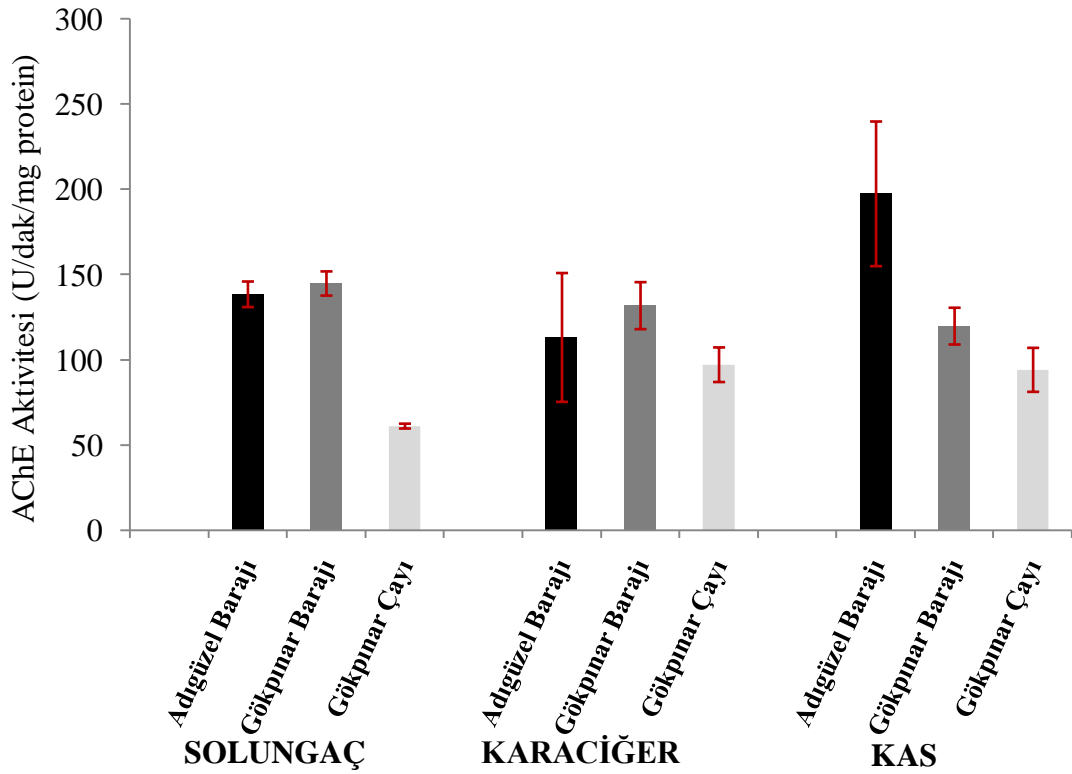
MT içeriklerini farklı dokularda istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda dokular arasında $p<0,05$ seviyesinde anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2 : MT içeriklerinin tüm istasyonlardaki toplam değerlerinin dokulara göre dağılımı.

3.2.2 AChE Aktivitesi

Gökpınar Çayı, Gökpınar Baraj Gölü ve Adıgüzel Baraj Gölü örnekleme noktalarından yakalanan balık örnekleri (*Cyprinus carpio*) ile yapılan tekrarlı ölçümler sonucu saptanan AChE aktivitelerinin ortalamaları, elde edilen sonuçların standart sapmaları ile birlikte Şekil 3.3'te verilmektedir. Grafiklerde verilen her bir nokta, en az üç set deney ve her bir deney en az üç kez yapılan tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak verilmiştir.



Şekil 3. 3: *Cyprinus carpio* balık türüne ait farklı doku ve örnekleme noktalarındaki ortalama AChE aktiviteleri. Ortalama AChE aktiviteleri ve standart sapmaları en az üç set deney ve her bir deney en az üç kez yapılan tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak verilmiştir.

Elde edilen verilere göre solungaçlarda en yüksek AChE aktivitesi Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen AChE aktivitelerinde Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerine oranla %4,3'lük bir AChE inhibisyonu gözlenmiştir. Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen AChE aktivitelerinde ise

Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerine göre %57,8 oranında AChE inhibisyonu saptanmıştır.

Karaciğerde ölçülen en yüksek AChE aktivitesi Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balıklar örneklerinde tespit edilmiştir. Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen AChE aktiviteleri Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerine kıyasla %14,17, Gökpınar Çayı'nda yakalanan balık örneklerinde ölçülen AChE aktivitelerinde ise Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerine kıyasla %27,32'lik AChE inhibisyonu saptanmıştır.

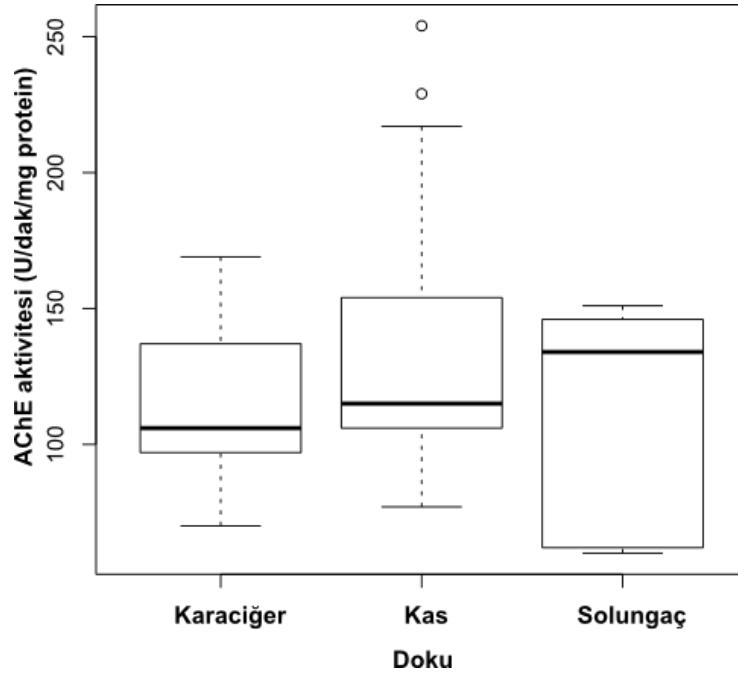
Kas dokusunda ise en yüksek AChE aktivitesi Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Adıgüzel Barajı'na oranla Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen AChE aktivitelerinde %39,34, Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinde ise %52,35 AChE inhibisyonu gözlenmiştir.

Yapılan One Way Anova analizleri sonucu, solungaçlarda ölçülen AChE aktivitelerine bakıldığında Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Gökpınar Çayı ile diğer iki baraj arasında ise $p<0,001$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

Karaciğerde ise Gökpınar Çayı ve Gökpınar Barajı arasında $p<0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Fakat diğer kombinasyonlarda istasyonlar arasında $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Son olarak kas dokusunda; Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde anlamlı farklar bulunurken, Gökpınar Çayı ve Gökpınar Barajı arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır.

AChE aktivitelerini farklı dokularda istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda dokular arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Şekil 3.4).



Şekil 3. 4: AChE aktivitelerinin tüm istasyonlardaki toplam değerlerinin dokulara göre dağılımı.

3.2.3 EROD Aktivitesi

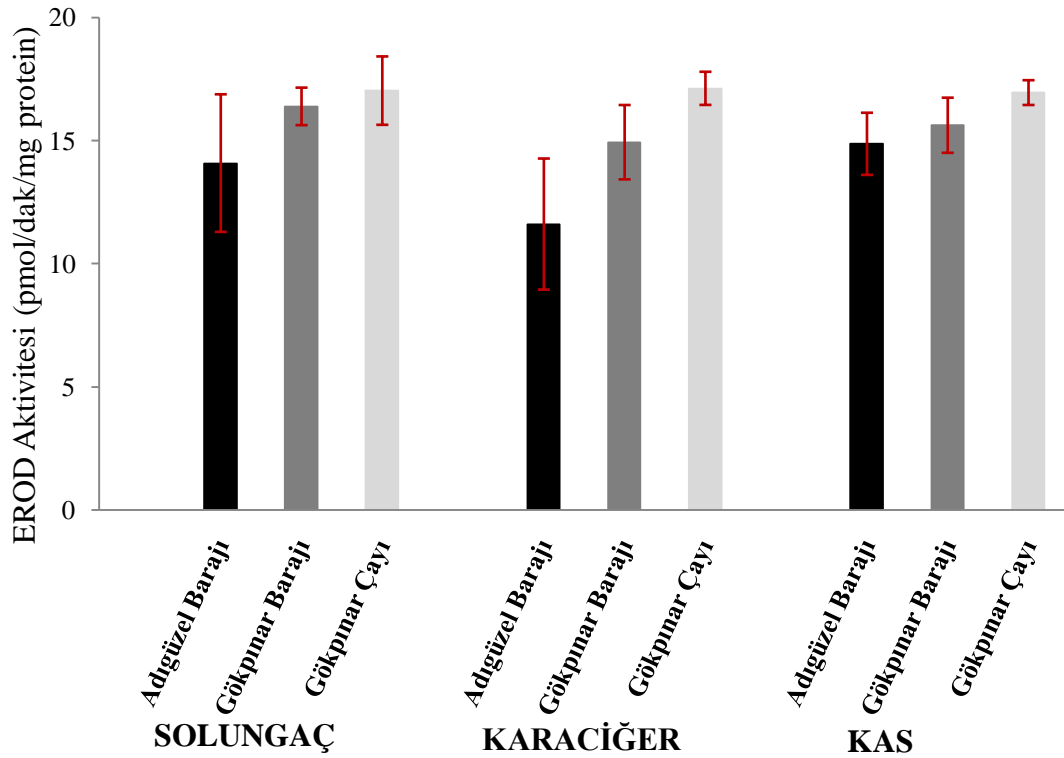
Gökpınar Çayı, Gökpınar Baraj Gölü ve Adıgüzel Baraj Gölü örnekleme noktalarından yakalanan balık örnekleri (*Cyprinus carpio*) ile yapılan tekrarlı ölçümler sonucu saptanan EROD aktivitelerinin ortalamaları, elde edilen sonuçların standart sapmaları ile birlikte Şekil 3.5'te verilmektedir. Grafiklerde verilen her bir nokta, en az üç set deney ve her bir deney en az üç kez yapılan tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak verilmiştir.

Elde edilen verilere göre, solungaçlarda en düşük EROD aktivitesi Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Adıgüzel Barajı'na oranla Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen EROD aktiviteleri 1,16 kat artış göstermiştir. Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen EROD aktivitelerinde ise Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan örneklere göre 1,2 katlık bir artış saptanmıştır.

Karaciğerde belirlenen en düşük EROD aktivitesi yine Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Adıgüzel Barajı'na oranla Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen EROD aktiviteleri 1,28 kat artış

göstermiştir. Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen EROD aktivitelerinde ise Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan örneklere göre 1,47 katlık bir artış saptanmıştır.

Son olarak kas dokusunda saptanan en düşük EROD aktivitesi Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Adıgüzel Barajı'na oranla Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen EROD aktivitelerinde 1,05 kat artış gözlenirken, Gökpınar Çayı'ndan yakalanan örneklerde ise Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan örneklere göre 1,14 katlık bir artış saptanmıştır.



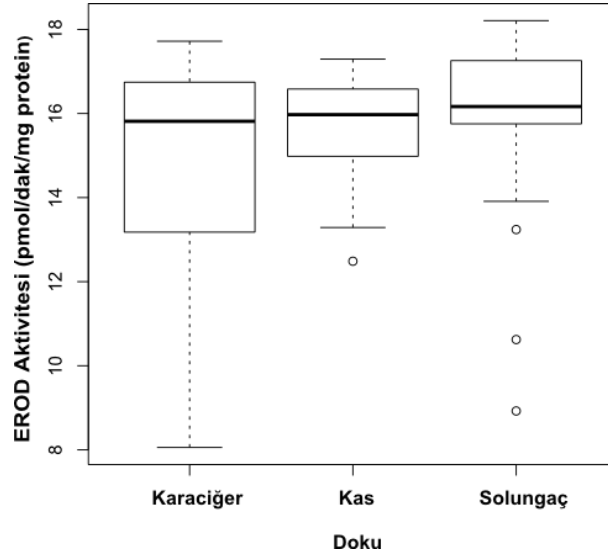
Şekil 3. 5: *Cyprinus carpio* balık türüne ait farklı doku ve örnekleme noktalarındaki ortalama EROD aktiviteleri. Ortalama EROD aktiviteleri ve standart sapmaları en az üç set deney ve her bir deney en az üç kez yapılan tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak verilmiştir.

Yapılan One Way Anova analizleri sonucu, solungaçlarda ölçülen EROD aktiviteleri karşılaştırıldığında Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,05$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,01$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu saptanmıştır. Gökpınar Çayı ve Gökpınar Barajı arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Karaciğerde ölçülen EROD aktivitelerine bakıldığında Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ile Gökpınar Barajı arasında ise $p<0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmaktadır.

Son olarak kas dokusunda; Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ile Gökpınar Barajı arasında $p<0,05$ seviyesinde anlamlı farklar gözlenmiştir.

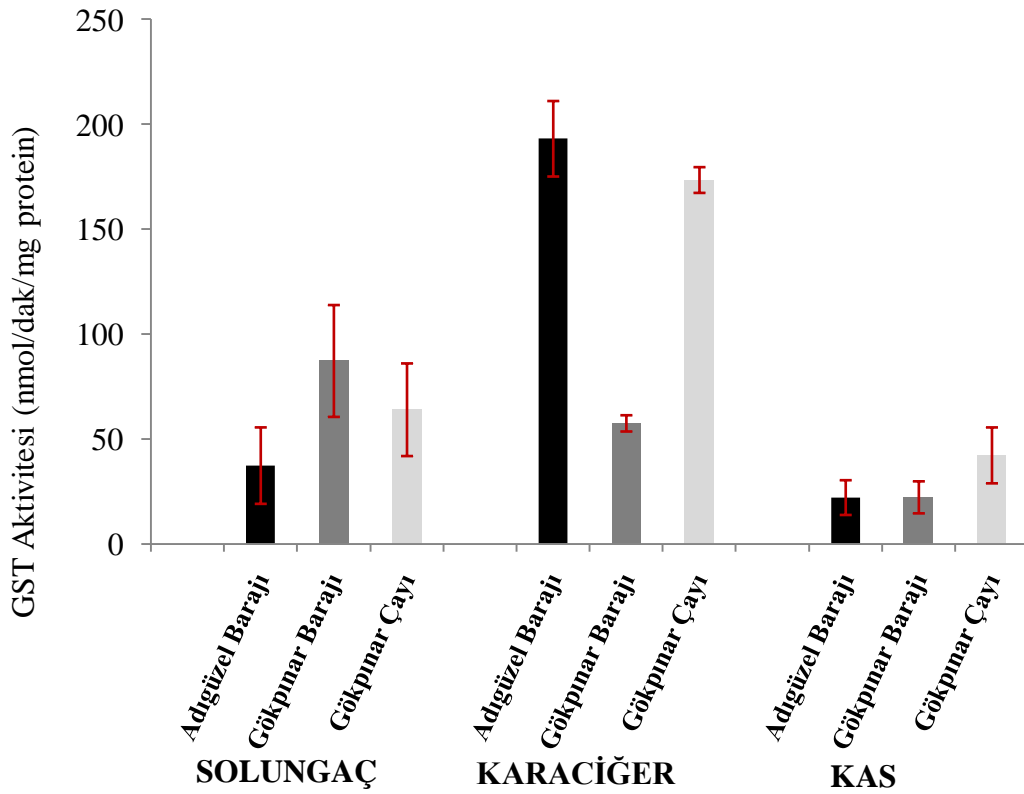
EROD aktivitelerini farklı dokularda istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda $p<0,05$ düzeyinde dokular arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3. 6: EROD aktivitelerinin tüm istasyonlardaki toplam değerlerinin dokulara göre dağılımı.

3.2.4 GST Aktivitesi

Gökpınar Çayı, Gökpınar Baraj Gölü ve Adıgüzel Baraj Gölü örnekleme noktalarından yakalanan balık örnekleri (*Cyprinus carpio*) ile yapılan tekrarlı ölçümler sonucu saptanan GST aktivitelerinin ortalamaları, elde edilen sonuçların standart sapmaları ile birlikte Şekil 3.7’de verilmektedir. Grafiklerde verilen her bir nokta, en az üç set deney ve her bir deney en az üç kez yapılan tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak verilmiştir.



Şekil 3. 7: *Cyprinus carpio* balık türüne ait farklı doku ve örnekleme noktalarındaki ortalama GST aktiviteleri. Ortalama GST aktiviteleri ve standart sapmaları en az üç set deney ve her bir deney en az üç kez yapılan tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak verilmiştir.

Elde edilen verilere göre, solungaçlarda en düşük GST aktivitesi Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Adıgüzel Barajı'na oranla Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen GST aktiviteleri 2,33 kat artış göstermiştir. Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen GST aktivitelerinde, Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan örneklere göre 1,7 katlık bir artış saptanmıştır.

Karaciğerlerde yapılan deneyler sonucunda en düşük GST aktivitesi Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Gökpınar Barajı'na oranla Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen GST aktiviteleri 3,35 kat artış göstermiştir. Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen GST aktivitelerinde ise Gökpınar Barajı'ndan yakalanan örneklere göre 3,01 katlık bir artış saptanmıştır.

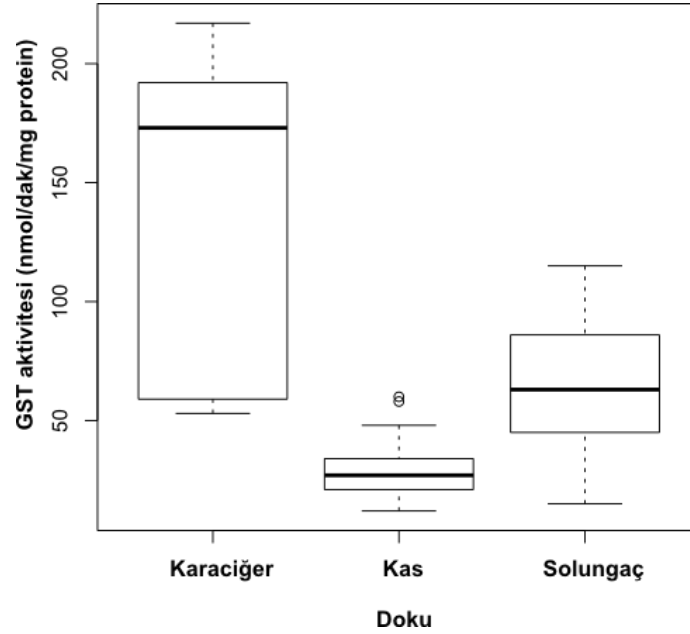
Son olarak kas dokularında saptanan en düşük GST aktivitesi Adıgüzel ve Gökpınar Barajları'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinde ise bu iki istasyona göre yaklaşık 1,9 kat daha fazla GST aktivitesi saptanmıştır.

Yapılan One Way Anova analizleri sonucu, solungaçlarda ölçülen GST aktiviteleri karşılaştırıldığında Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,01$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu saptanmıştır. Gökpınar Çayı ve Gökpınar Barajı arasında ise $p<0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır.

Karaciğerde ölçülen GST aktivitelerine bakıldığında Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ile Gökpınar Barajı arasında ise $p<0,001$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenmiştir.

Son olarak kas dokusunda; Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında istatistiksel olarak $p<0,05$ seviyesinde anlamlı bir fark bulunmazken, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ile Gökpınar Barajı arasında $p<0,001$ seviyesinde anlamlı farklar gözlenmiştir.

GST aktivitesini farklı dokularda istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda; kas ve karaciğer dokuları arasında $p<0,001$ seviyesinde, solungaç ve karaciğer dokuları arasında $p<0,001$ seviyesinde, solungaç ve kas dokuları arasında ise $p<0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur (Şekil 3.8).



Şekil 3. 8: GST aktivitelerinin tüm istasyonlardaki toplam değerlerinin dokulara göre dağılımı.

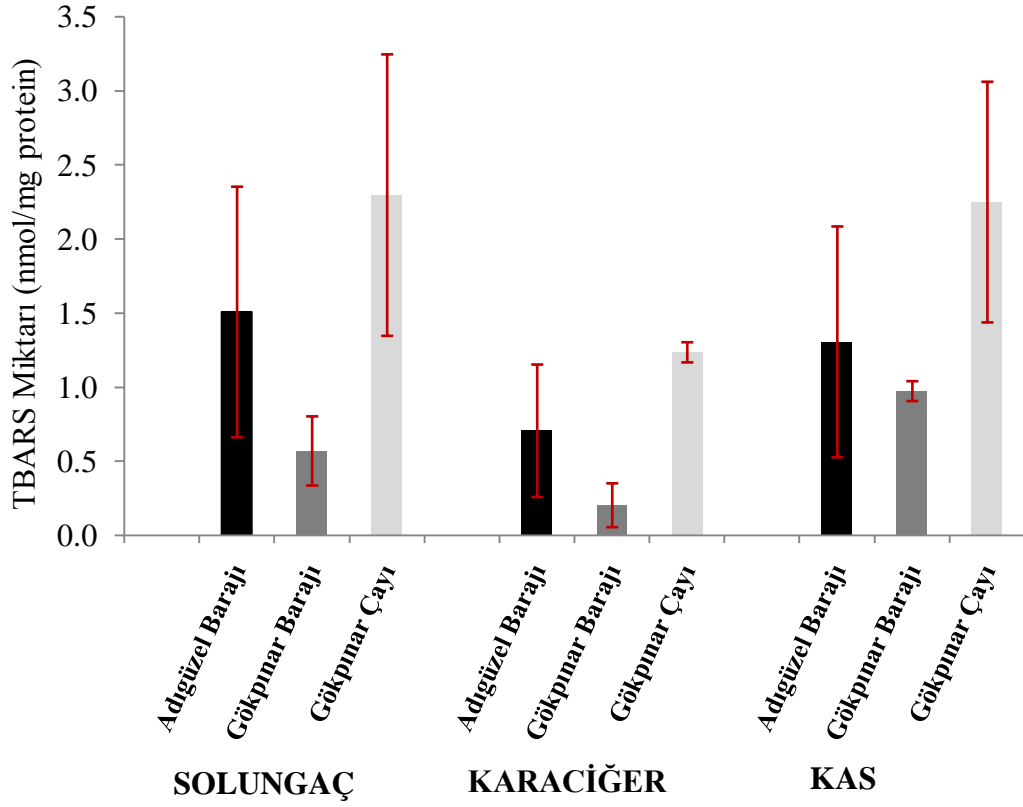
3.2.5 TBARS Miktarı

Gökpınar Çayı, Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı örnekleme noktalarından yakalanan balık örnekleri (*Cyprinus carpio*) üzerinde yapılan tekrarlı ölçümler sonucu saptanan TBARS miktarlarının ortalamaları, elde edilen sonuçların standart sapmaları ile birlikte Şekil 3.9'da verilmektedir. Grafiklerde verilen her bir nokta, en az üç set deney ve her bir deney en az üç kez yapılan tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak verilmiştir.

Elde edilen verilere göre solungaçlarda yapılan deneyler sonucunda en düşük TBARS miktarı Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Gökpınar Barajı'na oranla Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen TBARS miktarları 2,64 kat artış göstermiştir. Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen TBARS miktarları, Gökpınar Barajı'ndan yakalanan örneklere göre yaklaşık olarak 4 katlık bir artış göstermektedir.

Karaciğer dokusunda ise yine en düşük TBARS miktarı Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Gökpınar Barajı'na oranla Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerindeki TBARS miktarları 3,47 kat artış göstermiştir. Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen TBARS miktarları ise Gökpınar Barajı'ndan yakalanan örneklere göre yaklaşık olarak 6 katlık bir artış göstermektedir.

Son olarak kas dokusunda yapılan ölçümler sonucunda en düşük TBARS miktarı Gökpınar Barajı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülmüştür. Gökpınar Barajı'na oranla Adıgüzel Barajı'ndan yakalanan balık örneklerindeki TBARS miktarları 1,34 kat artış göstermiştir. Gökpınar Çayı'ndan yakalanan balık örneklerinde ölçülen TBARS miktarları ise Gökpınar Barajı'ndan yakalanan örneklere göre yaklaşık olarak 2,31 katlık bir artış göstermektedir.



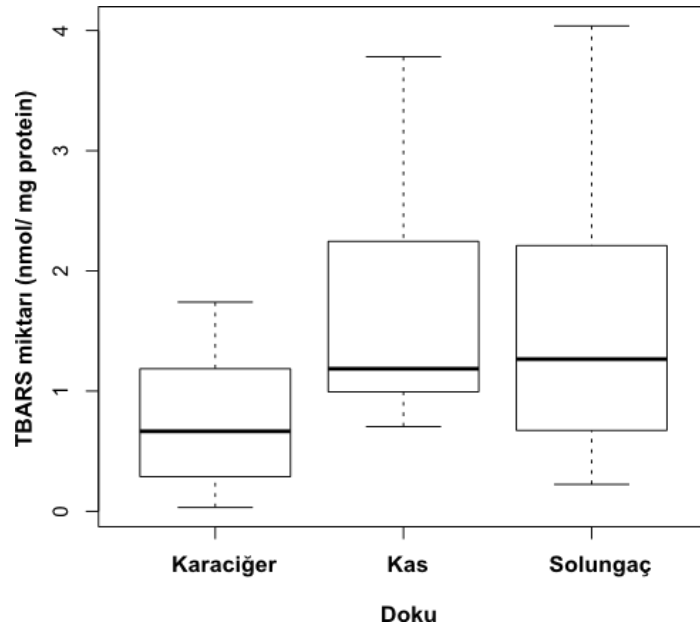
Şekil 3. 9: *Cyprinus carpio* balık türüne ait farklı doku ve örnekleme noktalarındaki ortalama TBARS miktarları. Ortalama TBARS miktarları ve standart sapmaları en az üç set deney ve her bir deney en az üç kez yapılan tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak verilmiştir.

Yapılan One Way Anova analizleri sonucu, solungaçlarda ölçülen TBARS miktarları karşılaştırıldığında Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında $p < 0,01$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p < 0,01$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu saptanmıştır. Gökpınar Çayı ve Gökpınar Barajı arasında ise $p < 0,001$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır.

Karaciğerde ölçülen TBARS miktarlarına bakıldığında Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında $p < 0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p < 0,001$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ile Gökpınar Barajı arasında ise $p < 0,001$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenmiştir.

Son olarak kas dokusundaki TBARS miktarları karşılaştırıldığında; Gökpınar Barajı ve Adıgüzel Barajı arasında istatistiksel olarak $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı bir fark bulunmazken, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı arasında $p < 0,01$ seviyesinde, Gökpınar Çayı ile Gökpınar Barajı arasında ise $p < 0,001$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenmiştir.

TBARS miktarlarını farklı dokularda istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda; kas ve karaciğer dokuları arasında $p < 0,001$ seviyesinde, solungaç ve karaciğer dokuları arasında $p < 0,001$ seviyesinde anlamlı farklar bulunurken, solungaç ve kas dokuları arasında ise $p < 0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3. 10: TBARS miktarlarının tüm istasyonlardaki toplam değerlerinin dokulara göre dağılımı.

4 SONUÇ VE ÖNERİLER

Gökpınar Barajı, Gökpınar Çayı ve Adıgüzel Barajı üzerinde belirlenen örnekleme noktalarından yakalanan balık örneklerinde pestisit, PAH ve ağır metal kirliliğinin göstergesi olan AChE, EROD ve GST aktiviteleri ile TBARS miktarları ve MT içerikleri ölçülmüştür. Ölçümler sonucunda istasyonlar ve dokular arasındaki farklar ortaya konulmuştur.

Son yıllarda, sanayi, tarım, madencilik, motorlu araçların kullanımı ve evsel atık gibi insan faaliyetleri sonucunda metal kirliliği oldukça artış göstermiştir. Ağır metallerin ve diğer ksenobiotiklerin neden olduğu çevresel kirlilik dünyada çok önemli bir problem haline gelmiştir. Ağır metaller hemen her akuatik sistemde bulunabilmekte ve organizmalara olası toksik etkileri ve besin zincirinde birikebilme yeteneklerinden dolayı tehlikeli maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bundan dolayı ağır metallerin birçoğu kirleticiler arasında öncelikli olarak kabul edilmektedir (Maruldalı 2010). Su ortamında metallerin birikimi uzun vadeli bir durumdur ve metaller, balıklar dahil sudaki çoğu organizma tarafından biriktirilir (Sevcikova ve diğ. 2013). Ağır metaller hemen hemen tüm organizmalarda vücuda besin, içilen su ve hava yoluyla alınmakta ve çeşitli dokularda birikebilmektedir. Balıklar ağır metalleri solungaçları aracılığıyla doğrudan sudan almaktadırlar. Solungaç yüzeyinde bağlanmada oluşan doygunluk sonucu metal intraselüler kompartmanlara geçmektedir. Bakırın büyük bir kısmı solungaçlarla alınmakta ve solungaçların basolateral membranlarındaki Cu-ATP az'larla kana taşınırlar (Aslanyavrusu 2010, Campbell ve diğ. 1999). Balıklar insanların beslenmeyle aldıkları metalin ana kaynağını oluşturmaktadırlar ve metal bakımından kirlenmiş alanlardan yenen balıklar insan sağlığını olumsuz etkilemektedir. Sucul organizmalar sadece bu metalleri biriktirmekle kalmaz, metallerle etkileşime girerek toksisitelerini değiştirirler (Sevcikova ve diğ. 2013). Balıklardaki farklı fizyolojik değişimler atık sularından gelen metal kirliliğinin önemli bir göstergesidir. Proteinler tüm biyolojik süreçlerde zararlı maddelerin atılımı ve etkisiz hale getirilmesi gibi çok önemli fonksiyonları kontrol eden makromoleküllerdir (Roy ve diğ. 2011).

Tüm metaller, özellikle Cd, Pb, Hg ve Cu yüksek konsantrasyonlarda toksik etki gösterirler, enzim fonksiyonlarını bozarlar ve reaktif oksijen türlerini meydana getirirler (Babula ve diğ. 2008).

Canlılardaki metal iyonlarının etkisini araştırmak için kullanılan en yaygın yöntemlerden biri MT miktarının ölçülmesidir. MT miktarının biyomarkör olarak kullanımını oldukça çekicidir; çünkü hassas derecelerde kolayca değerlendirilebilir, uygulanması kolay ve basittir (Viarengo ve diğ. 1997).

MT içeriği hem kontrol grubunda hem de kirliliğe maruz kalan balıklarda tür, yaş, cinsiyet, beslenme ve doku tipine bağlı olarak değişimler göstermektedir (Rhee ve diğ. 2009). Sevcikova ve diğ. (2013) yaptıkları çalışmada metal bakımından kontamine olmuş baraj göllerinde farklı balık türleri arasındaki MT içeriklerini ölçmüşlerdir ve avcı türlerde beslenmeye bağlı olarak MT seviyesinin daha yüksek olabileceğini düşünmüşlerdir. Bunun yanında farklı dokulardan yapılan ölçümlerde en yüksek MT içeriğinin karaciğerde olduğunu belirlemişlerdir. Hashemi ve diğ. (2008) bakırla kontamine olmuş iki farklı ortamda bulunan sazanlar (*Cyprinus carpio*) üzerinde yaptıkları çalışmada bir gruba yem vermiş diğer gruba ise aç bırakmışlardır. Daha sonra karaciğer ve solungaçlardan alınan dokularda MT içeriği ölçülmüştür. Çıkan sonuçlara göre yemle beslenen balıkların vücudunda MT içeriğinin daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasının numunelerinin toplanması sırasında, yakalanan balıkların aynı türden ve vücut büyüklüğü bakımından da çok fazla varyasyon göstermemesine özellikle dikkat edilmiştir.

Karaciğer metal biriktirmede çok önemli indikatör bir organdır. Balıklarda karaciğerin, metallerin depolanmasında ve detoksifikasyonunda görev yapan önemli bir organ olduğu belirtilmiştir (Ali ve diğ. 2003). Wu ve diğ. (2005) MT içerik ölçümünün hangi dokularda daha iyi yanıt verdiğini araştırmış ve 96 saat boyunca 100 ng/ml kortizol ve 100 µM bakır sülfata (CuSO₄) maruz bıraktığı tilapialardan (*Oreochromis mossambicus*) karaciğer, solungaç ve bağırsak dokularını disekte etmiş ve bu dokulardaki MT içeriklerini ölçmüştür. Elde ettiği sonuçlara göre ölçüm yapılan tüm zamanlarda karaciğer dokusundaki MT içeriğinin fazla olduğunu belirlemişlerdir. Daha önceki çalışmalarda, 30 saat boyunca 55,2 µM bakıra maruz bırakılan *Opsanus beta*'da bakır birikiminin safra > karaciğer > bağırsak > solungaç > böbrek şeklinde olduğunu belirlemişlerdir (Grosell ve diğ. 2004). Yaygın olarak

bulunabilen sazanlar (*Cyprinus carpio*) Cd ve Zn'ye 29 gün boyunca maruz bırakılmış ve karaciğer MT içeriğinin böbrek ve solungaçlara göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (De Smelt ve diğ. 2001). Kovarova ve diğ. (2009) 24, 48, 72, 96 saat boyunca kadmiyum kloride maruz bıraktıkları sazanların kas, karaciğer ve böbrek dokularındaki MT içeriklerini ölçmüşlerdir. Deney sonucunda karaciğer ve böbrekte ilk 24 saatten itibaren belirgin bir artış gözlenmiştir. Kaslarda ise son 24 saatlik periyotta MT içeriğinde belirgin bir artış gözlemiştir. Bunun sebebi olarak ağır metallerin hedef organ olarak ilk önce karaciğer ve böbreğe yerleştiğini düşünmüşlerdir. Yaptığımız çalışmada MT değerinin en yüksek olduğu doku karaciğer olarak kaydedilmiştir. Fakat diğer dokular ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır (Tablo 4.1).

Tablo 4. 1: Adıgüzel Barajı, Gökpınar Barajı ve Gökpınar Çayı'nda farklı dokularda ölçülen; AChE, GST ve EROD aktiviteleri ile MT ve TBARS içerikleri . ($\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama \pm Standart sapma şeklinde tabloda gösterilmiştir.)

MT içeriği ($\mu\text{g/g}$ doku ağırlığı)			
	Solungaç ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Karaciğer ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Kas ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Adıgüzel Barajı	366,23 \pm 72,88	556,91 \pm 154,78	389,53 \pm 76,81
Gökpınar Barajı	418,05 \pm 13,74	281,46 \pm 8,14	310,08 \pm 20,90
Gökpınar Çayı	223,90 \pm 5,16	286,01 \pm 29,04	200,97 \pm 24,43
AChE aktivitesi (U/dak/mg protein)			
	Solungaç ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Karaciğer ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Kas ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Adıgüzel Barajı	138,33 \pm 7,50	113,00 \pm 37,80	197,28 \pm 42,43
Gökpınar Barajı	144,66 \pm 7,09	131,66 \pm 13,79	119,66 \pm 10,78
Gökpınar Çayı	61,00 \pm 1,41	97,00 \pm 10,14	94,00 \pm 12,90
EROD aktivitesi (pmol/dak/mg protein)			
	Solungaç ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Karaciğer ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Kas ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Adıgüzel Barajı	14,07 \pm 2,79	11,6 \pm 2,66	14,86 \pm 1,26
Gökpınar Barajı	16,37 \pm 0,76	14,92 \pm 1,50	15,61 \pm 1,11
Gökpınar Çayı	17,02 \pm 1,38	17,11 \pm 0,67	16,94 \pm 0,50
GST aktivitesi (nmol/dak/mg protein)			
	Solungaç ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Karaciğer ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Kas ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Adıgüzel Barajı	37,36 \pm 18,22	193,16 \pm 17,99	22,12 \pm 8,28
Gökpınar Barajı	87,25 \pm 26,66	57,50 \pm 3,87	22,25 \pm 7,63
Gökpınar Çayı	64,00 \pm 22,08	173,50 \pm 6,13	42,25 \pm 13,32
TBARS miktarı (nmol/mg protein)			
	Solungaç ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Karaciğer ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Kas ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Adıgüzel Barajı	1,50 \pm 0,84	0,70 \pm 0,44	1,30 \pm 0,77
Gökpınar Barajı	0,56 \pm 0,23	0,20 \pm 0,14	0,97 \pm 0,06
Gökpınar Çayı	2,29 \pm 0,94	1,23 \pm 0,06	2,24 \pm 0,81

Roy ve diğ. (2011) de ise ağır metal kirliliğine maruz kaldığı bilinen üç farklı balık havuzundan, farklı türden balıklarda ve farklı dokulardaki (karaciğer, kas, solungaç ve beyin) MT içeriğini ölçmüşlerdir. Çalışma sonucunda dokulardaki MT içeriği karaciğer>solungaç \geq kas>beyin olarak ölçülmüştür. Bunun yanında ağır metal kirliliğine maruz kaldığı bilinen balıkların kontrol grubuna göre MT içeriğinin yüksek olduğu kaydedilmiştir. MT değerinin solungaçlarda ve kaslarda eşit çıkması çalışmamıza benzer bir sonuç göstermektedir.

Viarengo ve diğ. (1997) aylık frekanslarda yaptıkları çalışmada molluscalarda haziran ve temmuz aylarında artan ağır metal (Zn) miktarına göre MT miktarının arttığını belirlemişlerdir. Siskar ve diğ. (2014) iki ay boyunca 15 ve 20 °C’de bırakılan *Solea senegalensis*’lerin bu süreç sonunda karaciğer ve böbrek dokularındaki MT içeriklerini ölçmüşler ve 20 °C’deki balıklarda MT içeriği daha yüksek çıkmıştır. Yaptığımız çalışmada su sıcaklıkları daha yüksek olan baraj göllerinde (bkz: Tablo 3.1), akarsuya göre daha yüksek MT içeriği saptanmıştır. Bu açıdan çalışmamız Viarengo ve diğ. (1997) ile Siskar ve diğ. (2014) çalışmalarıyla benzerlik göstermektedir.

Roy ve diğ. (2011), Kovarova ve diğ. (2009), Wu ve diğ. (2005), Grosell ve diğ. (2004), De Smelt ve diğ. (2001) yaptıkları farklı çalışmalarda ağır metallere maruz bırakılan balıklarda MT içerikleri kontrol gruplarına göre önemli artış göstermiştir. Çalışmamızda MT içerikleri istasyonlar arasında Adıgüzel Barajı>Gökpınar Barajı>Gökpınar Çayı şeklindedir (Tablo 4.1). MT içeriğinin en yüksek çıktığı Adıgüzel Barajı, özellikle barajın iki ana kolu olan Banaz ve Dokuzsele civarında şekerpancarı ve deri fabrikaları ve tekstil sanayii yer almakta, buralardan geçen akarsu ve çaylara evsel atıklar verilmektedir. Bu nedenle yoğun ağır metale maruz kaldığı bilinmektedir. Yaptığımız çalışmada halk arasında kirli baraj olarak bilinen Adıgüzel Barajı’nın ağır metal açısından kirli olduğu ortaya çıkarılmıştır. Gökpınar barajı ise Denizli İli’nin rakım olarak aşağı kısmında bulunmakta zamanla barajlarda birikim ve jeolojik süreçlerle ağır metallerin biriktiği düşünülmektedir. Bunun sonucunda MT içeriğinin baraj gölünü besleyen Gökpınar Çayı’ndan yüksek çıktığı düşünülmektedir. Ağır metal maruziyetini tespit etmek için yaptığımız MT içerik tayinleri ağır metal kontaminasyonuna işaret etse de tabii ki verilerimizi su ve sediment örneklerinde ağır metal analizleri ile desteklemek daha doğru olacaktır.

Wirk ve diğ. (2014) bisfenol A (BPA) ya maruz bıraktıkları sazanlarda ise (*Cyprinus carpio*) karaciğer dokusunda MT içeriğinde bir değişim olmadığını, fakat böbrek dokusunda MT içeriğinin anlamlı bir şekilde azaldığını belirlemişlerdir ve bu durum çoğu çalışmayla tezatlık göstermektedir. Şimdiye kadar örneği verilen tüm çalışmalar *in vitro* ortamlarda spesifik ayıraçlar kullanılarak yapılmıştır. Bizim

çalışmamız ise *in vivo* koşullarda gerçekleştirildiğinden birçok faktör MT içeriğini etkilemiş olabilir.

Canlılarda farklı yerlerde ve yapılarda bulunan enzimlerin aktiviteleri çeşitli kirletici maddelerden etkilenmektedir. Karbamat grubu pestisitler, ağır metaller ve deterjanlar güçlü AChE inhibitörleridirler. Etkilenme oranı enzimin yapısına ve etki eden kirletici maddeye bağlı olarak değişir (Çapkın 2011, Varo ve diğ. 2003). Birçok çalışmada toksik maddelerin canlılar üzerine etkilerini belirlemek için özellikle enzimler kullanılmıştır. Bu enzimlerden bir tanesi AChE'dir. AChE'nin kirletici maddelere karşı duyarlılığı ve seçiciliği, bu enzimin farklı doku ve organlardaki aktivitesi ölçülerek tespit edilmektedir.

AChE omurgalı ve omurgasız hayvanlarda doğal ve laboratuvar koşullarında bir biyomarkör olarak geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Balıklarda AChE aktivitesi tatlı su kirliliğine tepkide çok hassas bir biyomarkör olarak kullanılmaktadır (De La Torre ve diğ. 2000).

Çapkın (2011) karbosülfanın, gökkuşağı alabalıklarındaki AChE enzimi üzerindeki etkilerini incelemiş ve 60 gün boyunca karbosülfana maruz bırakılan balıklarda kontrol grubuna göre AChE enzim aktivitesinde ilk hafta bir değişim olmadığı, 2. hafta sonunda %27 lik, 3. hafta sonunda ise %41 oranında inhibisyon belirlemiştir. Zn ve Hg etkisine bırakılan *Carcinus means*'da her iki metalinde AChE aktivitesini sırasıyla %51 ve %32 düzeyinde azalmasına neden olduğu belirtilmiştir (Elumalai ve diğ. 2007). Araştırmacılar *C. means*'daki bu azalmanın metallerin nörotransmitter asetilkolin sinapsını etkilemesi sonucu olabileceğini belirtmişlerdir. 96 saat boyunca karbamat herbisit olan tiyobenkarba maruz bırakılan *Anguilla anguilla*'da AChE aktivitesinde yüksek derecede inhibisyon olduğu gözlemlenmiştir (Sancho ve diğ. 2000). Roex ve diğ. (2003) yaptıkları çalışmada paratyonun etkisine maruz bırakılan zebra balıklarında (*Danio rerio*) AChE aktivitesinin kontrol balıklarına göre azaldığını belirlemişlerdir. Yılmaz (2010) yaptığı çalışmada 21 gün boyunca siflutrine maruz bırakılan sığanların karaciğer ve böbrek dokularında AChE aktivitesinin kontrol grubuna (fizyolojik salin) göre azaldığını belirlemişlerdir. Daha önceki yapılan çalışmalar AChE aktivitesinin pestisit, ağır metal ve deterjanlar gibi çeşitli kirleticiler tarafından inhibe edildiğini göstermiştir. Çalışmamızda MT miktarının düşük olarak ölçüldüğü Gökpınar Çayı'ndaki sazanların, AChE

aktivilerindeki inhibisyonun (bkz: Tablo 4.1) nedeninin ağır metallere kaynaklanmadığı, inhibisyonun sebebinin etrafında yoğun tarım arazisi ve seraların bulunduğu bu istasyonda pestisitlere daha fazla maruz kalmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Maruldalı (2010) yaptığı çalışmada 28 gün boyunca Pb ve Pb+ Selenyum (Se) karışımına maruz bıraktığı *Oreochromis niloticus*'dan aldığı karaciğer, böbrek, beyin ve solungaç dokularında AChE aktivitesini ölçmüş ve beyin hariç diğer dokularda aktivitenin azaldığını belirlemiştir. Beyinde ise diğer dokuların tersine AChE aktivitesinde kontrol grubuna göre bir artış belirlenmiştir. Benzer bir çalışmada 48 saat boyunca kadmiyuma maruz bırakılan *Barbus conchoni* balığında solungaç dokusu AChE aktivitesi azalmış, beyin dokusu AChE aktivitesi ise artmıştır (Gill ve diğ. 1991). Yaptığımız çalışmada kas, karaciğer ve solungaçlardaki AChE aktivitesi benzer sonuçlar vermiştir ve istatistiksel olarak dokular arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Bunun yanında AChE kirlenmeye maruz kalan istasyonu bariz bir şekilde belli etmiştir fakat diğer istasyonlar arasındaki tezatlık nedeniyle birden fazla dokuda bakılmasının daha yararlı olacağı düşünülmektedir.

Kara-su arayüzünde deniz ve tatlı su ekosistemleri sıklıkla antropojenik kaynaklardan elde edilen kirlenmelere maruz kalmaktadır. Ancak sudaki kontaminasyonu belirlemek amacıyla sadece birkaç etkili yöntem çevre etki değerlendirmesi için kullanılmaktadır (Hasbi ve diğ. 2011, Van der Oost ve diğ. 2003). PAH kontaminasyonunun etkili bir çevre biyobelirteci olarak EROD aktivitesinin başarılı kullanımı yeterli kanıt olsa da doku ya da homojenat depolama sırasında enzimin katalitik aktivitesinin korunmasındaki tutarsızlıklar deneyi etkileyebilir (Krüner ve Westernhagen 1999). Wessel ve diğ. (2010) *Solea solea*'yı 28 gün boyunca (B(a)P, piren ve floranten içeren PAH karışımına maruz bırakmışlar ve karaciğerde 7 günlük ölçümler sonucunda artan PAH konsantrasyonunda, kontrol grubu ve PAH'a maruz bırakılan balıklar arasında EROD aktivitesinde istatistiksel olarak bir fark bulamamışlardır. Richardson ve diğ. (2001) yaptıkları çalışmada total PAH konsantrasyonları bilinen farklı istasyonlardan yakaladıkları pisi balıkları (*Platichthys flesus*) karaciğerindeki EROD aktivitesini ölçmüşlerdir. Çalışma sonucunda istasyonlar arasında $p<0,05$ seviyesinde anlamlı bir sonuç bulamamışlardır. Ortiz-Delgado ve diğ. (2007) 20 gün boyunca 100 µg/l, 200 µg/l,

300 µg/l ve 500 µg/l'lik dozlarda B(a)P'a maruz bırakılan çipura (*Sparus aurata*)'ların karaciğer ve solungaçlarından elde ettiği mikrozomlarda EROD aktivitesini ölçmüşlerdir. Deney sonucunda artan B(a)P konsantrasyonuna bağlı olarak karaciğerde EROD aktivitesinin önemli ölçüde arttığını, solungaçlarda ise en fazla aktivite 200 µg/l'lik B(a)P konsantrasyonunda maximum seviyeye ulaştığını, 300 ve 500 µg/l'lik B(a)P konsantrasyonlarında ise aktivitenin kontrol grubuna göre arttığı fakat maksimum (200 µg/l) seviyeye göre azaldığını belirlemişlerdir. Cheevaporn ve diğ. (2010) 9 gün boyunca piren naftalin, fenantren ve piren gibi PAH metabolitlerine ve bunun yanında yağ, benzin ve mazota maruz bırakılan nil tilapyasında (*Oreochromis niloticus*) karaciğer ve safra EROD aktivitesinde birinci günden itibaren anlamlı bir artış saptamışlardır. Özellikle piren ve fenantrene maruz bırakılan balıklarda EROD aktivitesi diğer kimyasallara nazaran iki kat daha fazla ölçülmüştür. Yaptığımız çalışmada EROD aktivitesi, dokular arasında farklılık göstermemektedir. EROD aktivitesi açısından dokular arasında herhangi bir farkın olmaması, EROD çalışmalarının tek bir dokudan yapılabilirliğinin göstergesi olabilir. Bunun yanında PAH bileşikleri tüm yanma olayları sonucunda açığa çıkan bileşiklerdir ve PAH'lara maruz kalan canlılarda EROD aktivitesi indüklenmektedir. Denizli-Antalya karayolunun uzun bir bölümünde yol kenarından akan Gökpınar Çayı'nda EROD aktivitesinin diğer istasyonlara göre daha fazla olmasının nedeni PAH bileşiklerine daha fazla maruz kalmasından kaynaklanmış olabilir.

GST, memelilerde, böceklerde, balıklarda, kuşlarda, annelid, mollusk ve birçok mikroorganizmada bulunmaktadır. En sık rastlandığı dokular, başta karaciğer olmak üzere, incebağırsak, kalınbağırsak, böbrek, akciğer, meme, kas, dalak, testis ve plasenta gibi birçok organın sitosolü ve membranıdır (Habig ve diğ. 1974). Yaptığımız çalışmada GST aktivite ölçümlerinde karaciğer, kas ve solungaç olmak üzere 3 farklı doku kullanılmıştır.

Güngördü ve Ozmen (2010) yaptıkları çalışmada Karakaya Barajı'ndan yakalanan *Cyprinus carpio*'da karaciğer GST aktivitesinin sezona bağlı olmadığını belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada sonuçlar 6 aylık periyotta yakalanan balıklardaki enzim aktiviteleri benzer sonuçlar vermiştir. Bundan dolayı bütün ölçümlerin ortalaması alınarak istasyonlar karşılaştırılmıştır.

Arı ve Dere (2002) yaptıkları çalışmada benzenin karaciğer GST enzimi üzerine etkilerini araştırmışlardır ve benzenin GSH ve CDNB konjugasyon tepkimesini inhibe ettiğini bulmuşlardır. Elumalai ve diğ. (2002) bakır ve kromun etkisine maruz bıraktıkları *Carcinus means*'in serumunda AChE ve hepatopankreas dokusunda GST enzim aktivitelerinin azaldığını belirtmişlerdir.

Oruç ve diğ. (2004) sazan ve tatlısu çipurasını 96 saat boyunca 2,4-D ve azinfosfometile maruz bırakmış ve GST enzim aktivitesinin tüm dokularda artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Monteiro ve diğ. (2006) OP insektisit olan metil paratyon'a 96 saat boyunca maruz bırakılan *Brycon cephaon*'un kas, karaciğer ve solungaçlarındaki GST aktivitelerinde kontrol grubuna göre önemli derecede artış saptamışlardır. Yonar ve diğ. (2014) kurcuminin gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) bazı antioksidan parametrelere olan etkisini incelemiş ve farklı dozlarda 21 gün süreyle kurcumine maruz bırakılan balıklarda karaciğer, böbrek ve dalaktan yapılan ölçümlerde, bu dokularda MDA ve GSH düzeyi ile glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR) ve GST enzim aktivitelerini ölçmüşlerdir. Kurkumin uygulanan balıklarda MDA düzeyinin düştüğü, GSH-Px, GR ve GST aktiviteleri ile GSH düzeyinin ise arttığını belirlemişlerdir. Dokular arasında GST aktivitesi karşılaştırıldığında karaciğerde diğer dokulara oranla yaklaşık 2 kat daha fazla aktivite ölçmüşlerdir. Yaptığımız çalışmada GST aktivitesi dokulara göre karşılaştırıldığında aktivite düzeyi karaciğer>solungaç>kas olarak ölçülmüştür (Tablo 4.1). Karaciğerde ise diğer dokularla karşılaştırıldığında yaklaşık olarak 4 kat daha fazla aktivite ölçülmüştür ve çalışmamız bu açıdan Yonar ve diğ. (2014) ile benzerlik göstermektedir. İstasyonlara bakıldığında, özellikle Adıgüzel Barajı'nda diğer istasyonlara göre daha yüksek GST aktivitesinin özellikle Banaz kolundan direk olarak baraja verilen sanayi atıklarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında Gökpınar Çayı'ndaki yüksek GST aktivitesinin ise özellikle tarım arazilerinden ve çay üzerindeki alabalık çiftliklerinin yarattığı kirlilikten dolayı oluşabileceği düşünülmektedir.

Oksijen molekülünün bi-radikal formu yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarına imkan vermektedir. Oksijenin dört değerlikli indirgenmesi (mitokondriyal elektron taşıma zincirinin sonunda sitokrom oksidaz enzimi tarafından) sonucu su meydana gelmektedir. Fakat oksijende meydana gelecek tek

değerlikli bir indirgenme süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi birçok ara ürün ortaya çıkarmaktadır. Bu radikallerin oluşma miktarları, dışarı atılma miktarlarını aşıyorsa o zaman oksidatif stres meydana gelmektedir. Bu durumda ise proteinlerin, DNA'nın ve steroidlerin oksidasyonu ve hücre zarının yapısında yer alan doymamış yağların peroksidasyonu gibi zararlı etkiler meydana gelmektedir (Atasever ve Arslan 2009). Oksidatif hasarın örnekleri olarak: Monteiro ve diğ. (2006) yaptıkları çalışmada, OP insektisit olan metil paratyon'a 96 saat boyunca maruz bırakılan *Brycon cephaon*'un kas ve solungaçlarındaki lipid peroksidasyon miktarı artarken karaciğerde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. 90 gün süresince farklı derişimlerdeki kağıt fabrikası atık sularına maruz bırakılan *Heteropneustes fossilis*'in karaciğerinde MDA düzeyinin değişmediği; ancak böbrek ve solungaçlarda arttığı bildirilmiştir (Fatima ve diğ. 2000). Yaptığımız çalışma, Monteiro ve diğ. (2006) ve Fatima ve diğ. (2000)'nin çalışmalarına benzerlik göstermektedir. Buna göre, TBARS miktarları, kas ve karaciğer dokuları arasında $p < 0,001$ seviyesinde, solungaç ve karaciğer dokuları arasında $p < 0,001$ seviyesinde, solungaç ve kas dokuları arasında ise $p < 0,05$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir. Bununla birlikte karaciğerde ölçülen değer solungaç ve kaslara göre en az 2 kat daha azdır.

Oakes ve Van Der Kraak (2003) kağıt fabrikası tarafından kimyasal atıklara maruz bırakılan nehrin, fabrikanın bulunduğu yerin üst kısmı, hemen alt kısmı ve fabrikadan sonra 40 km aşağı taraftan yakaladıkları balıkların (*Catostomus commersoni*) karaciğerindeki TBARS miktarlarını ölçmüşlerdir. Yapılan ölçümler sonucunda fabrikanın üst kısmında yakalanan balıklarda TBARS miktarlarının fabrikanın hemen aşağı kısmından yakalananlara göre daha düşük çıktığını, 40 km aşağıda ise TBARS miktarlarının fabrikadan direkt maruz kalanlara göre azaldığını; fakat hiç maruz kalmayan kısma göre yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Hamre ve diğ. (2001) içerisinde peroksidasyona oldukça duyarlı olan PUFA bulunan yemlerle besledikleri balıkların karaciğer ve kas dokularındaki TBARS miktarının kontrol grubundan daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Kas ve karaciğer dokularında ise TBARS miktarları açısından bir fark bulunamamıştır. Sazan yavruları (*C. carpio*) ile yapılan bir çalışmada Sepici ve diğ (2009) siflutrinin subletal dozajına (10 µg/l) 48 saat boyunca balıkları maruz bırakmışlar ve *C. carpio*' nun beyin dokusunda MDA miktarının arttığını belirlemişlerdir. Yılmaz (2010) yaptığı çalışmada 21 gün

boyunca siflutrine maruz bırakılan sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında MDA düzeyinin kontrol grubuna göre arttığını belirlemiştir. Dokular arasındaki farka bakıldığında böbrekte MDA düzeyinin daha fazla olduğunu belirlemiştir. Varanka ve diğ. (2001) 24 ve 48 saat boyunca tanik asit, bakır sülfat ve tanik asit+bakır sülfat karışımı içeren ortamlara bırakılan sazan balıklarının (*Cyprinus carpio*) karaciğerlerindeki TBARS miktarının kontrol grubuna göre artış gösterdiğini belirlemiştir. Kontaminasyon süresi ile TBARS miktarları arasında bir fark bulamamışlardır. Tagliari ve diğ. (2004) 24 saat boyunca kroma maruz bırakılan tilapia (*Oreochromis niloticus*) ve farelerde karaciğer dokusunda TBARS miktarında anlamlı bir artış belirlemiştir. Çalışmamızda Adıgüzel Barajı ve Gökpınar Çayı'ndaki yüksek TBARS miktarı bu alanlarda oksidasyon başlatıcı etmenlerin yüksek olduğunu göstermektedir. Farklı dokularda yapılan ölçümlerin hepsi oksidatif hasarın olduğu istasyonu bariz göstermektedir fakat hasarın miktarı dokular arasında farklılık göstermektedir. Bu yüzden daha sonra yapılacak çalışmalar için solungaç ya da kas TBARS miktarlarını belirlemede daha etkili olarak kullanılabilir.

TBARS içeriğini artıran maddelerin yanında içeriğin azalmasına neden olan ya da miktarı değiştirmeyen maddeler de vardır. Örneğin Hai ve diğ. (1997) diklorvos etkisindeki *C. caprio*'da karaciğer, böbrek, solungaç, kas ve kalpte lipid peroksidasyonu düzeyinin derişime bağlı olarak azaldığını, *I. nebulosus*'da ise lipid peroksidasyonu düzeyinin tüm dokular içinde sadece beyin dokusunda arttığını belirlenmişlerdir. Oruç ve diğ. (2004) sazan ve tatlı su çipurasını 96 saat boyunca 2,4-D ve azinfosfometile maruz bırakmış ve farklı dokularda yaptığı ölçümler sonucunda MDA içeriğinde bir değişim bulamamışlardır.

Sonuç olarak çoklu kirleticilerin bulunduğu ortamlarda kirletici düzeylerinin ve etkilerinin saptanması gerçekten önemli bir problemdir. Çünkü her parametrenin etkilendiği faktörlerin çokluğu ve bunların bir arada olması etki tespitlerini son derece zor kılmaktadır. Bütün bunlara rağmen çalışmamızda, belirlediğimiz örnekleme noktalarından yakaladığımız balıklarda ölçülen AChE, EROD ve GST aktiviteleri ile MT ve TBARS düzeylerinin analizleri ilişkilendirilerek istasyonlar ve kullanılan dokular arasındaki farklar verilmiştir.

5 KAYNAKLAR

Abdel-Halim, K. Y., Salama, A. K., El-khateeb, E. N., and Bakry, N. M., “Organophosphorus Pollutants (OPP) in Aquatic Environment at Damietta Governorate, Egypt: Implications for Monitoring and Biomarker Responses”, *Chemosphere.*, 63: 1491-1498, (2006).

Akın, M., Akın, G., “Suyun önemi, Türkiye’de Su Potansiyeli, Su havzaları ve Su Kirliliği”, *Ankara Üniversitesi Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi*, 47, 2, 105-118, (2007).

Ali, A., Al-Ogaily, M., Al-Asgah, N.A. and Gropp, J., “Effect of Sublethal Concentrations of Copper on the Growth Performance of *Oreochromis niloticus*”, *Journal of Applied Ichthyology*, 19, 183-188, (2003).

Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Barka, S., Pelerin, J., Rainbow, P. S., “Metallothioneins in Aquatic Invertebrates: Their Role in Metal Detoxification and Their Use as Biomarkers”, *Aquatic Toxicol.*, 76, 16-202, (2006).

Arı, F., Dere, E., “Benzen”in Karaciğer Glutasyon S-transferaz Enzim Aktivitesine *In Vitro* Etkisi”, *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 24, 1, (2003).

Arınc, E., Sen, A., Bozcaarmutlu, A., “Cytochrome P4501A and Associated Mixed-Function Oxidase Induction in Fish as a Biomarker for Toxic Carcinogenic Pollutants in the Aquatic Environment”, *Pure Appl. Chem.*, 72, 6, 985-994, (2000).

Armstrong, R. N., “Glutathione Transferases”, *Comprehensive Toxicology, Biotransformation*, 3, 307-327, (1997).

Aslanyavrusu, S., “Bakır Ve Bakır+Edta Kompleksinin Etkisine Bırakılan *Oreochromis Niloticus* (L.)’Da Bakırın Kan Dokusunda Birikimi Ve Serum Enzim Aktivitelerine Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, (2010).

Atalık, A., “Küresel ısınmanın su kaynakları ve tarım üzerine etkileri”, *Bilim ve Ütopya*, 139, 18-21, (2006).

Atasever, A. ve Arslan, M., “Balıklarda Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi” *15. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*, Rize, (2009).

Babula, P., Adam, V., Opatrilova, R., Zehnalek J., Havel, L., Kizek, R., “Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity:a review” *Environ Chem Lett*, 6,189–213, (2008).

Bakry, N. M., Osman, K. A., El-Aswad, A. F., Abde-Halim, Kh. Y., Abou-Donina, M. B., “Biomonitoring of Pesticide Contamination from the Pesticide Industry”, *J. Egypt. Soc. Toxicol.*, 24, 107-111, (2001).

Başaran, K.A. ve Egemen, Ö., “Orta Toros Dağlarındaki Eğrigöl”ün su kalitesi parametrelerinin araştırılması”, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(2), 137-143, (2006).

Baxter, R. M., “Environmental effects of Dams and Impoundments”, *Annual Review of Ecology and Systematics*, 8, 255 – 283, (1977).

Bayne, B. L., Clarke, K.R., Gray, J. S., “Background and Rationale to a Practical Workshop on Biological Effects of Pollutants”, *Mar. Ecology Progress Series*, 46,1-5, (1988).

Bulavin, D. V., Korpishchenko, A. I., Gubanov, A. L., Rechetov, A. V., “Glutathione S-transferase PI-1”in Normal and Cancerous Lung Tissue: Properties, Function, and Possible Mechanisms for Regulating Activity”, *Biokhimiia*, 61, 1015-1027, (1996).

Bulut, C., Atay, R., Uysal, K., Köse. E., “Çivril Gölü Yüzey Suyu Kalitesinin Değerlendirilmesi”, *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2, 1, 1-8, (2012).

Burke, M. D., Mayer, R. T., “Ethoxyrezorufin: Direct Fluorometric Assay of Microsomal O-dealkylation which is Preferentially Induced by 3-Methylcholanthrene”, *Drug Metab. Disp.*, 2, 583-588, (1974).

Callaghan, A., Fisher, T. C., Grosso, A., Holloway, G. J., Crane, M., “Effect of Temperature and Primiphos Methyl on Biochemical Biomarkers in *Chironomus riparius* Meigen”, *Ecotoxicol. and Environ.*, 52, 128-133, (2002).

Campbell, H. A., Handy, R. D. and Nimmo, M., “Copper uptake kinetics across the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) measured using an improved isolated perfused head technique”, *Aquatic Toxicol.*, 46, (3-4), 177-190, (1999).

Casida, J. E., Quistad, G. B., “Organophosphate Toxicology: Safety Aspects of Nonacetylcholinesterase Secondary Targets”, *Chem. Res. Toxicol.*, 8, 983-998, (2004).

Causape. JQuilez. D., Aragues. R., “Assessment of irrigation and environmental quality at the hydrological basin level I. Irrigation quality”, *Agricultural Water Management* , 70, 195-209, (2004).

Chambers, W. H., “Organophosphorus Compounds: an Overview, Organophosphates, Chemistry, Fate and Effects”, ed: Chambers, J. E., Levi, P. E., Academic Press, San Diego, Pp: 3-17 , (1992).

Cheevaporn, V., Pindang, M. and Helander, H. F., "Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Contamination in Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*): Analysis in Liver and Bile", *Environment Asia*, 3(2), 8-14, (2010).

Comporti, M., "Lipid peroxidation. Biopathological significance", *Molce. Aspeels. Med.*, 14, 199-207, (1993).

Crane, M., Sildanchandra, W., Kheir, R., Callaghan, A., "Relationship Between Biomarker Activity and Developmental Endpoints in *Chironomus riparius* Meigen exposed to an Organophosphate Insecticide", *Ecotoxicol. and Environ. Saf.*, 53, 361-369, (2002).

Çapkın, E., "Karbosulfanın Gökkuşağı Alabalıkların (*Oncorhynchus Mykiss*) Eritrosit Asetilkolinesteraz (Ache) Enzim Aktivitesine Etkisi", *Journal of FisheriesSciences.com*, 5(3), 240-249, (2011).

Das, B. K., and Mukherjee, S. C., "Chronic Toxic Effects of Quinalphos on Some Biochemical Parameters in *Labeo rohita*", *Toxicol. Lett*, 114, 11-18, (2000).

Day, K. E., Scott, I., "Use of AChE Detect Sublethal Toxicity in Stream Invertebrates Exposed to Low Concentrations of Organophosphorus Pesticides", *Aquat. Toxicol.*, 18, 101-104, (1990).

De La Torre, F. R., Salibian, A. and Ferrari, L., "Biomarkers Assessment in Juvenile *Cyprinus Carpio* Exposed to Waterborne Cadmium", *Environmental Pollution*, 109, 277-282, (2000).

De Smelt, H., De Wachter, B., Lobinski, R., Blust, R., "Dynamics of (Cd,Zn)-metallothioneins in gill, liver and kidney of common carp *Cyprinus carpio* during cadmium exposure", *Aquat. Toxicol*, 52, 269-281, (2001).

Deeds, J. R., Klerks, P. L., "Metallothionein-like Proteins in the Freshwater Oligochaete *Limnodrilus udekemianus* and Their Role as a Homeostatic Mechanism Against Cadmium Toxicity", *Environ. Pollut.*, 106, 381-389, (1999).

Eaton, D. L., Bammler, T. K., "Concise Review of the Glutathione S-transferases and Their Significance to Toxicology", *Toxicol. Sci.*, 49, 156-164, (1999).

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr., V., Feather-Stone, R. M., "A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity", *Biochem. Pharmacol.*, 7, 88-95, (1961).

Elumalai, M., Antunes, C. and Guilhermino, L., "Effects of Single Metals and Their Mixtures on Selected Enzymes of *Carcinus maenas*. Water", *Air and Soil Pollution*, 141, 273-280, (2002).

- Elumalai, M., Antunes, C. and Guilhermino, L., “Enzymatic Biomarkers in the Crab *Carcinus maenas* from the Minho River Estuary (NW Portugal) Exposed to Zinc and Mercury”, *Chemosphere*, 66, 1249-1255, (2007).
- Ender, Y., “Lipid Peroksidasyon Olayı ve Önlenmesine Yönelik Uygulamalar”, *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 9(1-2), 89-95, (1998).
- Eriksen, K. D. H., Andersen, T., Stenersen, J., Andersen, R. A., “Cytosolic Binding of Cd, Cu, Zn and Ni in Four Polychaete Species”, *Comp. Biochem. Physiol.*, C 95 (1), 111–115, (1990).
- Eriksen, K. D. H., Daae, H. L., Andersen, R. A., “Evidence of Presence of Heavy Metal-binding Proteins in Polychaeta Species”, *Comp. Biochem. Physiol.*, C 91 (2), 377–384, (1988).
- Fatima, M., Ahmad, I., Sayeed, I., Athar, M., Raisuddin, S., “Pollutant-induced over-activation of phagocytes is concomitantly associated with peroxidative damage in fish tissues”, *Aquatic Toxicol.*, 49, 243-250, (2000).
- Forget, J., Beliaeff, B., Bocquené, G., “Acetylcholinesterase Activity in Copepods (*Tigriopus brevicornis*) from the Vilaine River Estuary, France, as a Biomarker of Neurotoxic Contaminants”, *Aquat. Toxicol.*, 62, 195-204, (2003).
- Frasco, M. F., Fournier, D., Carvalho, F., Guilhermino, L., “Cholinesterase from Common Prawn (*Palaemon serratus*) Eyes: Catalytic Properties and Sensitivity to Organophosphate and Carbamate Compounds”, *Aquat. Toxicol.*, 77, 412-421, (2006).
- Fridovich, I., “Superoxide Radical and Superoxide Dismutases”, *Annual Review of Biochemistry*, 64, 97-112, (1998).
- Fukuto, T. R., “Mechanism of Action of Organophosphorus and Carbamate Insecticides”, *Environ. Health Perspect.*, 87, 245-254, (1990).
- Gelboin, H. V., “Benzo(a)pyrene Metabolism, Activation and Carcinogenesis: Role and Regulation of Mixed-Function Oxidases and Related Enzymes”, *Physiol. Rev.*, 60, 1107-1166, (1980).
- Gill, T.S., Tewari, H. and Pande, J., “*In Vivo* and *In Vitro* Effects of Cadmium in Selected Enzymes in Different Organs of the Fish *Barbus conchoniis* (Rosy Crab)”, *Comp. Biochem Physiol.*, 100C, 501-505, (1991).
- Goksoyr, A., Förlin, L., “The Cytochrome P450 in Fish, Aquatic Toxicology and Environmental Monitoring”, *Scien. Total Env.*, 287, 49-69, (1992).
- Göksu, M. Z. L., “Su Kirliliği”, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No:7, Adana, 221 s, (2003).

- Grosell, M., McDonald, M. D., Walsh, P.J., Wood, C.M., “Effects of prolonged copper exposure in the marine gulf toadfish (*Opsanus beta*) II: copper accumulation, drinking rate and Na⁺/K⁺-ATPase activity in osmoregulatory tissues”, *Aquat. Toxicol.*, 68, 263-275, (2004).
- Guengerich, F. P., “Oxidation of Toxic and Carcinogenic Chemical by Human Cytochrome P450 Enzymes”, *Chem. Res. Toxicol.*, 4, 391-407, (1991).
- Guhathakurta, S., and Bhattacharya, S., “Target and Non-target Actions of Phenthoate and Carbofuran: Brain Acetylcholinesterase, Kidney Iodide Peroxidase, and Blood Thyroxine Profiles in *Channa punctatus*”, *Biomed. Environ. Sci.*, 1, 59-63, (1988).
- Güngördü, A. and Ozmen, M., “Assesment of seasonaş and sex-related variability of biomarkers in carp (*Cyprinus carpio* L.) from Karakaya Dam Lake, Turkey”, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 31, 3, 347-356 (2011).
- Habig, C., DiGuilio, T., Cholinesterase Inhibiting Insecticides: *Their Impact on Wildlife and the Environment*, *Biochemical Characteristics of Cholinesterase in Aquatic Organisms*, ed: Mineau, P., Elsevier Science, Amsterdam, 19-33, (1991).
- Habig, W. H., Pabst, M. J., “Jakoby, W. B., Glutathione S-Transferases. The First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation”, *J. Biol.Chem.*, 249, 7130-7139, (1974).
- Hai, D.Q., Varga, S.H., Matkovics, B., “Organophosphorus effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*)”. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 117C, 83-88, (1997).
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., *Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease: An Overview. Methods in Enzymology*, Packer, L., Glazer, A.N., Eds., 186,17-75, (1990).
- Haluzova, I., Modra, E., Blahova, j., Havelkova, M., Siroka, Z., Svobodova, Z., “Biochemical markers of contamination in fish toxicity tests” , *Interdiscip. Toxicol.*, Vol. 4(2), 85–89, (2011).
- Hamre, K., Kolas, K., Sandnes, K., Julshamn, K. and Kiessling, A., “Feed intake and absorption of lipid oxidation products in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets coated with oxidised fish oil”, *Fish Physiology and Biochemistry*, 25, 209–219, (2001).
- Hasbi, G., de Nys, R., Burns, K., Whalan, S., Dunlap, W. C., “Hepatic coenzyme Qredox balance of fishes as a potential bioindicator of environmental contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons”, *Biol. Lett.*, 7, 123–126, (2011).

Hashemi, S., Kunwar, P. S., Blust, R. And De Boeck, G., “Differential Metallothionein Induction Patterns In Fed And Starved Carp (Cyprinus Carpio) During Waterborne Copper Exposure”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27, 10, 2154–2158, (2008).

Huber. A., Bach. M., Frede. H. G., “Pollution of surface waters with pesticides in Germany: modeling non-point source inputs” *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 80, 191-204, (2000).

Hynes, H.B.N., *Historical perspective and future direction of biological monitoring of aquatic systems. In: Loeb, S.L., Spacie, A. (Eds.), Biological Monitoring of Aquatic Systems* . Lewis Publishers, Boca Raton, FL, 11-21. (1993).

Jain S. K., Levine S. N., “Elevated lipid peroxidation and vitamin E-quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats”, *Free Radic. Biol. Med.*, 18, 337-341, (1995).

Jakoby, W. B., Habig, W. H., *Glutathione Transferases, Enzymatic Basis of Detoxication*, ed: Jakoby, W. B., 2. Academic Press, New York, Pp: 63-94, (1980).

Jesberger, J.A., Richardson, J.S., “Oxygen free radicals and brain Dysfunction”, *International Journal of Neuroscience*, 57, 1-17, (1991).

Karnak, R. E., Collins, W. J., “The Susceptibility to Selected Insecticides and Acetylcholinesterase Activity in a Laboratory Colony of Midge Larvae, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae)”, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 12, 62-69, (1974).

Kazancı, G., Girgin, S., Dögel, M., Oğuzkurt, D., *Akarsuların Çevre Kalitesi Yönünden Değerlendirilmesinde ve İzlenmesinde Biyotik İndeks Yöntemi [The Method of the Biotic Index of Assessment and Monitoring with Respect to Environmental Quality of Running Waters]*, İmaj Yayıncılık, Ankara, S: 100, (1997).

Kırıkbakan, A., Sitokrom P4501A ve Glutatyon S-Transferaz’ların Mavri Kefal Balığından (*Liza saliens*) Karakterizasyonu ve Değişik Dokularda İmmünojenik Tanımlanması, (Yüksek Lisans Tezi), Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, (2004).

Klerks, P. L., Bartholomew, P. R., “Cadmium Accumulation and Detoxification in a Cd-resistant Population of the Oligochaetes *Limnodrilus hoffmeisteri*”, *Aquat. Toxicol.*, 19, 97–112, (1991).

Kovarova, J., Kizek, R., Adam, V., Harustiakova, D., Celechovska, O. and Svobodova, Z., “Effect of Cadmium Chloride on Metallothionein Levels in Carp”, *Sensors*, 9, 4789-4803, (2009).

Krüner, G. & Westernhagen, W. V., “Sources of measurement error in assays of EROD activity of fish for biological effects monitoring”, *Helgoland Mar. Res.* 53, 250–256, (1999).

Kumbur. H., Özsoy. H. D., Özer. Z., “Mersin İlinde Tarımsal Alanlarda Kullanılan Kimyasalların Su Kalitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi”,*Ekoloji*, 17, 68, 54-58, (2008).

Lee, R. F., “Mixed Function Oxygenases (MFO) in Marine Invertebrates”, *Mar. Biol. Lett.*, 2, 87-105, (1981).

Lionetto, M. G., Caricato, R., Giordano, M. E., Pascariello, M. F., Marinosci, L., Schettino, T., “Integrated Use of Biomarkers (Acetylcholinesterase and Antioxidant Enzymes Activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian Coastal Marine Area”, *Mar. Poll. Bull.*, 46, 324-330, (2003).

Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., Randal, R. J., “Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent”, *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275, (1951).

Marcano, L., Nusetti, O., Rodriguez-Grau, J., Vilas, J., “Uptake and Depuration of Copper and Zinc in Relation to Metal-binding Protein in the Polychaete *Eurythoe complanata*”, *Comp. Biochem. Physiol.*, 114 (3), 179–184, (1996).

Marcel, V., Palacios, L. G., Pertuy, C., Mason, P., Fournier, D., “Two Invertebrate Acetylcholinesterase Show Activation Followed by Inhibition with Substrate Concentration”, *Biochem. J.*, 329, 329-334, (1998).

Maruldaı, O., “Kurşun Ve Kurşun-Selenyum’un Etkisine Bırakılan *Oreochromis Niloticus* (L.)’Da Kurşunun Karaciğer, Böbrek, Beyin Ve Solungaç Dokularında Birikimi Ve Ache Aktivitesine Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, (2010).

McCarthy, L., and Shugart, L., *Biological Markers of Environmental Contamination. In biomarkers of Environmental Contamination*, J. McCarthy and L. Shugart, Eds., 3-14, Lewis, Boca Raton, FL, (1990).

McCartney, M. P., Sullivan, C., Acreman, M. C., “Ecosystem Impacts of Large Dams”, International Union for Conservation of Nature and Natural Resources and the United Nations Environmental Programme, (2001).

Monteiro, D.A., De Almeida, J.A., Rantin, F.T., Kalinin, A.L., “Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion)”, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 143, 141-149, (2006).

Mosleh, Y.Y., Paris-Palacios, S., Counderchet, M., Biagianti-Risbourg, S., Vernet, G., “Effects of Herbicide Isoproturon on Metallothioneins, Growth, and

Antioxidative Defenses in the Aquatic Worm *Tubifex tubifex* (Oligochaeta, Tubificidae)”, *Ecotoxicol.*, 559-571, (2005).

Nelson, D. R., Koymans, L., Kamataki, T., Stegeman, J. J., Feyereisen, R., Waxman, D. J., Waterman, M. R., Gotoh, O., Coon, M. J., Estabrook, R. W., Gunsalus, I. C., Nebert, D. W., “P450 Superfamily: Update on New Sequences, Gene Mapping, Accession Numbers and Nomenclature”, *Pharmacogenetics.*, 6, 1-42, (1996).

Oakes, K. D. and Van Der Kraak, G: J., “Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent”, *Aquatic Toxicol.*, 63, 447-463, (2003).

Ortiz-Delgado, J. B., Segner, H., Arellano J.M. and Sarasquete, C., “Histopathological alterations, EROD activity, CYP1A protein and biliary metabolites in gilthead seabream *Sparus aurata* exposed to Benzo(a)pyrene”, *Histol Histopathol*, 22, 417-432, (2007).

Oruç, E. Ö., Sevgiler, Y., Uner, N., “Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl”, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 137, 43–51, (2004).

Parvez, S., Pandey, S., Alı, M., Raisuddin, S., “Biomarkers of oxidative stress in *Wallago attu* (Bl. and Sch.) during and after a fish-kill episode at Panipat, India”, *The Science of the Total Environment*, 368, 627-636, (2006).

Pelkonen, O., Maenpaa, J., Taavitsainen, P., Rautio, A., Raunio, H., “Inhibition an Induction of Human Cytochrome P450 (CYP) Enzymes”, *Xenobiotica*, 28, 1203-1253, (1998).

Piner, P., “Lambda-Cyhalothrinin *Oreochromis niloticus*”da Karaciğerde Piperonil Bütoksit Modülatörlüğünde Oksidatif Stres Potansiyelinin Belirlenmesi, Stres Proteinleri ve Apoptosis Üzerine Etkileri”, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, (2009).

Poff, N. L. & Hart D. D., “How dams vary and why it matters for the emerging science of dam removal”, *Bioscience*, 52, 659–668, (2002).

Porte, C., Escartin, E., “Cytochrome P450 System in the Hepatopancreas of the Red Swamp Crayfish *Procambarus clarkii*: a Field Study”, *Comp. Biochem. and Physiol.*, 121 C, 333-338, (1997).

Rainbow, P.S., “Biomonitoring of Heavy Metal Availability in the Marine Environment ”, *Marine Pollution Bulletin*, 31, 183-192, (1995).

- Ranson, H., Nikou, D., Hutchinson, M., Wang, C.W., Hemingway, J., Collins, F. H., “Molecular Analysis of Multiple Cytochrome P450 Gene From the Malaria Vector, *Anopheles gambiae*”, *Insect Mol. Biol.*, 11, 409-418, (2002).
- Rhee, J. S., Raissudin, S., Hwang, D.S., Lee, K. W., Kim, I. C., Lee J. S., “Differential expression of metallothionein (MT) gene by trace metals and endocrine-disrupting chemicals in the hermaphroditic mangrove killifish, *Kryptolebias marmoratus*”, *Ecotoxicol. Environ.*, 72, 206-209, (2009).
- Richardson, D. M., Davies, I. M., Moffat, C.F., Pollard, P. and Stagg, R. M., “Biliary PAH metabolites and EROD activity in flounder (*Platichthys flesus*) from a contaminated estuarine environment” *J. Environ. Monita.*, 3, 610-615, (2001).
- Roex, E.W.M., Keijzers, R., Gestel, C.A.M., “Acetylcholinesterase inhibition and increased food consumption rate in the zebrafish, *Danio rerio*, after chronic exposure to parathion”, *Aquatic Toxicol.*, 64, 451-460, (2003).
- Ronis, M. J. J., Hodgson, E., “Cytochrome P450 Monooxygenases in insects”, *Xenobiotica.*, 19, 1077-1092, (1989).
- Roy, U. S., Chattopadhyay, B., Datta, S. Ve Mukhopadhyay, S. K., “Metallothionein as a Biomarker to Assess the Effects of Pollution on Indian Major Carp Species from Wastewater-Fed Fishponds of East Calcutta Wetlands (a Ramsar Site)” *Environmental Research, Engineering and Management*, 4(58), 10-17, (2011).
- Sancho, E., Fernandez-Vega, C., Sanchez, M., Ferrando, M.D., Andreu-Moliner, E., “Alterations on AChE activity of the fish *Anguilla anguilla* as response to herbicide-contaminated water”, *Ecotoxicol. and Environ. Saf.*, 46, 57-63, (2000).
- Satoh, T., “Toxicological Implications Esterases From Molecular Structures of Functions”, *Toxicol. and Applied Pharmacol.*, 207, S11-S12, (2005).
- Scaps, P., Demuynck, S., Descamps, M., Dhainaut, A., “Biochemical and Enzymatic Characterization of a Acetylcholinesterase from *Nereis diversicolor* (Annelida: Polychaeta): Comparison with the Cholinesterases of *Eisenia fetida* (Annelida: Oligochaeta)”, *Biol. Bull.*, 190, 396-402, (1996).
- Scott, J. G., “Cytochromes P450 and Insecticide Resistance”, *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, 29, 757-777, (1999).
- Sepici, D. A., Benli, A.C., Selvi, M., Sarikaya, R., Sahin, D., Ozkul, A., Erkoc, F., “Sublethal Cyfluthrin Toxicity to Carp 66 (*Cyprinus carpio*) Fingerlings: Biochemical, Hematological, Histopathological Alterations” *Ecotoxicol. and Environ. Saf.*, 72, 1433–1439, (2009).

Sevcikova, M., Modra, H., Kruzikova, K., Zitka, O., Hynek, O., Adam, V., Celechovska, O., Kizek, R., Svobodova, Z., “Effect of Metals on Metallothionein Content in Fish from Skalka and Želivka Reservoirs” *Int. J. Electrochem. Sci.*, 8, 1650–1663, (2013).

Sevgiler, Y., “*Oreochromis niloticus*”da Karaciğer ve Böbrek Dokularında Fentijonun NAC ve BSO Modülatörlüğünde Glutasyon Metabolizmasına Oksidatif Etkileri”, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, (2007).

Shrestha, S. ve Kazama, F., “Assessment of surface water quality using multivariate statistical techniques: A case study of the Fuji river basin; Japan”, *Environmental Modelling & Software* 22, 464–475, (2007).

Sijm, D. T. H. M., Opperhuizen, A., “*Biotransformation of Organic Chemicals by Fish: Enzyme Activities and Reactions*”, ed: Hutzinger, O., Handbook of Environmental Chemistry Reactions and Processes, Vol: 2E, Springer, Berlin, Pp: 163-235, (1989).

Siscar, R., Torreblanca, A., del Ramo, J., Sole, M., “Modulation of metallothionein and metal partitioning in liver and kidney of *Solea senegalensis* after long-term acclimation to two environmental temperatures”, *Environmental Research*, 132, 197–205, (2014).

Sogorb, M. A., Vilanova, E., “Enzymes Involved in the Detoxification of Organophosphorus, Carbamate and Pyrethroid Insecticides Through Hydrolysis”, *Toxicol. Letters.*, 128, 215-228, (2002).

Schenkman, J.B., Cinti, D.L., “Preparation of microsomes with calcium”, *Methods in Enzymology*, 52, 83-89, (1978).

Stegeman, J. J., *Diversity and Regulation of Cytochrome P450 in Aquatic Species, In Molecular Aspects of Oxidative Drug Metabolizing Enzymes: Their Significance in Environmental Toxicology, Chemical Carcinogenesis and Health*, eds: Arınç, E., Schenkman, J. B. And Hodgson, E., Springer-Verlag, Heidelberg., Pp: 135-158, (1995).

Stenersen, J., Kobro, S., Bjerke, M., Arend, U., “Glutathione Transferases in Aquatic and Terrestrial Animals from Nine Phyla”, *Comp. Biochem. Physiol.*, 86 C(1), 73-82, (1987).

Sturm, A., Hansen, P. D., “Altered Cholinesterases and Monooxygenase Levels in *Daphnia magna* and *Chironomus riparius* Exposed to Environmental Pollutants”, *Ecotoxicol. and Environ. Saf.*, 42, 9-15, (1999).

- Szabo, T., Lazar, G., Liboubam, S., Ravaille-Veron, M., Toth, P., and Brandle, K., “Central Projections and Motor Nuclei of the Facial, Glossopharyngeal, and Vagus Nervous in the Mormyrid Fish (*Gnatnonemus petroei*)”, *J. Comp. Neurol.*, 15 (3), 43-58, (1992).
- Tagliari, K. C., Vargas, F. V. M., Zimiani, K., Cecchini, R., “Oxidative stress damage in the liver of fish and rats receiving an intraperitoneal injection of hexavalent chromium as evaluated by chemiluminescence”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 17, 149–157, (2004).
- Talesa, V., Principato, G. B., Giovannini, E., Di Giovannini, M. V., Rosi, G., “Dimeric Forms of Cholinesterases in *Sprinculus nudus*”, *Eur. J. Biochem.*, 215, 267-275, (1993).
- Taylan. Z. S., Özkoç. H. B., “Potansiyel ağır metal kirliliğinin belirlenmesinde akuatik organizmaların biokullanılabilirliği”, *BAÜ FBE Dergisi*, 9, 2, 17-33 (2007).
- Teles, M., Gravato, C., Pacheco, M., Santos, M. A., “Juvenile Sea Bass Biotransformation, Genotoxic and Endocrine Responses to beta-naphthoflavone, 4-nonylphenol and 17 beta-estradiol Individual and Combined Exposures”, *Chemosphere*, 57(2), 147-58, (2004).
- Turan. F., Ülkü. G., “Gökpınar ve Çürüksü Çaylarının Kirlilik Parametre ve Yüklerinin İzlenmesi”, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 19, 3, 133-144, (2013).
- Ünver, Z. A., Koldemir, M., Duman, D. S., Sesal, N. C. ve Kayhan F. E., “Zebra Balıklarında (*Danio Rerio*) Ağır Metal İndüksiyonunun Oksidatif Stres Parametrelerine Etkisi”, *Journal of FisheriesSciences.com*, 8 (3), 199-207, (2014).
- Van der Oost, R., Beyer, J. & Vermeulen, N. P. E., “Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review”, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 13, 57–149, (2003).
- Varanka, Z., Rojik, I., Varanka, I., Nemcsok, J. and Abraham, M., “Biochemical and morphological changes in carp (*Cyprinus carpio* L.) liver following exposure to copper sulfate and tannic acid”, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 128, 467-478, (2001).
- Varo, I., Navarro, J.C., Amat, F., “Guilhermino, LEffect of dichlorvos on cholinesterase activity of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 75, 61-72, (2003).

Viarengo, A., Burlando, B., Cavaletto, B. M., Ponzano, E., Blasco, J., “Role of Metallothionein Against Oxidative Stress in the Mussel *Mytilus galloprovincialis*”, *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, 277, 1612-1619, (1999).

Viarengo, A., Nott, J. A., “Mechanisms of Heavy Metal Cation Homeostasis in Marine Invertebrates”, *Comp. Biochem and Physiol.*, 104 (C), 355-372, (1993).

Viarengo, A., Ponzano, E., Dondero, F. and Fabbri, R., “A Simple Spectrophotometric Method for Metallothionein Evaluation in Marine Organisms: an Application to Mediterranean and Antarctic Molluscs”, *Marine Environmental Research*, 44, 1, 69-84, (1997).

Virk, P., M Al-Sakran, A. A. and A Elobeid, M., “Effect of Bisphenol A on the Levels of Vitellogenin and Metallothionein in Adult Male Carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758” *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13 (7), 1107-1112, (2014).

Wallace, W. G., Lopez, G. R., Levinton, J. S., “Cadmium Resistance in an Oligochaete and its Effect on Cadmium Trophic Transfer to an Omnivorous Shrimp.”, *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 172, 225–237, (1998).

Wang, J. J., Cheng, W. X., Ding, W., Zhao, Z. M., “The Effect of the Dichlorvos on Esterase Activity Extracted from the Psocids, *Liposcelis bostrychophila* and *L. Entomophila*”, *Journ. of Insect. Sci.*, 4, 23-28, (2004).

Webb, D., Gagnon, M.M., “Biomarkers of Exposure in Fish Inhabiting the Swan-Canning Estuary Western Australia-a preliminary study”, *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 259-269, (2002).

Wessela, N., Santosa, R., Menarda, D., Le Menachc, K., V. Buchetb, V., Lebayonb, N., Loizeaua, V., Burgeota, T., Budzinskic H., and Akchaa, F., ‘Relationship between PAH biotransformation as measured by biliary metabolites and EROD activity, and genotoxicity in juveniles of sole (*Solea solea*)’, *Marine Environmental Research*, 69, 1 , 71-73, (2010).

Wheelock, C. E., Eder, K. J., Werner, I., Huang, H., Jones, P. D., Brammell, B. F., Elskus, A. A., Hammock, B. D., “Individual Variability in Esterase Activity and CYP1A Levels in Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) Exposed to Esfenvalerate and Chlorpyrifos”, *Aquat. Toxicol.*, 74, 172-192, (2005).

Wilson, I. B., Cabib, E., “Acetylcholinesterase: Enthalpies and Entropies of Activation”, *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 202-207, (1956).

Wu, S. M., Chen, C. C., Lee, Y. C., Leu, H. T. and Lin, N. S., “Cortisol and Copper Induce Metallothionein Expression in Three Tissues of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) in Organ Culture”, *Zoological Studies*, 43, (2005).

Yang, H.Y., Zhou,F., Guo, H.C., Sheng, H., Liu, H., Dao, X. and C.J., “Analysis of spatial and temporal water pollution pat terns in Lake Dianchi using multivariate statistical methods”, *Environ Monit Assess* DOI, 10, 1007/s10661-009-1242-9, (2009).

Yılmaz. M., “Bazı Pestisitlerin Sıçan Dokularındaki Asetilkolinesteraz Ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri İle Malondialdehit Düzeyine Etkileri” Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Dalı*, Adana, (2010).

Yi, M. Q., Liu, H. X., Shi, X. Y., Liang, P., Gao, X. W., “Inhibitory Effects of Four Carbamate Insecticides on Acetylcholinesterase of Male and Female *Carassius auratus* in Vitro”, *Comp. Biochem. and Physiol.*, 143 C, 113-116, (2006).

Yonar, S. M., Yonar, M. E., “Yöntürk, Y., Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)'nda Curcuminin Bazı Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi”, *Firat Univ. Journal of Science*, 26(1), 53-57, (2014).

6 ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	:Serdar POLAT
Doğum Yeri ve Tarihi	:SAKARYA/Karasu 20.01.1988
Lisans Programı	:Pamukkale Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, (2006-2010)
Elektronik Posta	:serdarpolat54@gmail.com
İletişim Adresi	:Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, D-blok, Kat:1 Hidrobiyoloji Laboratuvarı

Bilimsel Faaliyetleri

Bildiriler – Ulusal

- Akyıldız, G. K., Özcan, S., Polat, S., Duran, M., ‘The Microhabitat Ecology on Chironomidae Potamo Fauna of Büyük Menderes’ 19th Chironomid Symposium Charles Univesity in Prague, 2014.
- Serdar Polat, Seval Özcan “Farklı Yaprak Paketi Kompozisyonlarının Taban Büyük Omurgasızları Üzerine Etkisi”, 17. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 14-17 Temmuz 2010, Ankara.
- Akyıldız, G. K., Duran, M., Karasu, P., Aktaş, D., Aslan, Ü., Polat, S. (2008) Aras Nehri (ıgdır) Bentik Omurgasız Faunası, 19. Ulusal Biyoloji Kongresi, PZ126, 529-529.

Katıldığı Kongreler ve Sempozyumlar

1. Kasım 2014, Biyolojik ve Hidromorfolojik İzleme Eğitimi (Yardımcı Eğitimci), Su Yönetimi Genel Müdürlüğü.
2. Ağustos 2014, 19th international Symposium on Chironomidae, Institute for Environmental Studies Charles Univesity in Prague.
3. Nisan 2012, Kaledavaz Sempozyumu, 2-3- Nisan, Denizli.
4. Haziran 2010, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, Denizli.
5. Temmuz 2010, 17. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, Ankara.

Katıldığı Projeler

1. Kızılırmak, Küçük Menderes, Antalya, Marmara ve Konya Kapalı Havzalarında Su Çerçeve Direktifi Kapsamında Su Kalitesinin İzlenmesi Projesi, T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, Araştırmacı, (halen devam ediyor).
2. “Türkiye’de Havza Bazında Hassas Alanların ve Su Kalite Hedeflerinin Belirlenmesi” Projesi Kapsamında SUSURLUK, MARMARA VE MERİÇ-ERGENE Havzalarının Durumunun Belirlenmesi Projesi, TÜBİTAK MAM, Bursiyer (halen devam ediyor).
3. Topuklu Yaylası (Denizli) Doğa Bilim Kampı-3-. TÜBİTAK 23-30 Haziran 2014.
4. Topuklu Yaylası (Denizli) Doğa ve Gök Bilim Kampı-2-. TÜBİTAK 2-9 Temmuz 2012.
5. Büyük Menderes Havza Atlası, Yaşayan Nehirler Yaşayan Ege Projesi, 2012.
6. Ülkemiz sınırlarında çeşitli göllerin hidrolojik, kimyasal ve biyolojik bazı parametrelerinin örneklenmesi (Örnekleme ve Arazi). TÜBİTAK 2011-2012.
7. WWF-Türkiye, Coca-Cola Hayata Artı Kat Vakfı, Yaşama Dair Vakfı, Ege Derneği ve Ekosistemi Koruma Derneği, Doğa Sevenler Derneği Ortaklığı, Araştırmacı, 2011-2012.
8. Topuklu Yaylası (Denizli) Doğa ve Gök Bilim Kampı. TÜBİTAK 13-17 Haziran 2011.
9. Çürüksu Çayının (Denizli) Bentik Faunası, Ağır Metal ve Organik Kirliliğinin Taban Büyük Omurgasızları Kullanılarak Belirlenmesi, TÜBİTAK Projesi, 106Y215, Bursiyer, 2006-2009.
10. Büyük Menderes Nehri’nin (Denizli) Organik kirliliğinin bentik fauna ve biyomarkörler ile biyolojik izlenmesi ve belirlenmesi, TÜBİTAK Projesi, 108Y326, Bursiyer, 2008-2009.