

TC
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SARIYAR BARAJ GÖLÜNDE YAŞAYAN BALIKLARDA
ÇEVRESEL KİRLETİCİLERİN
ETKİLERİNİN SAPTANMASI

105460

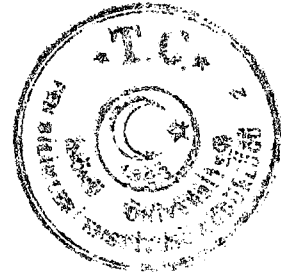
ABBAS GÜNGÖRDÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

105460

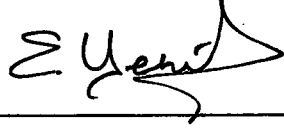
TC YÜKSEK ÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON BİRİMİ

MALATYA
Eylül 2001



Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma Jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.



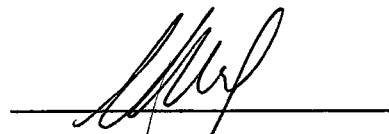
(İmza)

Doç. Dr. Elif YEŞİLADA
Başkan



(İmza)

Doç. Dr. Özfer YEŞİLADA
Üye



(İmza)

Doç. Dr. Murat ÖZMEN
Üye

Onay

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

25.10.2021



(İmza)
Prof. Dr. Saiti KAYA
Enstitü Müdürü



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SARIYAR BARAJ GÖLÜNDE YAŞAYAN BALIKLARDA ÇEVRESEL KİRLİTİCİLERİN ETKİLERİNİN SAPTANMASI

Abbas Güngördü

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

60+ vii

2001

Danışman: Doç. Dr. Murat Özmen

Bu biyolojik izleme çalışmasında Sarıyar Baraj Gölü'nde çevre kirliliğinin belirlenmesi amacıyla iki yıl süreyle baraj gölünün farklı lokasyonlardan toplanan, farklı beslenme alışkanlıklarına sahip sazan balığı (*C. carpio*), yayın balığı (*S. glanis*) ve çay balığı (*C. tinca*) örneklerinde karaciğer laktat dehidrogenaz (LDH), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalin fosfataz (ALP), asit fosfataz (ACP) enzimleri ve beyin dokusu örneklerinde asetilkolin esteraz (AChE) ve karboksil esteraz (CaE) enzimlerindeki değişimler araştırıldı. Çalışmada karaciğer ve beyin dokusu enzimlerinin aktiviteleri mikropilokokuş okuyucu sistem kullanılarak belirlendi.

Elde edilen verilerle, farklı lokasyon ve sezonlar için karaciğer ve beyin dokusu enzimlerinin istatistiksel analizleri yapıldığında, enzim aktivitelerinin (Mann-Whitney U-test) önemli düzeyde farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Enzim aktivitelerindeki bu farklılıklar, mevsimsel değişimlere ve çalışma alanı olarak seçilen baraj gölünün, tarımsal ve endüstriyel faaliyetlerden dolayı kirlenmiş olmasına bağlanmıştır. Baraj gölünde canlı yaşamını etkileyen subletal kirliliğin Sakarya Nehri'nden baraja karışan ağır metal, pliklorlu bifeniller (PCB) ve poliaromatik hidrokarbonlar (PAH) ile, tarımda kullanılan ve yıkanma yoluyla baraj suyuna karışan organofosfat ve karbamat insektisitlerin sebep olduğu düşünülmektedir.

Bu ekotoksikolojik çalışmada biyobelirteç olarak kullanılan enzimlerden karaciğer LDH, AST ve ALP enzimleriyle, beyin dokusu AChE enziminin çevresel değişimlerden daha fazla etkilendiği saptanmıştır. Bu nedenle bu tür ekotoksikolojik çalışmalarda belirtilen enzimlerin biyobelirteç olarak kullanımının daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: Çevre kirliliği, balık, ekotoksikoloji, enzim, biyobelirteç
biyolojik izleme.



ABSTRACT

MSc. Thesis

THE DETERMINATION OF EFFECTS OF ENVIRONMENTAL POLLUTANTS ON FISH LIVING IN SARIYAR DAM LAKE

Abbas Güngördü

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

60 + vii pages

2001

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat ÖZMEN

The effects of environmental pollution on three commonly found fish species from different locations of Sarıyar Dam lake were investigated during two years period. Carp (*Cyprinus carpio*), wels (*Silurus glanis*), and *Capoeta tinca* were the test organisms. These all fish species have different feeding habits. Hepatic lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), acid phosphatase (ACP), and alkaline phosphatase (ALP) activities were determined as pollution related stress biomarkers. Also brain acetylcholinesterase (AChE) and carboxylesterase (CaE) activities were assayed. Enzymatic activities were determined with a microplate reader system.

Enzyme activities for hepatic and brain tissues showed statistically significant difference in fish from different locations and also in samples taken at different seasons. These differences of enzyme activities may attributed to seasonal changes when the pollution level of the lake by different kinds of pollutants such as polychlorinated biphenyls (PCBs), polyaromatic hydrocarbones (PAHs), heavy metals and pesticides (both organophosphorus and carbamate) show variability since the level of these chemicals considerably changes in Sakarya River, discharging into the lake, from season to season.

Hepatic LDH, AST and ALP and brain AChE activities were found to be as the most affected ones with environmental changes. Therefore, we could suppose that these enzymes are suitable biomarkers for ecotoxicological investigations.

KEYWORDS: Environmental pollution, fish, ecotoxicology, enzyme, biomarker, biomonitoring.



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında yardım, öneri ve desteğini esirgmeden beni yönlendiren danışman hocam sayın Doç. Dr. Murat ÖZMEN'e;

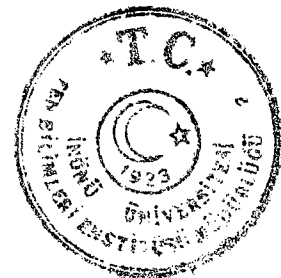
Deneysel çalışmaların her aşamasında yer alarak, bu çalışmada en az benim kadar emeğe sahip olan Anabilim Dalından arkadaşlarım Ufuk Günay DOĞAN ve Elif GÜLER'e;

TÜBİTAK-TARP grubunun desteğiyle yürütülen bir araştırmanın ayağı olan bu çalışmada, bilgi ve verilerinden çokça yararlandığım Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, öğretim üyelerinden Doç. Dr. F. Güler EKMEKÇİ, Doç. Dr. Sedat V. YERLİ ve Y. Doç. Dr. Zafer AYAŞ'a;

Bu çalışmaya 2000/26 nolu proje ile kısmi olarak destek veren İnönü Üniversitesi Araştırma Fonuna;

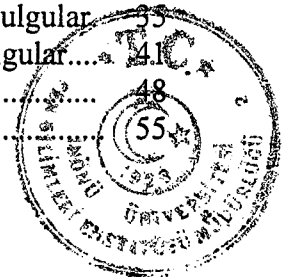
Ayrıca bu çalışmada ve hayatımın şu anına kadar ki bölümünde başarılarımın ve mutluluğumun kaynağı değerli AİLEM'e

teşekkür ederim.



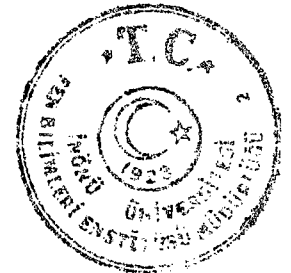
İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Su Kirliliği ve Kirliliğe Neden Olan Etmenler.....	5
1.2. Tatlı Su Balıkları.....	7
1.2.1. Tarihçe.....	7
1.2.2. Tatlı su balıklarının ekotoksikolojik önemleri.....	7
1.3. Balık Türlerinin Seçimi.....	9
1.3.1. <i>Cyprinus carpio</i>	9
1.3.2. <i>Silurus glanis</i>	10
1.3.3. <i>Capoeta tinca</i>	10
1.4. Karaciğer Dokularının Kullanılma Nedenleri.....	10
2. KAYNAK ÖZETİ.....	12
2.1. Biyobelirteç Olarak Kullanılan Enzimler.....	12
2.1.1. Karboksil esteraz.....	12
2.1.2. Asetilkolin esteraz.....	14
2.1.3. Alkalen fosfataz ve asit fosfataz.....	15
2.1.4. Laktat dehidrogenaz.....	17
2.1.5. Aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz.....	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1. Balık Örneklerinin Sağlanması.....	23
3.2. Karaciğer Doku Homojenatlarının Hazırlanması.....	23
3.3. Beyin Doku Homojenatlarının Hazırlanması.....	24
3.4. Enzimatik Çalışmalar.....	24
3.4.1. Karaciğer laktat dehidrogenaz aktivitesi.....	24
3.4.2. Karaciğer asit fosfataz aktivitesi.....	25
3.4.3. Karaciğer alkalen fosfataz aktivitesi.....	25
3.4.4. Karaciğer alanin aminotransferaz.....	25
3.4.5. Karaciğer aspartat aminotransferaz.....	26
3.4.6. Karaciğer total protein tayini.....	26
3.4.7. Enzim spesifik aktivitesi.....	27
3.4.8. Beyin karboksil esteraz aktivitesi.....	27
3.4.8. Beyin asetilkolin aktivitesi.....	27
3.5. İstatistiksel Analizler.....	28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	29
4.1. Sazan Balıkları (<i>Cyprinus carpio</i>) İçin Enzim Aktiviteleri ile İlgili Bulguları.....	29
4.2. Yayın Balıkları (<i>Silurus glanis</i>) İçin Enzim Aktiviteleri ile İlgili Bulgular.....	35
4.3. Çay Balıkları (<i>Capoeta tinca</i>) İçin Enzim Aktiviteleri ile İlgili Bulgular.....	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	55
6. KAYNAKLAR.....	



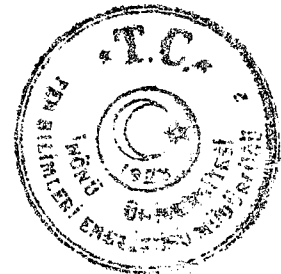
ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.	Çeşitli istasyonlardan toplanan <i>C. carpio</i> (sazan) örnekleri karaciğer dokusunda LDH, AST, ALT, ACP ve ALP enzimlerinin spesifik aktivite değerleri (nM/dak/mg total protein).....	30
Çizelge 4.2.	Çeşitli istasyonlardan toplanan <i>C. carpio</i> (sazan) örnekleri beyin dokusunda AChE ve CaE aktivite değerleri (U/L).....	31
Çizelge 4.3.	Çeşitli istasyonlardan toplanan <i>S. glanis</i> (yayın) örnekleri karaciğer dokusunda LDH, AST, ALT, ACP ve ALP enzimlerinin spesifik aktivite değerleri (nM/dak/mg total protein).....	36
Çizelge 4.4.	Çeşitli istasyonlardan toplanan <i>S. glanis</i> (yayın) örnekleri beyin dokusunda AChE ve CaE aktivite değerleri (U/L).....	37
Çizelge 4.5.	Çeşitli istasyonlardan toplanan <i>C. tinca</i> (çay balığı) örnekleri karaciğer dokusunda LDH, AST, ALT, ACP ve ALP enzimlerinin spesifik aktivite değerleri (nM/dak/mg total protein).....	42
Çizelge 4.6.	Çeşitli istasyonlardan toplanan <i>C. tinca</i> (çay balığı) örnekleri beyin dokusunda AChE ve CaE aktivite değerleri (U/L).....	43



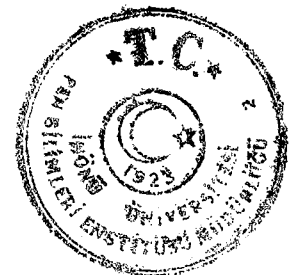
ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Sarıyar Baraj Gölü ve baraj gölünde balıkların yakalandığı lokasyonlar.....	4
Şekil 1.2.	Bir ksenobiyotigin biyoaktivasyonu ve biyotransformasyonu arasındaki ilişki.....	11
Şekil 1.3.	Alil ester biyoaktivasyonu.....	11
Şekil 2.1.	Malatyonun karboksil esteraz tarafından yıkımı reaksiyonu.....	13
Şekil 2.2.	Asetilkolin esteraz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon.....	14
Şekil 2.3.	Alkalen fosfataz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon.....	15
Şekil 2.4.	Asit fosfataz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon.....	16
Şekil 2.5.	Laktat dehidrogenaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon.....	17
Şekil 2.6.	Alanin aminotransferaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon.....	20
Şekil 2.7.	Piridoksal fosfat.....	21
Şekil 4.1.	Farklı lokasyonlardan yakalanan sazan balıklarında karaciğer enzim aktivitelerinin dağılımı (A: LDH, B: ACP, C: ALT, D: ALP, E: AST)...	32
Şekil 4.2.	Farklı lokasyonlardan yakalanan sazan balıklarında beyin AChE ve CaE enzim aktivitelerinin dağılımı.....	33
Şekil 4.3.	Farklı lokasyonlardan yakalanan yayın balıklarında karaciğer enzim aktivitelerinin dağılımı (A: LDH, B: ACP, C: ALT, D: ALP, E: AST)...	38
Şekil 4.4.	Farklı lokasyonlardan yakalanan yayın balıklarında beyin AChE ve CaE enzim aktivitelerinin dağılımı.....	39
Şekil 4.5.	Farklı lokasyonlardan yakalanan çay balıklarında karaciğer enzim aktivitelerinin dağılımı (A: LDH, B: ACP, C: ALT, D: ALP, E: AST)...	44
Şekil 4.6.	Farklı lokasyonlardan yakalanan çay balıklarında beyin AChE ve CaE enzim aktivitelerinin dağılımı.....	45



SİMGELER VE KISALTMALAR

PAH	Poliaromatik hidrokarbonlar
OP	Organofosforlu insektisitler
PCB	Poliklorlu bifeniller
LDH	Laktat dehidrogenaz
ALP	Alkalen fosfataz
ACP	Asit fosfataz
AST	Aspartat aminotransferaz
ALT	Alanin aminotransferaz
CaE	Karboksil esteraz
AChE	Asetilkolinesteraz
ASTM	Amerikan Standartları Enstitüsü
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
ACh	Asetilkolin
TCA	Trikarboksilik asit döngüsü
NAD ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid (redükte)
GOT	Glutamat oksaloasetat transaminaz
GPT	Glutamat piruvat transaminaz
MT	Metallotionein
SAA	Serbest amino asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
DTT	Dithiothreitol
nm	Nanomol
OD	Optik densite
mOD	Miliptik densite
BSA	Bovine serum albumin
BUTAT	Bütül 1-bütilyoasetotiyolat
DTNB	5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit)
EtOH	Etil alkol
ACTI	Asetilthiokolin iodid
µl	Mikrolitre
U/L	Unite/litre



1. GİRİŞ

Tüm dünyada olduğu gibi yurdumuzda da sanayileşmenin artması ile çevre kirliliği sorunları her geçen gün daha büyük önem kazanmaktadır. Çevresel kirliliğe neden olan kaynakların başında endüstriyel üretim yapan, ancak atık maddeleri doğrudan sulara ve toprağa veren fabrikalar, tarımsal amaçla yoğun olarak kullanılan pestisitler, herhangi bir arıtıma uğratılmaksızın su kaynaklarına ulaşan evsel atıklar oluşturmaktadır. Çevresel kaynaklı olan kimyasal maddeler, akarsu kaynaklarının ve büyük su rezervuarları olan göl ve barajların kirlenmesi sonucu ekosistem dengesinin bozulmasına yol açmaktadır [1].

Çeşitli aktiviteler sonucunda oluşan ve çok değişken yapıda olabilen çevre kirlleticiler, çeşitli ortamlara atıldıklarında yer altı ve yerüstü su sistemleri ile delta, körfez, baraj gölleri gibi sulak alanlara taşınmakta ve ortamlardaki sedimentlerde ve burada yaşayan organizmalarda birikim oluşturmaktadırlar [2]. Bu nedenle baraj gölleri gibi büyük su sistemlerinde yaşayan balıklar açısından oldukça önemli etkiler yaratmaktadır. Bu sistemlerde çevre kirleticilerin neden olduğu ekotoksikolojik etkiler, akut zehirlenmeler ve toplu balık ölümleri gibi, kronik olarak uzun süreli etkileşimler yaratarak, balıkların üreme ve gelişme biyolojilerine olumsuz etkiler oluşturarak, balık popülasyonlarının azalması ve ortamdaki ekolojik dengenin dominant ve dirençli türler lehine bozulması şeklinde de olabilmektedir [3].

“Toksosite” organizmalarda negatif etkiye neden olan bir maddenin etkisi olarak tanımlanabilir. Eğer bu etki ekolojik çevrede hasara yol açıyor ise bunu “ekotoksosite” olarak tanımlayabiliriz. Ekosistemde çevresel kirleticilerin toksik etkilerini saptamaya yönelik araştırmalar son yıllarda oldukça popüler olup, ekotoksikoloji bilim dalının ortaya çıkmasına yol açmıştır. Sucul organizmalarda çevresel kirlenmeye bağlı olarak indüklenen değişimleri yansıtan biyobelirteç çalışmalarında büyük bir gelişme ortaya çıkmıştır. Biyobelirteç terimi, ksenobiyotikçe indüklenmiş, biyolojik sistem veya örneklerde ölçülebilen hücresel veya biyokimyasal bileşenler, süreçler, elemanlar veya fonksiyonlardaki değişimi ifade eder (National Research Council, 1989) [4].

Biyolojik organizasyonun birçok düzeyindeki stres biyobelirteçleri, organizma düzeyinde ortaya çıkan etkilerin değerlendirilmesinde kullanılabilir [5]. Huggett et al. [6] biyobelirteçleri altı büyük grup altında toplamaktadır. Bunlar;

- 1- Fizyolojik ve özgül olmayan biyobelirteçler (enzim inhibisyonu, kan kimyası vb.)



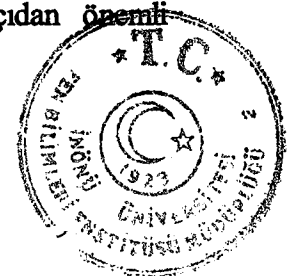
- 2- Ksenobiyotiğin ya da endojen bileşiğin metabolize edilmesi sonucu oluşan metabolitler (safra metabolitleri gibi)
- 3- Genotoksik bileşiklere bağlı olarak oluşan değişimler (DNA hasarları gibi)
- 4- Toksik stresin histopatolojik göstergeleri
- 5- Bir organizmanın immün sisteminde oluşan değişimler (immünolojik organ ağırlık değişimleri gibi)
- 6- Özgül metabolik enzimlerin indüklenmesine yol açan moleküler yanıtlar (sitokrom P450 sisteminin indüklenmesi gibi)

Sucul organizmalarda, özellikle balıklarda bazı enzim aktivitelerinin incelenmesi su kalitesinin izlenmesinde bize önemli bilgiler sağlamaktadır [7].

Biyolojik test sistemleri kullanılarak çevrenin izlenmesi “Biyolojik İzleme” (biyomonitör) olarak adlandırılmaktadır [8]. Çevresel bir ortamda kirleticilerin etkisini belirlemek amacı ile biyobelirteçler oldukça duyarlı indikatörler olarak kullanılabilir. Bu nedenle biyolojik izleme programları bir organizmanın çevresel kontaminasyonuna ve kirlenmeye bağlı olarak yanıtlarını göstermede önemlidir. Özellikle özgül biyobelirteçlerin kullanılması bir kimyasal kirleticinin konsantrasyonunun çevresel ortamda ya da vücutta saptanamadığı durumlarda önemli bilgiler sağlamaktadır. Örneğin hızlı metabolize edilen poliaromatik hidrokarbonlar (PAH) ve organofosforlu bileşikler (OP) gibi kirleticilere organizmanın maruz kalması durumunda biyobelirteç bulguları oldukça kullanışlı olabilmektedir [9].

Geniş bir ölçekte insan kaynaklı kimyasal maddelerin varlığının farkına varılması doğal kaynaklarla ilişkili sorumluluğun artmasına neden olmaktadır. Kirletici olarak pestisitler, PAH’lar, Poliklorlu bifeniller (PCP), ve ağır metaller tatlı su ekosistemlerine tarımsal alanlardan, kırsal ve endüstriyel üretim alanlarından; yağmur suları ve kirli su arıtımı gibi hepsi uzun vadeli ekotoksikolojik etkilerle sonuçlanabilen yollarla girmektedir [10].

Su kaynaklarının kirlenmesine bağlı olarak besin zinciri içerisinde sucul ortamlarda kabuklular ve balıklar en üst düzeyde etkilenen organizmalar olarak kabul edilmektedir [11, 12]. Doğada tüm kimyasal etkiler popülasyon ya da ekosistem düzeyinde fizyolojik ve biyokimyasal reaksiyonlarla başlar [13]. Bu nedenle kirlenmenin canlılar üzerindeki etkilerinin çeşitli metrik, fizyolojik, histolojik ve biyokimyasal parametreler kullanılarak incelenmesi ile toksikolojik açıdan önemli bilgiler sağlamaktadır.

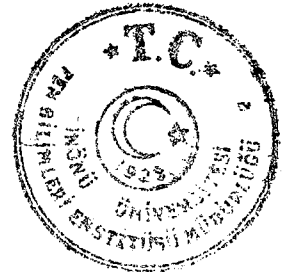


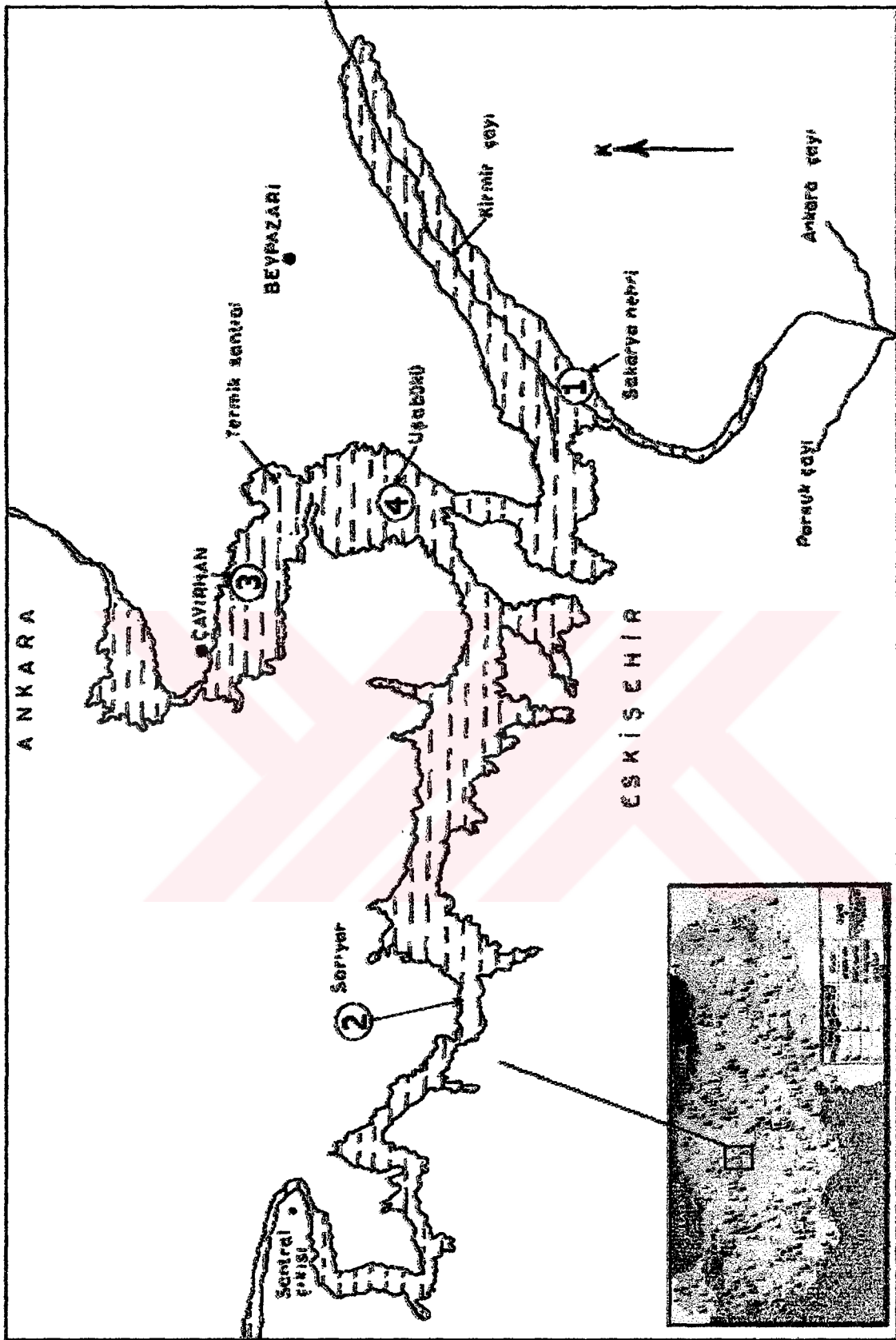
Bu çalışma için çalışma alanı olarak seçilen Sarıyar Barajı ve barajı besleyen su kaynakları, yurdumuzda çok çeşitli endüstriyel faaliyetlerin olduğu, aynı zamanda büyük yerleşim yerleri ve önemli tarımsal alanlar ile çevrili olan bir bölgede bulunmaktadır (Şekil 1.1.).

Bu nedenle Sarıyar Barajı ve barajı besleyen su kaynakları üzerinde yapılacak bu çalışma ile çeşitli tipte kirletici unsurlara bağlı olarak ekotoksikolojik bilgiye ulaşmak mümkün olacaktır. Ayrıca bu bölgede bulunan su sisteminin farklı biyolojik ve ekolojik özelliklere sahip balık türleri içermesi ekosistemde besin zincirine bağlı olarak çevresel kirliliğin etkisini belirlemek açısından önem taşımaktadır. Diğer taraftan yurdumuzda bugüne kadar bu tipte bir araştırmanın yapılmamış olması da buradan elde edilecek bulguların önemini arttırmaktadır.

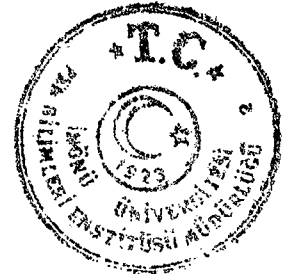
Sarıyar Baraj Gölü ve baraj gölünü besleyen akarsular Ankara ili çevresinde sanayileşmenin en yoğun olduğu ve tarımsal önem taşıyan bir bölgede bulunmaktadır. Sakarya Nehri üzerinde 1956 yılında kurulmuş bulunan baraj Kirmir, Aladağ, Ankara ve Porsuk çaylarından beslenmektedir. Baraj gölü balıkçılarca avlanan ekonomik öneme sahip 8 balık türüyle birlikte toplam 13 tür balığın bulunduğu önemli bir iç su ürünleri potansiyeline sahiptir [1]. Barajın ve besleyen su kaynaklarının büyük ölçüde kimyasal kirlenmeye uğradığı ve kirlilik derecesinin gün geçtikçe arttığı da bilinmektedir [14].

Bu nedenle bu çalışmada belirtilen kirleticilerin balıklar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için biyolojik izleme çalışmalarında sıklıkla kullanılan karaciğer dokusu laktat dehidrogenaz (LDH), alkalen fosfataz (ALP), asit fosfataz (ACP), aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) enzimlerinin değişik sezon ve lokasyonlara göre aktivite değişimleri biyobelirteç olarak kullanıldı. Bununla birlikte, beyin karboksil esteraz (CaE) ve asetilkolin esteraz (AChE) aktiviteleri de saptandı. Böylece toksik etkiye bağlı olarak organizmada en fazla etkilendiği bilinen karaciğer dokusu enzimlerinin aktivite değişimlerinin saptanması planlandı. Ayrıca bu enzimlerin aktiviteleri üzerinde çevresel kirliliğin etkileri, mevsimsel değişime bağlı olarak saptanmaya çalışıldı. OP insektisitlerin doğada kalıcılık ve birikim düzeyinin nispeten az olması nedeniyle, bu pestisitlerin balıklar üzerindeki etkileri, beyin AChE ve CaE enzim aktiviteleri saptanarak belirlenmeye çalışıldı. Böylece bu iki enzimin inhibisyon düzeylerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi de amaçlandı.





Şekil 1.1. Sarıyar Baraj Gölü ve barajda balıkların yakalandığı lokasyonlar



1. 1. Su Kirliliği ve Kirlilik Etmenleri

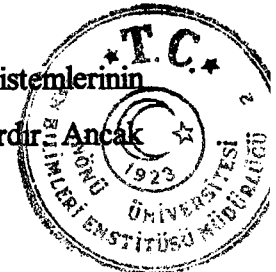
Dünyanın dörtte üçü suyla, geriye kalanı ise toprakla kaplıdır. İnsanlar tarafından üretilen ve kullanılan çok sayıda kimyasal madde sonuçta su veya toprağa karışmaktadır. Su kirliliğinin belirlenmesi amacıyla su ortamında bulunan kimyasal maddeler bir çok şekilde sınıflandırılmaktadır. Kimyasal maddeler, endüstriyel, tarımsal ve evsel kullanımlardan su ortamına karışmakta veya doğal olarak su ortamında bulunmaktadır.

Endüstriyel kimyasalların üretimi, kullanımı ve uzaklaştırılması su kirliliğine neden olmaktadır. Bu kimyasalların kullanılmaları sonrasında uzaklaştırılmaları bir çok endüstri alanı için başlıca problemdir. Örneğin yıkamada kullanılan deterjanlar lağım sularına ve nihai olarak ırmak, göl ve akarsulara karışmaktadır. Fosfatlı deterjanlar algler ve diğer organizmalar için besin kaynağı olabilmekte, bu da su kaynaklarında problem yaratmaktadır. Benzer şekilde kağıt üretiminde kullanılan organik civalı suların boşaltılması sonucu nehirlerin kirlenmesi merkezi yerleşimler için önemli bir problemdir. Kağıt üretiminde kullanılan diğer kimyasallar da kirliliğe neden olabilmektedir [15].

Tarımda pestisitlerin ve suni gübrelerin kullanılması yüzey suyu kirliliğine neden olmaktadır. Pestisitler böcek, zararlı ot ve bitki zararlılarının kontrolunda kullanılmaktadır. Bu kimyasallardan bazıları çevrede uzun süre kalabilmekte ve bu nedenle su sistemlerindeki hareketleri ile suda yaşayan organizmaları uzun vadeli etkileyebilmektedir. Pestisitlerin tarımda rastgele kullanılması, ekolojik dengenin bozulması, hedef olmayan ve ekonomik önemi olan balık türlerinin zarar görmesi şeklindeki istenmeyen bir duruma neden olmaktadır [16]. Gübreler de yıkama ve sızmalarla doğal su sistemlerine karışırlar. Gübrelerin su ortamına karışması ekolojik dengenin bozulmasına ve suda ötrifikasyona yol açmaktadır.

Kimyasalların evsel kullanımı da su kirliliğine neden olabilmektedir. Evsel atıklar çoğu zaman lağım su sistemlerinde yoğunlaşmakta ve bu da suda ağır metallerin yoğun olarak ortaya çıkışına neden olmaktadır. Suların, içme suyu elde edilmesi amacıyla artırılmasında, belirli organik kimyasalların klorlanması ile kanserojen klorlu hidrokarbonlar oluşabilmektedir [17].

Metaller, mineraller, bitki ve hayvan toksinleri çevrede bulunan su sistemlerinin doğal bileşenleridir. Bu maddeler doğada daima olmuşlardır ve de olacaklardır. Ancak



insan aktiviteleri sonucu bazı kimyasalların aşırı üretimi veya doğada bulunan bazı kimyasalların hareketi ile bu maddeler, ortamda yaşayan organizmalara zarar verebilecek bir konsantrasyona ulaşabilmektedir [18].

Ağır metallerin neden olduğu kirlilik dünya ölçeğinde öneme sahip bir fenomendir. Ağır metaller içinde kurşun (Pb), civa (Hg), kadmiyum (Cd), arsenik (As), krom (Cr), çinko (Zn) ve bakır (Cu) en fazla bilinenleri olmalarına rağmen son üç metal, hayvanların sağlıklı beslenmesinde önemli role sahiptir. Bu metaller endüstride, özellikle metal-iş ya da metal-kaplama ve elektronikte geniş olarak kullanılmaktadır. Bunlar ayrıca boya, plastik, ve pestisit üretiminde de kullanılmaktadır. Bu metaller üretim, kullanım ve atma yolu ile sulara karışırlar [19].

Madencilik, endüstriyel ve tarımsal aktiviteler, nehir, ırmak vb. su ortamlarında subletal konsantrasyonlarda bile sucul biotada zararlı etkilerle sonuçlanabilen metal konsantrasyonu artışına neden olmaktadır [20]. Özellikle ağır metaller iyon halinde veya bileşik formları içinde suda çözülmüş olduklarından ve organizmalar tarafından kolaylıkla absorbe edilebildiklerinden oldukça toksik maddelerdir. Absorbsiyon sonrası metaller fonksiyonel proteinler, enzimler ve nükleik asitler gibi hayati hücre makromoleküllerine bağlanarak hücrelerin fonksiyonlarını etkilerler [21].

Son yıllarda halojenli aromatik bileşiklere olan ilgi çevresel kirlenici olarak etkilerinden dolayı artmıştır. PCB'ler iyi bilinen ve her yerde bulunan su kirlenicileridir [22]. Çeşitli amaçlarla kullanılan klorlu fenoller yüzey suyunda ve içme suyunda belirlenmiştir. PCB'lerin çoğu çevrede istisnai durumlarda kalıcıdır ancak bazıları organoklorlu insektisitlere göre daha kalıcıdır. Bu maddelerin lipofilik olmaları biyolojik birikimlerini kolaylaştırmakta ve uzun vadeli etki göstermelerine neden olmaktadır. Araştırmalar PCB'lerin yabancı hayat ve deney hayvanlarında üremeyi etkilediğini de göstermiştir [23].

Organofosfat ve karbamat insektisitler kimyasal savaş ajanları olarak yaygın kullanılan bileşiklerdir. Bu bileşikler bazı durumlarda ekstrem düzeyde toksik olmalarına rağmen halojenli organik bileşiklerle karşılaştırıldıklarında genel olarak çevrede daha kısa ömürlüdürler. Bunlar AChE enzimini karbamilleyerek veya fosforile ederek enzim inhibisyonuna neden olurlar.

OP ve karbamatların sucul biota üzerindeki uzun vadeli etkilerinin değerlendirilmesi bu bileşiklerin nispeten yarı ömürleri, yüksek çözünürlükleri genelde düşük biyolojik birikim oranları nedeniyle zordur [24].



1. 2. Tatlı Su Balıkları

1. 2. 1. Tarihçe

Ekotoksikolojinin ayrı bir bilim dalı olarak kabul görmesinden önce, (1960'ların sonlarında) araştırmalar, fiziksel ve kimyasal ajanların balıklara etkileri üzerinde yoğunlaşmaktaydı. O zamandan şimdiye kadar çalışmaların çeşitli hedefleri vardı: Irmakların kirliliğinin araştırılması, kirlenmiş sistemlerde yapılan alan gözlemlerinin desteğiyle laboratuvarlarda toksik etkilerin belirlenmesi ya da, özellikle son zamanlarda tarım, endüstri veya evsel kaynaklı kimyasalların sucul organizmalar üzerindeki etkileri üzerine araştırmalara daha çok yer verilmekte idi [25]. Doğal suyun kirliliği balıklarda önemli doku hasarlarına neden olabilmektedir. Bu nedenle balıklar, etkilerin niteliğini kontrol etmede biyolojik ölçüm için ya da evsel veya endüstriyel kullanım için suyun kontaminasyonunun önceden belirlenmesinde kullanılmaktadır. Amerikan Standartları Enstitüsü (ASTM) ve Türk Standartları Enstitüsü (TSE)'ne göre de balık biyodeneyle çeşitli toksik ajanların etkisini saptamada kullanılmaktadır [26, 27].

1. 2. 2. Tatlı su balıklarının ekotoksikolojik önemleri

Tatlı su balıklarının ekotoksikolojideki önemi, ekonomik öneme sahip oluşlarından ve besin zincirinin önemli ve üst basamağında bulunmalarından kaynaklanmaktadır. Balıklar ekosistemlerinin ilk predatör nişlerini işgal ederler. Çoğu omnivor veya herbivor olmalarına rağmen, yaşam döngüleri boyunca çok farklı şekillerde beslenerek gelişirler. Büyük bir kısmı göç etmez ya da ırmak zemininde küçük göç hareketleri yaparken, diğer bir kısmı ise katadrom (üremek için nehirlerden denizlere geçen balıklar) veya anadromdur (üremek için denizlerden nehirlere geçen balıklar). Balıklar göç esnasında sık sık denize (örneğin ergin yılan balıkları) veya tatlı suya (örneğin yılan balığı yavruları ve çok sayıda salmonid) geçerler [28].

Benzer nedenlerden dolayı balıklar tatlı su çevresinin sağlığı için nöbetçi organizmalar olarak kabul edilmektedir. Sucul habitatın bütün zonlarında suyun hızı, türbülansı, oksijen içeriği ve kalitesinin uygun olduğu durumlarda yaşayabilirler. Buna rağmen sucul çevrede su kalitesine eşit veya daha yüksek duyarlılığa sahip çok sayıda tür vardır. Balıklar, tek başına hacimleri ve ticari balıkçılarca onlara verilen önemden dolayı mükemmel indikatör organizmalar olarak kabul görmektedirler [29].

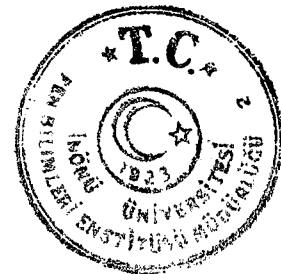


Yaşam döngülerinde balıklar algler, rotiferler, mikrokrustaseler, mikroinvertebralar, yüksek bitkiler ve diğer balıklarla beslenebilirler. En büyük ayrıcalıkları kuşlar, amfibiler ve küçük memeliler tarafından bile avlanabilmeleridir. Balıkların çoğu beslenme alanlarında çok sayıda etkileşim içindedir; az sayıda besleyici türe bağlı kalmazlar. Suyun yüzeyinde, orta derinlikte ya da ırmağın veya gölün zemininde beslenebilirler. Bu çeşitlilik balıkları, türler arası etkileşimin ve tür içi rekabetin üzerinde kimyasalların olası etkilerinin incelenmesine izin veren ekotoksikolojik çalışmalar için kullanışlı nesnelere haline getirir [30]. Buna rağmen doğal veya doğala yakın ekosistemlerdeki balıklarda biyolojik birikimin çalışılması, son olarak balığa girmeden önce bir kimyasalın olası rotasının çeşitliliği nedeniyle son derece karışık bir hal alır [31].

Balıkların göç şekilleri, beslenme alanları ve üreme stratejileri ile bağlantılıdır. Örneğin katadrom türlerin larvaları kirleticilerin tatlı su kimyası ile asla etkileşmezken, ergin anadrom balıklar sadece yumurtlamaya geçişlerinde kirleticiler ile karşılaşır. Bu nedenle kimyasallara maruz kalma potansiyelleri üzerinde göç, başlıca bir etkiye sahip olabilir [32].

Balıklar ksenobiyotik bileşiklere, özellikle suda çözünürlüğü az olanları, sudan ya da besinlerden alarak vücutlarında biriktirirler. Sudan ksenobiyotik alımı kimyasalları taşıyan solüsyon ve süspansiyon halindeki ortam ile çok sıkı ilişki nedeniyledir. Ayrıca balıklar ortamdan oksijen almak için muazzam miktarda suyu solungaçlarından geçirmek zorundadırlar [33]. Buna bağlı olarak, ortamda bulunan kirleticilere maruz kalırlar. Sonuç olarak, balıklar sudaki kirletici etmenlere tüm vücutları ile maruz kalmaktadır.

Son yıllarda suyun kimyasal maddelerle kirlenmesi ve teleost balık sağlığı arasında önemli bir ilişki olduğu saptanmıştır. Kanıtlar, göl, ırmak ve denizlerde kimyasalların artışının yaşam için sınırlayıcı bir faktör olmaya başladığını göstermektedir [34]. Belirtilen nedenlerden dolayı balıklar ekotoksikoloji çalışmalarında önemli bir yere sahiptirler.



1. 3. 3. Balık türlerinin seçimi

Sarıyar Baraj gölünde 8'i ekonomik öneme sahip olmak üzere 13 tür balık yaşamaktadır [1].

Göldeki balık türleri; Sazangiller (Ciprinid) *Alburnus orontis* (gümüş balığı), *Barbus plebejus* (bıyıklı balık), *Capoeta capoeta* (iki bıyıklı in balığı), *Capoeta tinca* (dört bıyıklı in balığı), *Chondrostoma nasus* (kababurun), *Cyprinus carpio* (sazan), *Leuciscus cephalus* (tatlı su kefali), *Tinca tinca* (kadife balığı), *Vimba vimba* (eğrez), *Silurus glanis* (yayın), *Cobitis simplicispina* ve *Orthrias sp.*'dir.

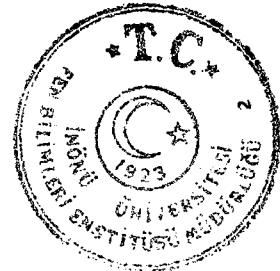
Sarıyar Baraj Gölü'nde kirliliğin araştırıldığı bu çalışmada, balık türlerinin seçiminde besin zincirindeki konumları dikkate alınmıştır. Yayın balığı karnivor olması nedeniyle öncelikle pisivor (balık yiyen balık) olma özelliği nedeniyle ayrıca dip balığı olması nedeniyle tercih edilmiştir. Gölde yaşayan tek pisivor balık yayın balığıdır.

Sazan balığı omnivor beslenme özelliğine sahip olup baraj gölündeki önemli ekonomik türlerden biridir. Eti yayından sonra en çok tercih edilen balık olmasının yanı sıra, Avrupa ve Asya'daki en yaygın tatlı su balıklarından biridir. Sazan yavruları yayına yem olabildikleri gibi, bentik omurgasızlarla beslenerek çeşitli toksik maddelerin birikiminin araştırılabileceği önemli bir biyolojik materyaldir.

1. 3. 1 . *Cyprinus carpio*:

Cyprinus cinsine ait balıklar Avrupa, Kuzey Amerika ve Anadolu'da durgun ya da yavaş akan, yazın sıcaklığı yüksek olan sularda yaşarlar. Kışın çok düşük sıcaklıklara dayanabilirler. Omnivor zemin balıklarıdır. Boyları 100-150 cm., ağırlıkları 15-30 kg'a kadar ulaşabilir [28].

Avrupa ve Asya'nın ılıman bölgelerinin yerli balıkları olan bu tür, Türkiye'nin bir çok bölgesinde yaygındır. Anadolu'ya insanlar tarafından getirilmiştir. Orta boyluları bölgesel olarak göç eder; kışı, suların derin yerlerine çekilerek ya da çamurlara girerek besin almadan geçirirler. Yavrular, rotatoria, infusoria ve mikroorganizmalarla beslenirler. Erişkinlerin besinleri, planktonlar özellikle su pireleri (*Daphnia*), Chironomidler gibi dip hayvanları, bazı midyeler, keza fitoplanktonlar, hatta su bitkileridir.



1. 3. 2. *Silurus glanis*:

Kuzey Yarım Kürede, özellikle Avrupa'da geniş olarak yayılmışlardır. Kemikli balıkların en büyük türüdür. Boyu 3-4 m., ağırlığı 250-300 kg. kadar olanlara rastlanmıştır. Genellikle 1 m. boyunda 10 kg. ağırlığında olurlar. Vücudu sümüksü mukus salgıyla kayganlaşmıştır. Başı çok tipik olarak yassı; ağzı çok geniştir. Derin suları severler. Yavaş yüzerler. Su bitkilerinin arasına, çamurların içine gizlenirler. Her çeşit hayvanla beslenirler. Gençken omurgasızlar, erginleştiklerinde balık ve kurbağalar başlıca besin kaynaklarını oluşturmaktadır [28]. Geceleri aktiftirler. Anadolu'daki Fırat-Dicle havzası hariç birçok göl ve nehirde yaşarlar. Nehirlerin alt kısımlarındaki durgun sularda, göllerde ve bazen acı sularda bulunurlar [35].

1. 3. 3. *Capoeta tinca*:

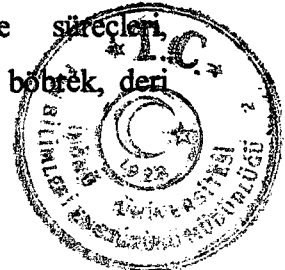
Vücutları iğ şeklinde uzun; bir ya da iki çift bıyıkları vardır. Temmuz- eylül aylarında 2.000-20.000 yumurta bırakırlar; erkekleri 2, dişileri 3 yaşında olgunlaşırlar. Boyları 8-15 cm. arasındadır. Erkekler daha küçüktür. Kuzey ve Orta Anadolu'da (Trakya hariç) yaşarlar.

1. 4. Karaciğerin Dokusunun Kullanılma Nedenleri

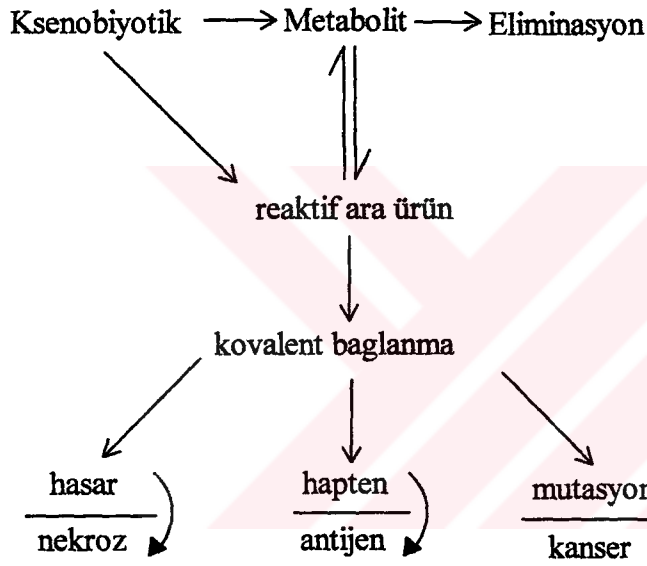
Karaciğer, vücudun hemen bütün sistemleriyle ilişkisi bulunan ve son derece karmaşık ve önemli fonksiyonları olan bir organdır. Karaciğerin, karbonhidratların depolanması ve metabolizmasının kontrolü, safra yapımı, keton bileşiklerinin yapımı, plazma proteinlerinin sentezi, çeşitli ilaç ve zehirlerin detoksifikasyonu, üre yapımı bazı hormonların inaktivasyonu, yağ metabolizması gibi fonksiyonları vardır [36]. Karaciğerin bu önemli fonksiyonları başlıca üç grupta toplanabilir. Bunlar;

- a) Kanın depolanması ve filtrasyonu ile ilgili olan vasküler fonksiyonlar.
- b) Sindirim sistemiyle ilgili olarak safra yapımı ve sekresyonu fonksiyonları.
- c) Tüm vücut dokularıyla ilgili olarak metabolik fonksiyonlar

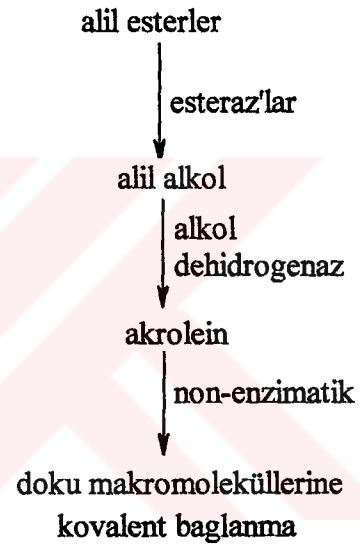
Bir çevresel kimyasal bir organizmaya girdikten sonra vücutta kimyasalın yapısını değiştiren reaksiyonlar ortaya çıkar. Bu metabolik değiştirme süreçleri biyotransformasyon olarak bilinir. Biyotransformasyon bağırsak, akciğer, böbrek, deri ve karaciğer gibi birçok organ ve dokuda görülür.



Bu kimyasal reaksiyonların büyük bir çoğunluğu karaciğerde gerçekleşir. Karaciğer vücudun maruz kaldığı yabancı kimyasal maddelerin çoğunu metabolize eder. Karaciğerdeki biyotransformasyon geniş çeşitlilikteki çevresel kimyasalların toksik etkilerine karşı vücudu koruyan kritik bir faktördür [37]. Karaciğer, reaksiyonları katalizleyen bir çok özgül olmayan enzimi içerdiğinden biyotransformasyonda başlıca rol oynar. Sürecin sonunda ksenobiyotik daha kolay atılabilen ve sudaki çözünürlüğü daha fazla olan formlara dönüştürülür. Bu gibi metabolik süreçlerin amacı kimyasalların toksisitesini azaltmak iken, bu durum daima bu şekilde gerçekleşmez. Ara sıra metabolik süreç ksenobiyotiği karaciğer hücre bileşenleri ile etkileşerek hasarlara neden olan reaktif bir maddeye dönüştürür (Şekil 1.2. ve Şekil 1.3.) [38].

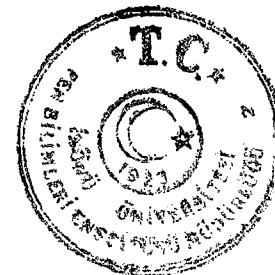


Şekil 1.2. Bir ksenobiyotiğin biyoaktivasyonu ve biyotransformasyonu arasındaki ilişki



Şekil 1.3. Alil esterlerin biyoaktivasyonu

Karaciğer biyosit ve ksenobiyotiklerin toksik aktiviteleri için hedef organlardan biridir. Bahklarda OP bileşiklere kronik maruz kalma karaciğerde hücresel bağ yitimi, bağlayıcı doku hasarı, sitoplazmolizis ve hepatositlerin genişleme ve nekrozlarını içeren çeşitli histopatolojik değişimleri indükler [39]. Bundan dolayı karaciğerin kimyasal maddelerin detoksifikasyonu için metabolik bir merkez olduğu kabul edilmektedir [40].



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2. 1. Biyobelirteç Olarak Kullanılan Enzimler

2. 1. 1. Karboksil esteraz

Karboksil esteraz (EC 3. 1 .1 .1) (CaE), ester substratlarının bir türünden alkol bağının hidrolizini katalizleyen, serin hidrolazlar sınıfındandır. CaE, organofosfatlı kolinesteraz inhibitörlerinin varlığında geri dönüşsüz fosforilasyon gösterdiğinden B esteraz sınıfına ait görünmektedir. CaE aktivitesi omurgalı ve omurgasız türlerinin dokularının birçoğunda vardır [41]. CaE'nin birçok izoenzimi izole edilmiş ve hatta saflaştırılmış halde bile geniş substrat özgüllüğü gösterirler.

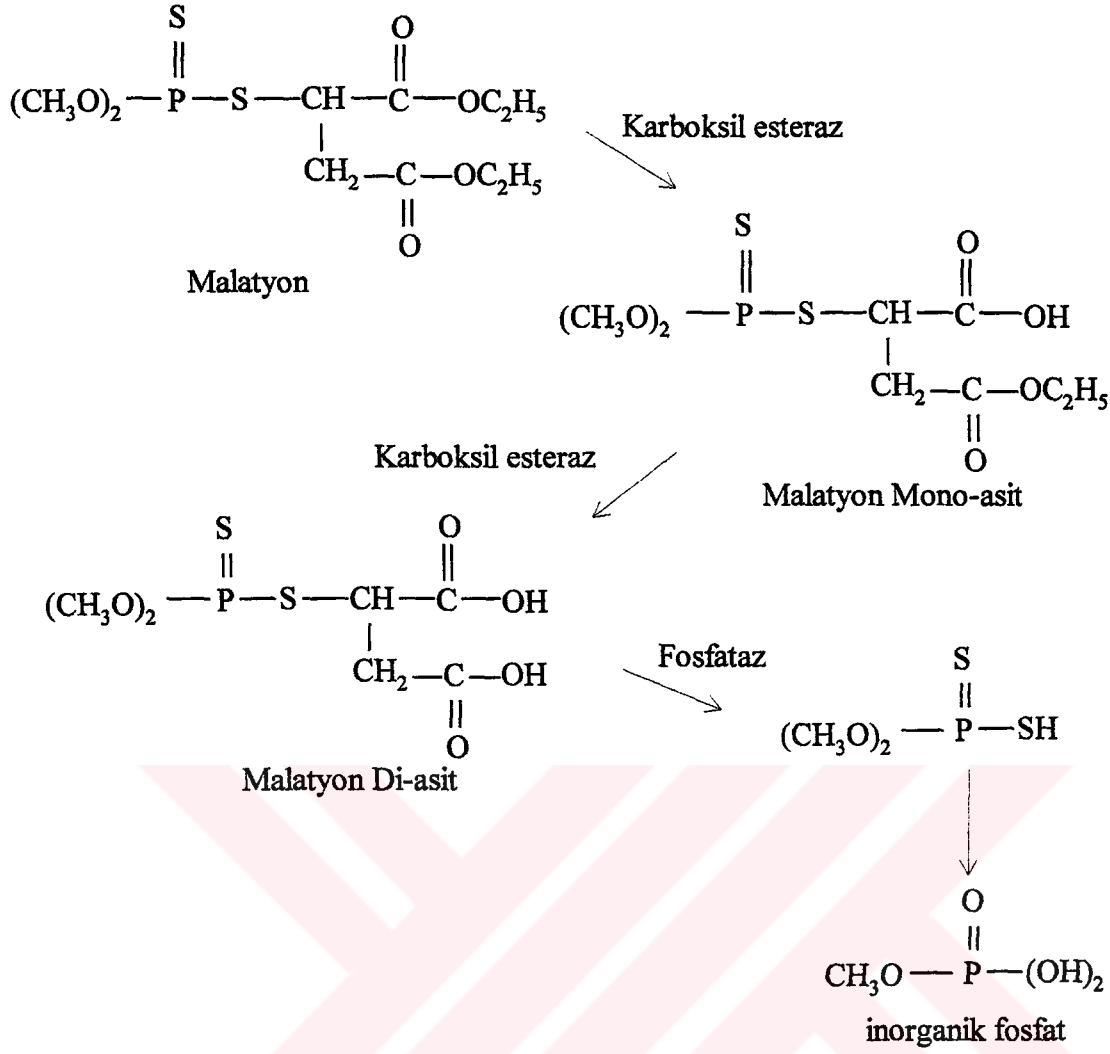
CaE'ların fizyolojik fonksiyonları belirsizdir; ancak spesifik lipidlerin taşınmasında ve depolanmasında, ksenobiyotik ve biyolojik esterlerin asimilasyonunda ve düzenleyici fonksiyon olarak özgül hormonların biyoaktivasyonunda işlev görüyor olabilirler [42].

Organofosforlar ve karbamatlar tarımda fungus ve böceklerin kontrolünde geniş olarak kullanılmaktadır. Bu bileşiklerin nehirlere karıştığı ve bazen de denizlere ulaştığı, çeşitli sucul ekosistemlerde kirliliğe neden olduğu bilinmektedir [43]. Özgül olmayan esterazlar, organofosforlu bileşikler ve sentetik pretroidler detoksifikasyonunu içeren önemli bir role sahip olan hidrolitik enzim grubunu içerir [44-48].

Sucul çevrede esterlerin büyük varlığına rağmen balıklarda CaE'nin aktivitesinin çevresel kirlenmenin belirteci olarak kullanılmaya başlanması ancak son yıllarda önem kazanmıştır. Esterli bileşiklerin önemli sınıflarını temsil eden herbisit ve fitlat esterleri çoğunlukla CaE tarafından biotransforme edilirler. Esterli bileşiklerle ilgili sınırlı sayıdaki araştırmalar, balıkların yüksek esteraz aktivitesine sahip olduklarını ve ester hidrolizinin, hidrofobik kirleticilerin biyolojik birikimini önemli oranda azalttığını göstermektedir [49, 50]. Özellikle son yıllardaki çalışmalar, CaE'nin memelileri ve balıkları organofosfat ve organofosforotiot insektisitlerin toksik etkilerine karşı koruyucu role sahip olduğunu da göstermektedir [51, 52].

Malatyon tarımsal uygulamada çokça kullanılan bir organofosforlu insektisittir. Bu nedenle balıkların zarar görmesi ile sonuçlanan su kaynaklarını kirlenme bakımından önemli bir potansiyele sahiptir [53, 54]. Cook et al. [55] ve Gantberg et al. [56] göre malatyon balıklarda önemli ölçüde CaE tarafından hidrolize edilmektedir (Şekil 2.1).





Şekil 2.1. Malatyonun karboksil esteraz tarafından yıkım reaksiyonu

Malaxon, malatyonun aktif bir metabolitidir. Deuterman'a göre [44], malaxon sadece bir substrat değildir, ayrıca bir karboksil esteraz inhibitörüdür. Benzer olarak diğer OP bileşikler ve metabolitlerinin de benzer aktivitelere sahip olduğu düşünülmektedir.

Çeşitli substratların hızlı biyotransformasyonunun çevresel kirleticilerin biyokonsantrasyonunu azalttığı bilinmektedir [57, 58]. Sınırlı sayıdaki ester substratı üzerindeki çalışmalar, balıkların serum ve karaciğerde yüksek CaE aktivitesine sahip olduklarını ve ester hidrolizinin bir çok hidrofobik esterin birikimini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir [59]. CaE aktivitesinin seçici aktif-bölge inhibitörü bis-nitrofenil fosfat ile inhibisyonu, triclopyr bütoksietil esterinin biyokonsantrasyonunda tahminen yedi kat ve di-2etilheksil fitlat biyokonsantrasyonunda ise tahminen sekiz kat

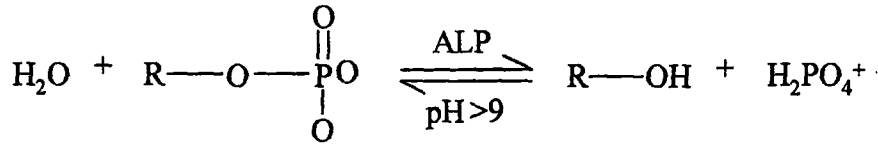


fosfor bağları gibi bileşikteki fosfatın yüzeyinden ayrılan gruplar ile ilintilidir. OP insektisitler, oxon metabolitlerine aktive olduklarında AChE'nin aktif bölgesinde bulunan bir serin hidroksil grubu ile fosforile olarak enzimin aktivitesini inhibe ederler. OP'ye maruz kalmanın sonrasında aktif bölgenin kalıcı inhibisyonu nörotoksik etkiye neden olur [63].

Yukarıda belirtildiği gibi AChE inhibisyonu ve inhibisyonun etkileri, öncelikli olarak OP ve karbamat pestisitlerin neden olduğu çevresel kirliliğin belirlenmesinde belirteç olarak kullanılmış; ancak az sayıda çalışmada ise uzun süreli, metallere in vivo maruz kalmanın etkileri araştırılmıştır. Suresh et al. [64] ve Verma et al. [65] tarafından bildirildiğine göre, bakıra maruz bırakılmış *Sacbranchus fossilis*'te ve subletal konsantrasyondaki civa ve çinko'ya maruz bırakılmış sazanda değişik organların AChE aktivitesinde önemli düşüşler olmuştur.

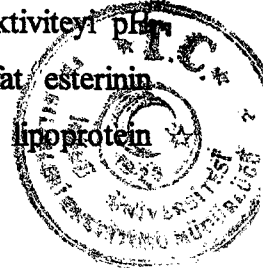
2. 1. 3. Alkalen fosfataz ve asit fosfataz

Alkalen fosfataz (ALP; EC 3.1.3.1) organik esterlerden uç fosfat grubunu kıran bir enzimdir [66]. Fosfataz bir fosfat formunu bir gruptan diğerine taşıyarak alkol ve ikinci bir fosfat bileşiğinin oluşumunu sağlar (Şekil 2.3.). Su fosfat alıcısı iken, reaksiyon sonucu ortofosfat oluşturulur. Bu enzim optimum aktiviteyi yaklaşık olarak pH 10'da gösterir. ALP maksimum aktivite ve kararlılık için Mg^{+2} ve Zn^{+2} iyonlarına ihtiyaç duyar; Ca^{+2} ve inorganik fosfat tarafından ise inhibe edilir [62]. ALP esas olarak hücre membranına lokalize olmuştur. Karaciğer hücrelerindeki herhangi bir değişim ALP aktivitesinin değişimi ile sonuçlanabilir [67].

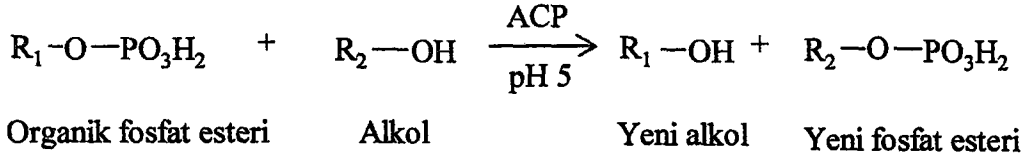


Şekil 2.3. Alkalen fosfataz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon.

Asit fosfataz (ACP, EC 3.1.3.2) asidik bir pH'da fosforik monoesterleri hidrolizleyen bir grup fosfohidrolaza verilen genel isimdir. Maksimum aktiviteyi pH 5'te gösterir ve bir ortofosforik monoesterden alkol ve yeni bir fosfat esterinin oluşumunu katalizler (Şekil 2.4.) [61]. ACP'nin lizozomu çevreleyen lipoprotein



membranda lokalize olduğu bilinmektedir. Pestisitler hücrel nekroz veya otolitik yıkımla bu enzimin sitoplazmada ortaya çıkmasına neden olurlar [40].



Şekil 2.4. Asit fosfataz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon.

Lizozomlarda bulunan ACP ve ALP gibi birkaç hidrolitik enzimin, hücre parçalanması sonucu hücre sistemindeki düzeylerinde bir artışın görüleceği Duve [67] tarafından gösterilmiştir. Önemli organofosforlu pestisitlerin indüklediği dejeneratif histopatolojik değişimler sonucu *C. punctatus* balığının karaciğer, kas, ve böbrek ALP ve ACP aktivitelerinin arttığı rapor edilmiştir [68, 69]. Bu araştırmacılar farklı organlarda pestisitlerin güçlü toksik etkilerinin neden olduğu lizozom ve hücre membranı yıkımının, bu iki enzimin aktivitelerini arttırdığını ve hücre sisteminde bu hidrolazların serbest kalmasının otolizi kolaylaştırdığını göstermişlerdir. Karbafurana maruz bırakılmış *C. punctatus* karaciğerinde ALP ve ACP düzeylerinde karşılaştırılabilir yükselme bu enzimlerin, hepatositlerin canlılığını yitirmesi ve lizozomların yıkımı sonucu hepatic hücre sisteminde birikimlerini göstermektedir [70].

Ram ve Sing [40] ise karbafuran muamele edilmiş *C. punctatus* balıklarının karaciğer ALP ve ACP aktivitelerinin düzeylerinde bir yükselme olduğunu bulmuştur. Fakat Sharma [71] endosulfana maruz bırakılmış *C. gachua* balıklarında bu enzimlerin aktivitelerinin azaldığını rapor etmiştir.

Farklı organoklorin pestisitler arasında endosülfan, çeşitli tarımsal zararlıları kontrol etmede en yaygın kullanılan insektisittir. Balıklar endosulfana aşırı duyarlıdır; göl ve ırmaklara endosülfan sızması sonucu balık ölümleri rapor edilmiştir. Endosülfanların çok sayıda teleost tatlı su balığında karaciğer, kas, böbrek ve beyin ALP aktivitesini artırdığı gösterilmiştir [72].

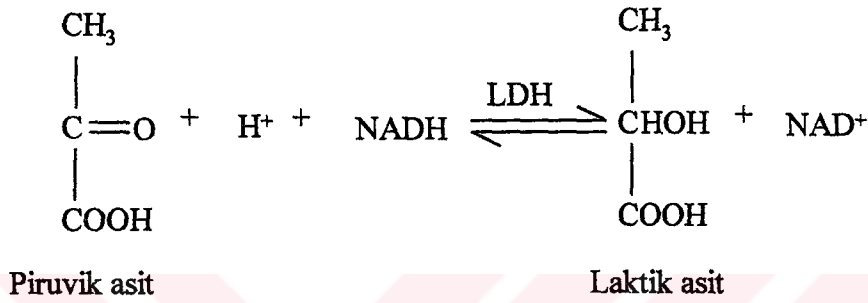
Organofosfat pestisitler balıkların farklı dokularında nükleik asit sentezini olumsuz etkileyerek ALP ve ACP aktivitelerini inhibe ederler [73]. Benzer şekilde organofosfatlı bir pestisit olan quinalphos'un subletal konsantrasyonlarına maruz



birakılmış balıklarda karaciğer tahribatı ALT ve AST aktivitelerindeki değişimlerle belirlenebilirken; ek olarak stres altındaki metabolik değişimler için ACP, ALP ve LDH aktiviteleri önemli biyobelirteçler olarak kullanılabilir [40].

2. 1. 4. Laktat dehidrogenaz

Laktat dehidrogenaz (LDH, EC 1.1.1.28) hücre sel sitoplazmada bulunur ve glikolizde aktif durumda piruvik asit üzerinden glukozu laktik asite dönüştürür [74].



Şekil 2.5. Laktat dehidrogenaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon

LDH glikolitik yolda sitoplazmik bir biyobelirteçdir [75]. Glukolizisin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve bu nedenle normal hücre sel fonksiyonlar için çok önemlidir. LDH gerçekte organizmanın bütün dokularında bulunur. Ancak karaciğer, böbrek ve kastaki aktivitesi serumdan önemli ölçüde yüksektir [76].

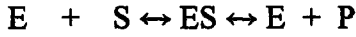
Memelilerde iki tip LDH izoenzimi bulunmaktadır: M subüniteleri iskelet kasının karakteristiği, H subüniteleri kalp kasının karakteristiğidir. Tip C olarak adlandırılan izoenzimi ise balıklarda, özgül olarak karaciğerde bulunmaktadır [77].

Doku hasarının olduğu çoğu durumda, hastalık durumundan ya da toksik bir bileşikten dolayı LDH aktivitesinin önemli bir şekilde etkilenmiş olduğu rapor edilmiştir [76]. Patolojik LDH değerleri enfeksiyon, şok, zehirlenme nedeniyle hücre membran hasarları veya doku nekrozlarının oluşması; ya da karaciğer, iskelet ve kalp kası özgül hasarlarının oluşması ile açıklanır [78]. Bundan dolayı serum aktivitelerindeki patolojik değişimler genellikle hücre sel hasarı izleyen sitoplazmik LDH'in sızmasının bir sonucudur [66].

Endosülfan birikimi deniz ve tatlı su hayvanlarında rapor edilmiştir [79]. Endosülfan birikimi deniz ve tatlı su hayvanlarında rapor edilmiştir [79] ve arkadaşlarına göre [80] endosülfana maruz bırakılmış balıklarda (C.



LDH aktivitesindeki azalma, enzim molekülleri ile endosülfan veya onun metabolitlerinin verimli-olmayan bağlanmalarından ve/veya enzim sentezinin bloke edilmesinden kaynaklanmıştır. Bulgular endosülfanın enzim ve enzim-substrat kompleksine bağlandığını göstermiştir. Buna rağmen endosülfanın bağlanma eğilimi, saflaştırılmış ve ham LDH'ın her ikisi için de daha çok enzime karşıdır. Sonuç olarak enzim verimli kompleks yapamadığından endosülfana maruz bırakılmış balığın anaerobik metabolizmasının verimliliği azalır. Endosülfan olası niteliksel inhibisyon mekanizması şu şekilde formüle edilebilir:



↑ Endosülfan

E-END

Burada E, LDH-NADH/NAD⁺ yı, S, LDH-NADH-pirüvat kompleksini, P, laktatı ve E-END, LDH-endosulfan kompleksini göstermektedir [82].

Karbofuranın (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil metilkarbammat) periferel ve ayrıca merkezi organlarda, beyinde ve nöromuskular bağlantıların sinapslarında asetilkolinesteraz inhibisyonu ile hiperkolinerjik aktivite ürettiği bilinmektedir [81]. Karbofuranın düşük konsantrasyonlarda *C. batrachus*'un farklı dokularında LDH ve protein içeriğinde önemli değişikliklere neden olarak, zararlı etkiler gösterdiği Rajendra ve arkadaşları [75] tarafından rapor edilmiştir. *C. batrachus*'un farklı organlarında LDH aktivitesindeki azalma karbofuran konsantrasyonundaki ve muamele periyodundaki artışla doğrusal bir orantı göstermiştir. Karbofuranın etkilerini değerlendirmeye yönelik in-vitro çalışmalar, pestisit *C. batrachus*'un dokularından izole edilmiş LDH aktivitesini kuvvetli bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir. Bulgular organokarbamat pestisitlerin bu terminal glikolitik enzim üzerindeki inhibe edici etkisinin enzim-inhibitör kompleksinin oluşumundan kaynaklanabileceğini göstermektedir. Bunun sonucu olarak LDH aktivitesindeki azalma *C. batrachus*'un karbonhidrat metabolizmasının bozulmasına neden olmaktadır. Bir organokarbamat pestisit olan karbaril subakut konsantrasyonlarda balık dokularında laktik asitin düzeyinde şiddetli yükselmelere neden olmaktadır. Pestisite maruz kalmış *C. batrachus* dokularında LDH aktivitesindeki olası inhibisyon ve laktik asit düzeyindeki artış, teleost balıklarına göre dokulardaki glikoliz oranının daha yüksek ve TCA döngüsünün oranının ise daha düşük göstermiştir. Karbofurana maruz bırakılmış balık dokularında laktik asit birikimi ve LDH aktivitesinin inhibisyonu pestisitlerin ayrıca enerji metabolizmasına da engel olduğunu göstermektedir [82].



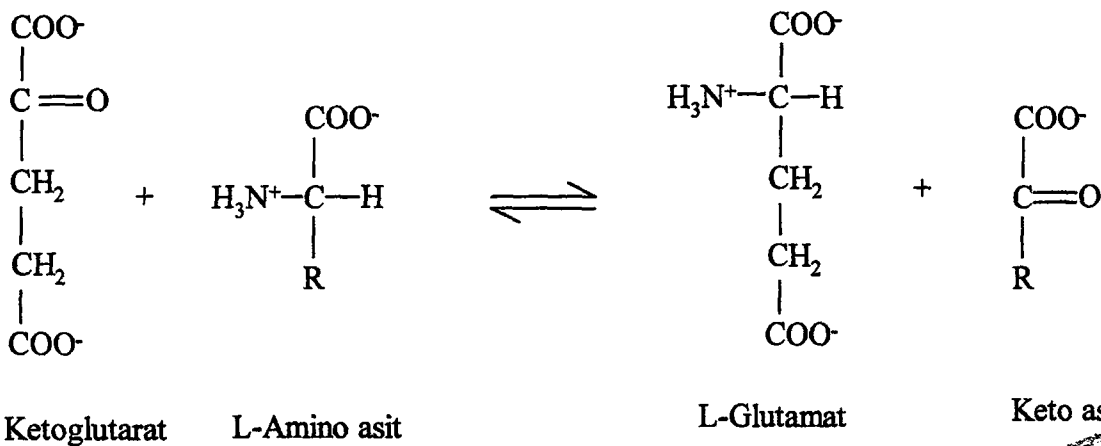
Bir hücrel enzim aktivitesindeki değişim derecesi öncelikle hücre hasarının büyüklüğüne ve etkinliğine bağlıdır [76]. Kanda bazı enzimlerin varlığı partiküler bir organda hücrel hasarı gösterir. Birkaç rapor toksik maddeye maruz kalmanın bir sonucu olarak balıklarda LDH, ALP ve ACP değişimine özel olarak dikkat çekmekte olmasına rağmen, en büyük teşhis potansiyelini gösteren iki enzimin ALT ve AST olduğunu belirtmektedir [83].

2. 1. 5. Aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz

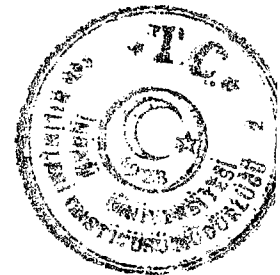
Aspartat aminotransferaz (AST; L-aspartat: 2-oksoglutarat aminotransferaz, EC: 2.6.1.1) glutamat oksaloasetat transaminaz (GOT) olarak da adlandırılır. Bu enzim L-aspartat ve 2-oksoglutarat, glutamat ve oksaloasetat arasında geri dönüşlü transaminaz reaksiyonunu katalizler. Enzimin varlığı ilk olarak Cohen [74] tarafından gösterilmiştir.

Elektroforetik olarak enzim iki temel forma ayrılmıştır. Biri çözünür ya da sitozolik form (c-AST) ve diğeri mitokondrial form (m-AST); ki bu iki form çok sayıda hayvansal çalışmada rapor edilmiştir. Her iki izoenzim de amino asit metabolizmasına, üre ve sitrik asit döngüsü arasında bir bağlantı olarak katılmaktadır. Sitozolik izoenzim özellikle daha yoğun olarak glikoneogenesis sürecinde yer almaktadır [84].

Alanin aminotransferaz, (ALT; L-alanin: 2-oksoglutarat aminotransferaz, EC 2.6.1.2) glutamat-piruvat transaminaz (GPT) olarak da adlandırılır. ALT, L-alanin ve L- glutamat arasında bir amino grubunun transferini katalizler. Bu in vivo reaksiyon üre döngüsü için nitrojen kaynağı sağlamak amacıyla sağa doğru gerçekleşir [61].



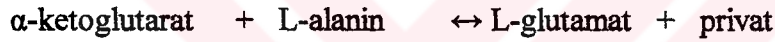
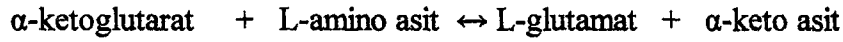
Şekil:2.6. Alanin aminotransferaz tarafından katalizlenen reaksiyon



Azot metabolizması, çevresel değişimlere yanıt olarak uyum sağlayıcı değişimler gösteren hassas fizyolojik sistemlerden biridir [85].

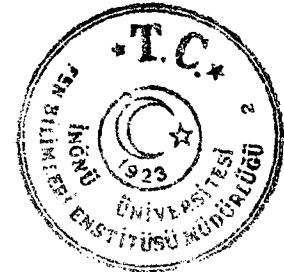
Proteinlerde bulunan 20 L-amino asitin α -amino grupları, amino asitlerin oksidatif yıkımları gerçekleşirken uzaklaştırılır. Şayet yeni amino asitlerin ya da azotlu ürünlerin sentezinde kullanılmıyorsa bu amino grupları basit boşaltımla sonuçlanan bir ürün halinde atılır. Sucul organizmalar azotu, NH_4 (amonyak) halinde kolayca su ortamına verirler.

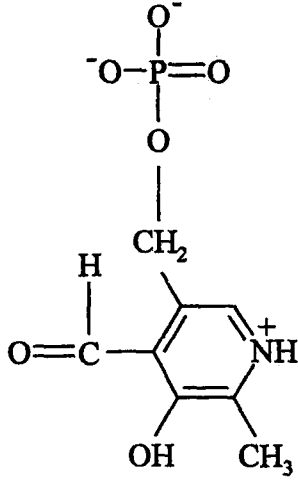
Çoğu L-amino asitin katabolizmasının ilk basamağı olan α -amino gruplarının uzaklaştırılması, aminotrasferaz ya da transaminaz enzimlerince katalizlenir. Bu transaminasyon reaksiyonlarında α -amino grupları, α -ketoglutaratın α -karbon atomuna transfer edilir, geriye amino asidin analogu olan uygun α -keto asit kalır [86].



Reaksiyonlardan da görüleceği üzere; ortada net bir amino grubu kaybı gözlenmez. Görüldüğü gibi bir amino asit α -amino grubunu kaybederken bir α -keto asite dönüşmekte ve amino grubunu alan α -ketoglutarat ise bir amino asit olan L-glutamata dönüşmektedir. Meydana gelen L-glutamat diğer pek çok biyosentetik yolda amino grubu donörü olarak rol oynamakta veya amino grubu azotlu atık maddeye dönüştürülerek vücut dışına atılmaktadır.

Bütün aminotransferazlar genel bir prostetik grup ve genel bir reaksiyon metabolizmasını paylaşırlar. Prostetik grup, vitamin B₆ veya pridoksinin koenzim formu olan pridoksal fosfattır (Şekil 2.7.). Pridoksal fosfat, amino transferazların aktif bölgesine amin gruplarının ara taşıyıcısı olarak işlev görür. Enzim reaksiyonu katalizlerken geriye dönüşlü olarak aldehit formu olan piridoksal fosfat halinde bir amino grubu alarak piridoksal fosfata dönüşmekte, daha sonra ise bu amino grubu α -ketoglutarata veya bir başka α -keto asite vermektedir [87].





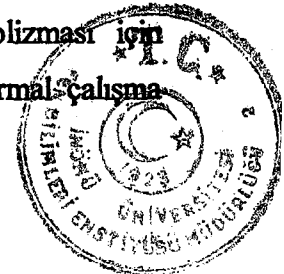
Şekil 2.7. Piridoksal fosfat

Transaminazlar serumda çok az miktarda bulunan intraselüler enzimlerdir. Ancak karaciğer hücre hasarları, büyük konsantrasyon gradienti nedeniyle enzimlerin plazmaya sızması ile sonuçlanabilir [40].

Kan plazması mAST aktivitesinin belirlenmesi, karaciğer hücre hasarının şiddeti üzerinde gerekli bilgiyi sağlayabilmektedir. AST'nin, ayrıca çeşitli toksik ajanlara veya kirlenmiş çevreye maruz kalmış balıkta biyokimyasal stres indikatörü olarak kullanışlı olduğu kanıtlanmıştır [88].

Ağır metallerin sucul organizmalar üzerindeki etkileri transaminaz aktivitesindeki değişimlere bakılarak değerlendirilebilmektedir. Kadmiyum (Cd) her yerde bulunan ve zararlı ağır metal olarak kabul edilen bir toksikanttır. Balıkların bu metalin düşük konsantrasyonuna maruz kalmaları bile doku hasarı, omurga değişimleri, solunum değişimleri ve son olarak ölüme de içeren birçok toksik etki ile sonuçlanabilir. Değişimler ayrıca karbonhidrat ve protein metabolizması gibi biyokimyasal ve fizyolojik düzeyde de görülebilir.

Metal toksisitesince indüklenmiş protein metabolizması ile ilgili çoğu çalışma şüphesiz metallothionein (MT) üretimi ile ilgilidir. Metalothioneinler düşük moleküler ağırlıklı sisteinerik metal-bağlı proteinlerdir. Metale maruz kalma sonrasında bu maddelerin sentezinin artması birkaç balık türünde çalışılmıştır. Bu proteinlere Cd'nin bağlanması diğer hücrel moleküllere metalin yan etkisini önlemektedir; bu nedenle metal toksisitesine karşı korumayı sağlamaktadır. Hayvanların metabolizması için proteinlerin temel bileşen olması, ağır metallerin de bu moleküllerin normal çalışma



süreçlerinde yer alabilmeleri gerçeğinden dolayı metale maruz kalma protein metabolizmasındaki değişimlerin çalışılmasında daha ileri detay için önemlidir. Değişimler, proteinlerin sentezinde ve yıkımında belirli enzimlerin aktivasyonunda ve inhibisyonunda ortaya çıkabilir. Bunlar, total protein içeriği, serbest amino asit (SAA) konsantrasyonu, proteaz aktivitesi, ALT-AST aktivitesindeki değişimler olarak gözlemlenebilir.

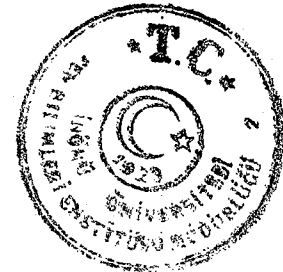
Bakır içeren fungusitlerde bakır (Cu), fungusit etkiye sahiptir. Yüksek dozda bakır iyonları yaşayan organizmalar, özellikle suda yaşayanlar için tehlikelidir.

Bakır iyonlarının yaşayan organizmalar üzerindeki toksik etkileri çeşitli deneylerle kontrol edilmiştir. Özellikle tehlike altındaki hayvan türleri, sucul organizmalar ve sucul besin zincirinin zirvesinde yer alan balıklardır. Balık vücudunda bakır iyonlarının birikimi, Cd'a benzer bir şekilde, doku nekrozu nedeniyle serum ALT ve AST düzeyinde bir artışa neden olmaktadır [89].

Trifluralin herbisit olarak kullanılan bir dinitroanilin bileşiğidir [90]. Trifluralin sucul ekosistemlere sızma ve yer altı suları ile girmekte; benzer şekilde su kaynaklarının yakınlarında kullanılan diğer herbisitlerde ekosistemlere girmektedir. Bu bileşiğin sucul ekosistemlere ulaşabilen konsantrasyonlarının temiz su ekosistemlerinin biyotik bileşikleri üzerindeki etkileri Vidmanic et al., [91] tarafından gösterilmiştir .

Değişik konsantrasyonlarda trifluraline maruz bırakılmış sazanda; karaciğer ve kan serum AST aktivitesinde istatistiksel açıdan önemli bir artışın olduğu bulunmuştur. Trifluraline maruz bırakılmış balıkların serum ve solungaç transaminaz aktivitesindeki artış, hasar görmüş plazma membranlarından enzimlerin sızması ve/veya dokulardaki enzim sentezinin artması sonucu olduğu rapor edilmiştir [90].

T.C. YÜKSEK VEZNE BAKANLIĞI
DOKÜMANİSYON BAKANLIĞI



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3. 1. Balık Örneklerinin Sağlanması

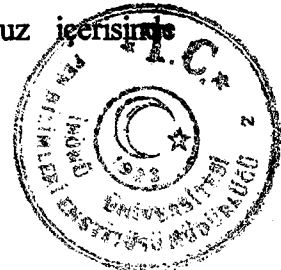
Bu araştırma için çalışılan balık örnekleri TÜBİTAK-TARP projesi kapsamında gerçekleştirilen bir araştırma için toplanmıştır (Ekmekçi vd. 2000). Balıklar farklı istasyonlardan (Sakarya, Uşakbükü, Çayırhan, Saryar, Aladağ) ve farklı dönemlerde yakalanmıştır. Çalışma alanı olarak seçilen Saryar Barajı ve örneklerin toplandığı istasyonlar Şekil 1.1'de gösterilmektedir.

Bu araştırma için farklı ekolojik özellikler ve farklı beslenme alışkanlıklarına sahip olan balıklar üzerinde çalışmalar yürütülmüştür. Araştırmada üç balık türü; *Cyprinus carpio* (sazan), *Silurus glanis* (yayın) ve *Capoeta tinca* (çay balığı) ile çalışılmıştır. Böylece farklı istasyonlardan, farklı zaman periyotlarında avlanan balıklar kullanılarak çevresel kirlilik etkilerinin karşılaştırmalı olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Balık örnekleri belirtilen istasyonlardan Haziran 1998, Kasım 1998, Mart 1999, Nisan 1999 ve Kasım 1999 tarihlerinde yakalanmıştır.

Balık örnekleme istasyonlarından avlanan balıklarının tür tayinleri arazide yapıldıktan sonra, karaciğer ve beyin dokuları çıkarıldı. Dokular, her istasyon için tür adı, örnekleme lokasyonu, yakalanış tarihi ve örnek numarası belirtilen bir etiket ile sıvı nitrojen içinde enzimatik analizlerin yapılması amacıyla laboratuvarımıza transfer edildi. Laboratuvarımızda örnekler sıvı nitrojenden alınarak, enzimatik analizler için dokuların homojenize edileceği güne değin Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim dalı laboratuvarında bulunan -85 °C derin dondurucuda saklandı.

3. 2. Karaciğer Doku Homojenizatlarının Hazırlanması:

Homojenizasyon amacı ile dondurucudan alınan dokuların çözünmesi sağlandı. Karaciğer örneklerinin homojenizasyonu amacıyla tartılan dokular, polithron homojenizatörde (Ika Instruments, Germany) 18.000 rpm devirde 2 kez 5'er saniye süre ile parçalandı. Parçalama, doku ağırlığının 7 katı hacimde (w/v) soğutulmuş homojenizasyon tamponu (KH₂PO₄, 0.1 M; KCl 0.15 M; EDTA, 1 mM; DTT, 0.05 mM) ortamında yapıldı. Çalışmaların tüm aşamalarında örnekler buz içerisinde korundu.



Homojenizasyon sonrası homojenatlar supernatant eldesi amacı ile eppendorf tüplerine aktarıldı. Homojenat 4 °C'da 16.000 xg devirde 20 dakika süre ile santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant temiz eppendorf tüplerine aktarıldı ve enzimatik ölçüm çalışmalarına kadar -40 °C'da derin dondurucuda saklandı.

3. 3. Beyin Doku Homojenatlarının Hazırlanması:

Beyin doku örnekleri arazi koşullarında alındıktan sonra, sıvı nitrojen içinde laboratuvara taşındı. Laboratuvarımızda dewar kabından alınan örnekler homojenizasyon gününe değin -85 °C derin dondurucuda saklandı. Doku homojenizasyonuna başlanırken; örnekler, oda sıcaklığında çözülmelerini takiben alüminyum folyolardan alınarak tartıldı. Her bir doku örneğine Özmen ve arkadaşlarının (1998) önerdiği şekilde ağırlığının 35 mg'ı için 1,0 ml olacak şekilde trizma tamponu (pH 7.4, 0.1M), (Sigma Corp., USA) eklenerek buz kabı içinde cam-teflon homojenizatör kullanılarak, 12-15 vuruş ile 6,000 rpm'de parçalandı.

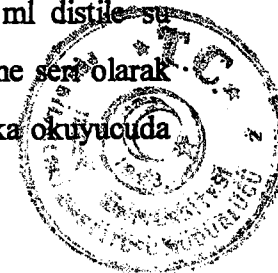
Parçalanan dokular eppendorf tüplere aktararak, 4°C'da 20 dk süreyle 16,000 xg'de santrifüj (Ole Dich Instrumentmakers, Microcentrifuge 157. mp, Denmark) edildi. Elde edilen süpernatant temiz eppendorf tüplerine aktararak, enzimatik çalışmalara kadar -40°C'da derin dondurucuda saklandı.

3. 4. Enzimatik Çalışmalar:

Yapılan bütün enzim aktivitesi tayin işlemlerinde mikropilaka okuyucu sistemi (Molecular Devices Corp., Versamax®) kullanıldı.

3. 4. 1. Karaciğer laktat dehidrogenaz aktivitesi :

Karaciğer supernatant LDH enzim aktivitesi ölçümünde, 340 nm dalga boyunda LDH diagnostik kiti (Sigma Corp., USA) substrat olarak kullanıldı. Doku homojenatlarından elde edilen supernatant toplam reaksiyon karışımında 5 µl olacak şekilde mikropilaka çukurlarına pipetlendi. LDH reagent; hazır kite 10 ml distile su eklenerek hazırlandı. Bu çözeltiden 100 µl supernatant, örneklerinin üzerine serpiştirilerek çok kanallı mikropipet ile pipetlendi. Karışım 15 saniye süreyle mikropilaka okuyucuda



çalkalandı ve 25 °C'da 1 dk süre ile absorbans değişimi kaydedildi. Her örnek için iki tekrarlı okuma yapıldı. Aynı örnek için elde edilen değerler arasında % 10'dan daha büyük korelasyon farkı bulunduğu okuma işlemi yineleni. mOD cinsinden alınan absorbans değerleri OD'ye çevrilerek hesaplamalar yapıldı.

3. 4. 2. Karaciğer asit fosfataz aktivitesi :

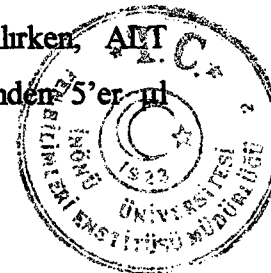
Karaciğer doku örneklerinde ACP aktivitesi ölçümünde, 405 nm dalga boyunda ACP diagnostik kiti (Sigma, 435-A) substrat olarak kullanıldı. ACP reagent, hazır kite 10 ml distile su eklenerek hazırlandı. Karaciğer süpernatant homojenatından 10'ar µl mikrolaka çukurlarına pipetlendi ve üzerine 100 µl ACP reagent eklendi. Karşım 5 dk süreyle 25 °C'da mikrolaka okuyucu sistem içinde inkübe edildikten sonra, 5 dk süre ile absorbans değişimi okundu. Her örnek için iki tekrarlı okuma yapıldı; aynı örnek için elde edilen değerler arasında % 10'dan daha fazla korelasyon farkı bulunduğu okuma işlemi tekrarlandı. mOD cinsinden alınan absorbans değerleri OD'ye çevrilerek hesaplamalar yapıldı.

3. 4. 3. Karaciğer alkale fosfataz aktivitesi:

Karaciğer supernatant örneklerinde ALP aktivitesi ölçümü amacıyla, ALP diagnostik kiti (Sigma, 435-A, infinity) kullanıldı. Çözelti 10 ml distile su eklenerek hazırlandı. Ve infinity olarak enzimatik aktivite ölçümünde kullanıldı. Karaciğer supernatant örneklerinden 10'ar µl mikrolaka çukurlarına pipetlendi ve üzerine 100 µl ALP reagent pipetlendi. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika süreyle inkübasyon sonrasında 5 dakika 405 nm'de absorbans değişimi okundu. Her örnek için iki tekrarlı okuma yapıldı; aynı örnek için elde edilen değerler arasında % 10'dan daha fazla korelasyon farkı bulunduğu okuma işlemi tekrarlandı. mOD cinsinden alınan absorbans değerleri OD'ye çevrilerek hesaplamalar yapıldı.

3. 4. 4. Karaciğer alanin aminotransferaz aktivitesi:

Karaciğer supernatant örneklerinde ALT aktivitesi ölçümü yapılırken, ALT diagnostik kitleri (Sigma, DG 159-K) kullanıldı. Supernatant örneklerinden 5'er µl



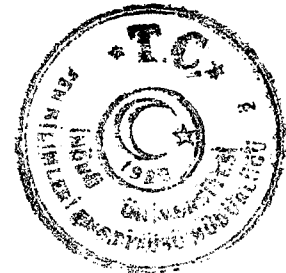
mikropaka çukurlarına pipetlendi; bunun üzerine 200 µl ALP reagent pipetlendi. Pipetlemenin ardından 25 °C'da 2 dk süre ile 340 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu. Her örnek için iki tekrarlı okuma yapıldı; aynı örnek için elde edilen değerler arasında % 10'dan daha fazla korelasyon farkı bulunduğu okuma işlemi tekrarlandı. mOD cinsinden alınan absorbans değerleri OD'ye çevrilerek hesaplamalar yapıldı.

3. 4. 5. Karaciğer aspartat aminotransferaz aktivitesi:

Karaciğer supernatant örneklerinde AST aktivitesi ölçülürken, GOT-A ve GOT-B diagnostik kitleri (sigma) kullanıldı. Öncelikli olarak 5'er µl örnek mikropaka çukurlarına pipetlendi. Bu örneklerin üzerine 200 µl A reagent eklendi karışım 10 sn süreyle çalkalandı. Karışıma son olarak 10 µl B reagent eklenerek reaksiyon başlatıldı. Absorbans değişimi, 25 °C'da, 340nm'de 2 dk süre ile okundu. Her örnek için iki tekrarlı okuma yapıldı; aynı örnek için elde edilen değerler arasında %10'dan daha fazla korelasyon farkı bulunduğu okuma işlemi tekrarlandı. mOD cinsinden alınan absorbans değerleri OD'ye çevrilerek hesaplamalar yapıldı.

3. 4. 6. Karaciğer total protein tayini:

Karaciğer total protein miktarı Lowry ve arkadaşlarının (1951) geliştirdiği yöntemle göre, mikropaka okuyucu sistemi kullanılarak tespit edildi. 5 µl 1/10 oranında sulandırılmış süpernatant örnekleri mikropakalara pipetlendi ve üzerine 200 µl reaksiyon A karışımı (0,1 M NaOH çözeltisinde %2 Na₂CO₃: 100ml; %2 NaK Tartarat: 1 ml; %1 CuSO₄: 1 ml) eklendi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 10 dk karanlıkta inkübe edildi. Ardından, 20 µl folin reagent (Merck Corp, Germany) (1/1 v/v reagent: distile su) ilave edilerek 45 dk süreyle yeniden karanlıkta inkübe edildi. Renk değişimine bağlı olarak 695 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü. Elde edilen değerler BSA standart eğrisi değerleri ile karşılaştırılarak, örnekteki total protein değerleri saptandı. Sulandırma faktörüne bağlı olarak, supernatanttaki total protein değeri hesaplandı.



3. 4. 7. Enzim spesifik aktivitesi:

Karaciğer enzimleri için supernatant örneklerinde ölçülen aktivite değerleri hesaplandıktan sonra, her örnek için total protein değerine bağlı olarak spesifik aktivite değerleri hesaplandı.

3. 4. 8. Beyin karboksil esteraz aktivitesi:

Karaciğer supernatant örneklerinde CaE aktivitesi ölçülürken, İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Organik Kimya Anabilim Dalı Laboratuvarında Doç. Dr. Ahmet Mete tarafından hazırlanan ve BUTAT olarak adlandırılan bir madde substrat olarak kullanıldı. Bu maddenin CaE ve AChE için özgül bir substrat olduğu, in vitro koşullarda Porcine karaciğeri karboksil esteraz ve elektrikli yılan balığı (eel, Electrtophorus) asetilkolin esteraz (Type V1-S) (Sigma Corp, USA) enzimleri kullanılarak test edilmiştir (Özmen vd., 2001).

10 µl, 1/2 oranında sulandırılmış süpernatant örnekleri mikropilaya çukurlarına pipetlendi ve üzerine içerginde % 0,015 DTNB, % 0,01 BSA ve 1 ml 0,02 M BUTAT (44 µl BUTAT/ 10 ml % 96 EtOH) bulunan 100 ml 0,05 M pH 7.4 fosfat tamponundan 200 µl eklenerek reaksiyon başlatıldı. Enzim aktivitesi 25 °C'da, 405 nm dalga boyunda 1 dk süre ile absorbans okundu. Okuma süresince karışımın her 10 sn'de bir çalkalanması sağlandı. Her örnek için iki tekrarlı okuma yapıldı; aynı örnek için elde edilen değerler arasında %10'dan daha fazla korelasyon farkı bulunduğunda okuma işlemi tekrarlandı. Beyin dokusu AChE aktivitesi U/L enzim aktivitesi cinsinden hesaplandı.

3. 4. 9. Beyin asetilkolin aktivitesi:

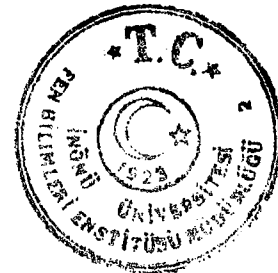
Beyin dokusu AChE aktivitesi spektrofotometrik yöntemle, mikropilaya okuyucu sisteminde ölçüldü. Bu amaçla Ellman ve arkadaşları (1961) tarafından kullanılan yöntemin, Özmen ve arkadaşları (1998) tarafından modifiye edilmiş ve mikropilaya okuyucu sistemine uyarlanmış şekli kullanıldı. Enzim aktivitesi ölçümünde 412 nm dalga boyunda Asetil tiokolin iodid (ACTI)'in substrat olarak kullanılması ve renk değişimine bağlı olarak ürün oluşumunun saptanması amaçlandı. Beyin dokusu homojenatlarından elde edilen supernatant toplam reaksiyon karışımında 5 µl olacak



şekilde mikrolaka çukurlarına pipetlendi. 0.0417 M ACTI (Sigma Corp., USA) stok çözelti hazırlandı. Son konsantrasyonda $9,697 \times 10^{-4}$ m olacak şekilde pipetlendi. DTNB (Aldrich, USA) 0,00404 M olacak şekilde Trizma tampon kullanılarak (pH 8,0; 0,1 M) ve ortama NaHCO_3 eklenerek hazırlandı. Reaksiyon karışımına 200 µl trizma tamponu (0,1 M; pH 8,0) ve son olarak son konsantrasyonda $9,39 \times 10^{-5}$ M DTNB olacak şekilde pipetlendi. Karışım mikrolaka okuyucuya yerleştirildi ve 10 saniye süreyle çalkalandı. 25 °C'da 1 dk. süre ile absorbans değişimi kaydedildi. Her örnek için dört tekrarlı okuma yapıldı ve aynı örnek için elde edilen değerler arasında %10'dan daha fazla korelasyon farkı bulunduğu okuma işlemi tekrarlandı. mOD değeri cinsinden alınan absorbans değerleri OD değeri olarak hesaplandı. Beyin dokusu AChE aktivitesi U/L enzim aktivitesi cinsinden hesaplandı.

3.5. İstatistiksel Analiz:

Elde edilen bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla istatistiksel paket program (SPSS Inc., USA) kullanıldı. Çalışma bulguları varyans analizi ile (ANOVA) örneklerin toplandığı istasyonlara ve örnek toplama dönemlerine bağlı olarak Kruskal Wallis' testi ile test edildi. Gruplar arası farklılığın önemli olup olmadığı $P < 0.05$ düzeyinde önemlilik derecesine göre saptandı. Gruplar arası farklılığın önemli olduğu saptandığında, örnekler ikili karşılaştırma ile Mann Whitney-U testine göre karşılaştırıldı. Buna bağlı olarak grup içi farklılığın $P < 0.05$ düzeyinde önemli bulunduğu gruplar saptandı.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Sakarya, Uşakbükü, Çayırhan ve Sarıyar istasyonlarından yakalanan balık örnekleri için karaciğer veya beyin dokularında seçilmiş enzim aktiviteleri ilk olarak örnekleme tarihlerine bağlı olmaksızın değerlendirildi. Çevresel kirliliğe bağlı olarak organizmada olası etkiyi belirlemeyi amaçlayan enzim aktivite değerlerinin istatistiksel analizi yapıldı. Buna göre, yayın balıklarında beyin ve karaciğer enzim aktivitelerinin lokasyonlar arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık göstermediği bulunmuştur ($p>0,05$). Sazan balıklarında Uşakbükü ve Çayırhan lokasyonları karşılaştırıldığında ALP ve AST, Sakarya ve Çayırhan lokasyonları karşılaştırıldığında ise CaE enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılığın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Benzer şekilde çay balıklarında Uşakbükü ve Çayırhan lokasyonları karşılaştırıldığında LDH ve ALT, Uşakbükü ve Sarıyar lokasyonları karşılaştırıldığında ise ALP ve ALT enzim aktivitelerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık gösterdiği saptanmıştır ($p<0,05$).

Şekil 4.1., Şekil 4.3. ve Şekil 4.5. sırasıyla farklı örnekleme istasyonlarından yakalanan sazan, yayın ve çay balıklarında örnekleme dönemlerine bağlı olmaksızın karaciğer LDH, AST, ALT, ACP ve ALP aktivitelerinin dağılımını göstermektedir. Benzer şekilde, Şekil 4.2., Şekil 4.4. ve Şekil 4.6. ise farklı örnekleme istasyonlarından yakalanan sazan, yayın ve çay balıklarında örnekleme dönemlerine bağlı olmaksızın beyin dokusu AChE ve CaE aktivitelerinin dağılımını göstermektedir. Bu verilere göre, biyobelirteç olarak seçilen enzim aktivitelerinin örneklemenin yapıldığı istasyonlarda kendi içinde geniş bir dağılım sergilediği görülmektedir.

4.1. Sazan Balıkları (*Cyprinus carpio*) İçin Enzim Aktiviteleri ile İlgili Bulgular

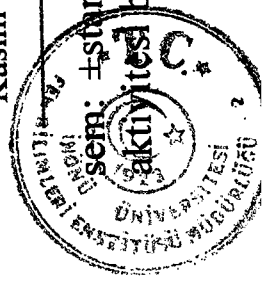
Çizelge 4.1.'de sazan balıkları için biyobelirteç olarak seçilen karaciğer enzim aktivite değerleri özet olarak sunulmaktadır. Sonuçlara göre en yüksek LDH değeri Nisan 1999'da Uşakbükü istasyonunda, en düşük aktivite Haziran 1998'de Sarıyar'da saptanmıştır. AST için en yüksek aktivite Nisan 1999'da Sarıyar'da bulunurken, en düşük enzim aktivitesinin Kasım 1999'da Uşakbükü'nde bulunduğu; ALT için en yüksek değer Kasım 1998'de Sakarya'da en düşük değer Haziran 1998'de Sarıyar ve Nisan 1999'da Çayırhan lokasyonlarından yakalanan balıklarda saptandığı görülmektedir.



Çizelge 4.1. Çeşitli İstasyonlardan toplanan *C. carpio* (sazan) örnekleri karaciğer dokusunda LDH, AST, ALT, ACP ve ALP enzimlerinin spesifik aktivite değerleri (nM/dakika/mg total protein).

Örmeleme Tarihi	İstasyon	n	LDH	sem	AST	sem	ALT	sem	ACP	sem	ALP	sem
Haziran 1998	Sarıyar	3	17,833	±3,435	135,333	±14,068	3,500	±0,153	1,457	±0,298	0,127	±0,014
Kasım 1998	Sarıyar	4	22,575	±1,346	96,625	±16,558	6,125	±2,541	1,208	±0,109	0,145	±0,048
Kasım 1998	Sakarya	1	20,700	-	59,100	-	9,700	-	1,670	-	0,041	-
Kasım 1998	Çayırhan	4	18,675	±1,077	108,350	±3,650	3,300	1,800	1,843	±0,386	0,079	±0,037
Kasım 1998	Uşakbükü	1	nd	-	193,600	-	7,900	-	0,780	-	0,021	-
Mart 1999	Sarıyar	3	59,067	±10,730	162,433	±52,706	5,100	±1,856	1,613	±0,195	0,504	±0,134
Mart 1999	Çayırhan	6	52,567	±3,630	204,733	±29,412	5,900	±1,940	2,130	±0,379	0,339	±0,165
Nisan 1999	Sarıyar	6	67,050	±5,867	209,167	±41,015	7,500	±1,603	1,307	±0,202	0,195	±0,052
Nisan 1999	Çayırhan	6	58,450	±4,064	168,283	±0,927	3,700	±0,927	2,033	±0,288	0,247	±0,173
Nisan 1999	Uşakbükü	5	68,940	±2,820	6,160	±1,860	6,160	±1,860	1,544	±0,119	0,209	±0,106
Kasım 1999	Çayırhan	7	19,629	±0,856	156,814	±1,057	5,086	±1,057	1,351	±0,098	0,358	±0,110
Kasım 1999	Uşakbükü	8	18,188	±1,925	4,375	±0,821	4,375	±0,821	1,228	±0,101	0,296	±0,054

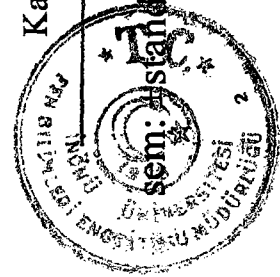
sem: ±standart ortalama hata değerini ifade etmektedir. n: Çalışılan örnek sayısı belirtilmektedir. nd: Enzim aktivitesi belirlenemedi.

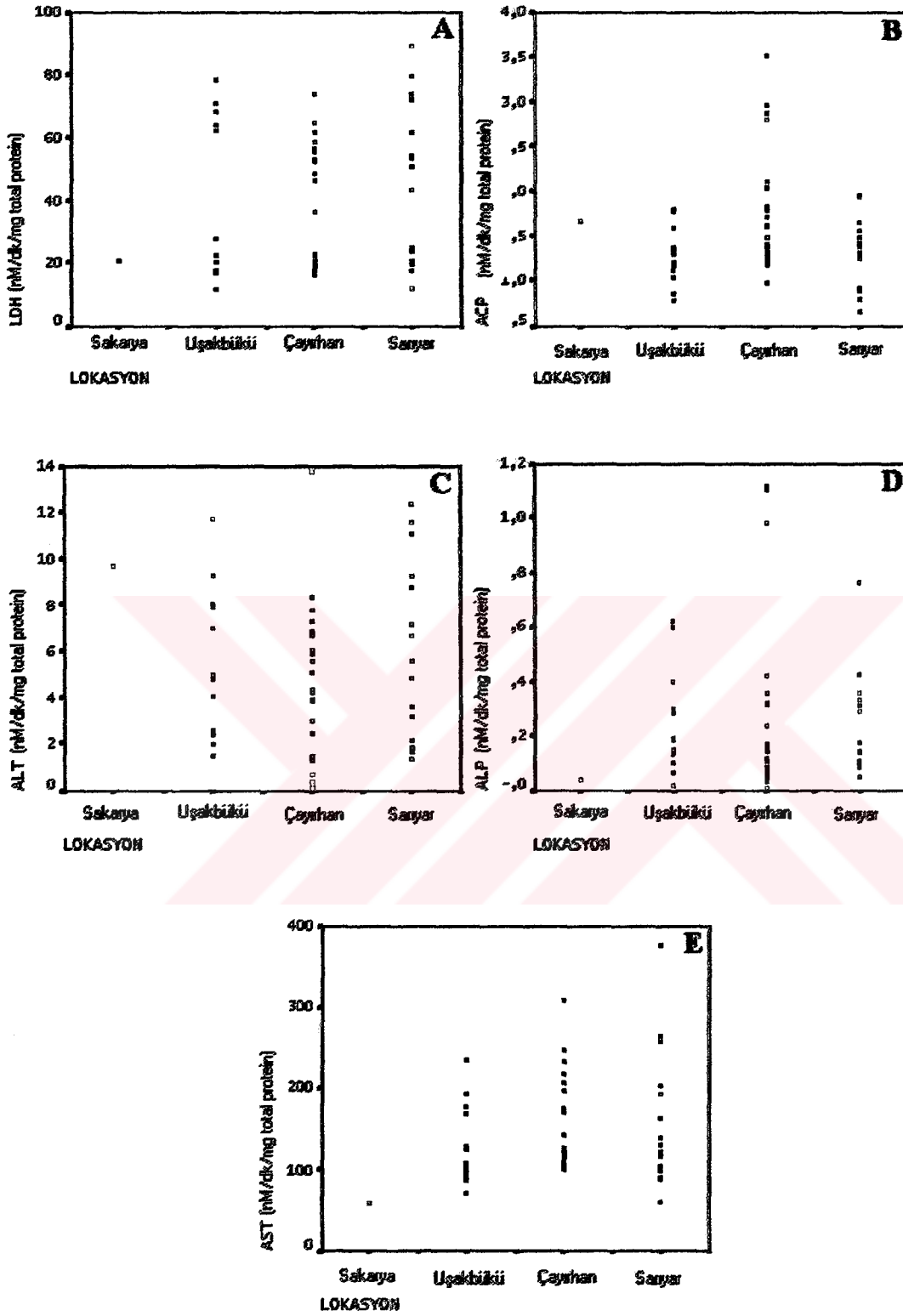


Çizelge 4.2. Çeşitli İstasyonlardan toplanan *C. carpio* (sazan) örnekleri beyin dokusunda AChE ve CaE aktivite değerleri (U/L).

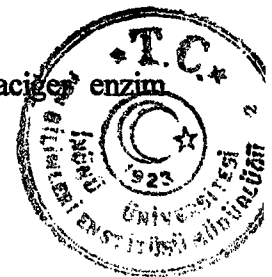
Örnekleme Tarihi	İstasyon	n	AChE	sem	CaE	sem
Haziran 1998	Sarıyar	4	190,405	±21,404	1,375	±0,614
Haziran 1998	Uşakbükü	3	169,050	±12,729	1,500	±0,723
Kasım 1998	Sarıyar	4	130,045	±15,568	2,250	±0,758
Kasım 1998	Sakarya	3	156,190	±17,443	0,800	±0,058
Kasım 1998	Çayırhan	5	99,004	±16,730	5,880	±4,660
Mart 1999	Sarıyar	4	158,103	±11,472	3,175	±1,184
Mart 1999	Çayırhan	4	142,125	±21,474	3,200	±1,079
Nisan 1999	Sarıyar	3	195,083	±49,442	5,600	±1,563
Nisan 1999	Çayırhan	4	199,880	±13,464	3,125	±0,165
Nisan 1999	Uşakbükü	4	175,365	±13,599	3,600	±1,347
Kasım 1999	Sarıyar	3	78,953	±33,599	3,000	±0,889
Kasım 1999	Çayırhan	5	113,942	±7,259	2,000	±0,462
Kasım 1999	Uşakbükü	3	132,773	±18,595	1,033	±0,233

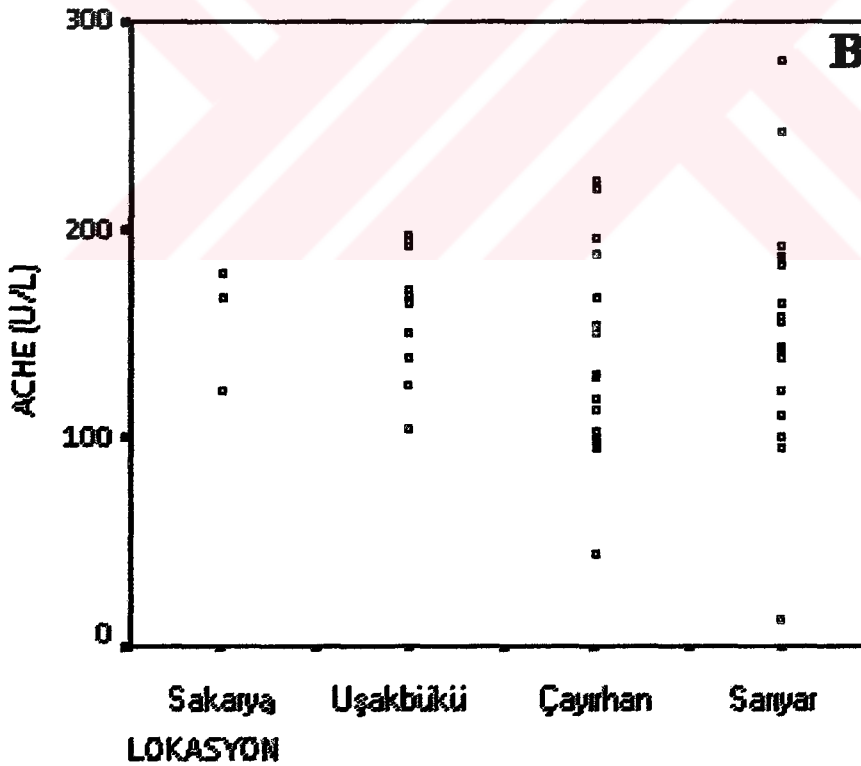
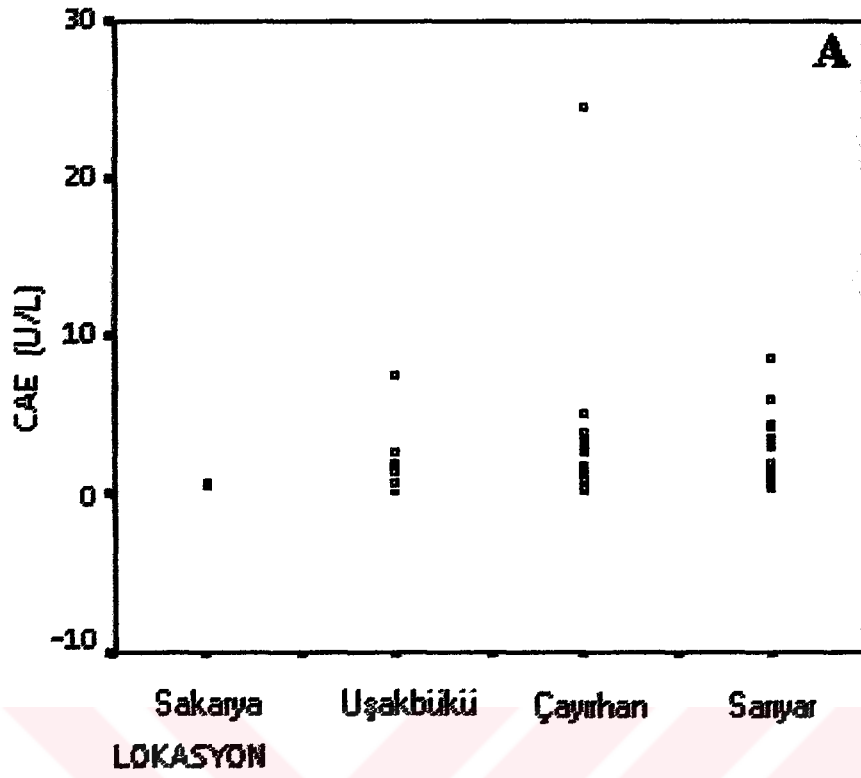
sem: İstasyon ortalama hata değerini ifade etmektedir. n: Çalışılan örnek sayısını belirtmektedir.





Şekil 4.1. Farklı lokasyonlardan yakalanan sazan balıklarında karaciğer enzim aktivitelerinin dağılımı (A: LDH, B: ACP, C: ALT, D: ALP, E: AST).





Şekil 4.2. Farklı lokasyonlardan yakalanan sazan balıklarında beyin AChE ve CAE enzim aktivitelerinin dağılımı



ACP aktivitesi en yüksek Mart 1999'da Çayırhan lokasyonunda , en düşük aktivite ise Kasım 1998'de Uşakbükü'nde belirlenmiştir. ALP aktivitesi ise Mart 1999'da Sarıyar'da en yüksek iken, Kasım 1998'de Uşakbükü istasyonu örneklerinde en düşük düzeydedir.

Varyans analizi sonuçlarına göre biyobelirteç olarak seçilen karaciğer ACP, AST ve ALT enzim aktivitelerinde grup içi farklılık istatistiksel olarak önemli değilken, LDH ve ALP enzim aktivitelerinde grup içi farklılık istatistiksel olarak önemlidir (LDH için $p<0,01$, ALP için $p<0,05$) . Aynı tarih dikkate alınarak farklı lokasyonlar arasında yapılan varyans analizinde ise istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Bu balıklarda en yüksek LDH enzim aktiviteleri Nisan-1999'da Sarıyar ve Uşakbükü lokasyonlarında belirlenmiştir. Buna göre enzim aktivitesi değerleri sırayla 67.05 ve 68.94 nM/dk/mg total protein olarak saptanmıştır En düşük LDH enzim aktivitesi ise Kasım ayına ait olup, Kasım aylarına ait aktivitelerin görece daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu aylarda belirlenen enzim aktiviteleri ortalama 19.67 nM/dk/mg total protein düzeyindedir.

ALP için en yüksek enzim aktivite değeri Mart-1999 sezonunda Sarıyar'da, 0.504 nM/dk/mg total protein olarak; en düşük enzim aktivite değeri ise Kasım-1998'de Sakarya ve Uşakbükü lokasyonunda yakalanan balıklar için sırasıyla 0.041 ve 0.021 nM/dk/mg total protein olarak belirlenmiştir.

LDH enzimi için Nisan-1999'de Uşakbükü'nden yakalanan balık örnekleri diğer gruplar ile karşılaştırıldığında; Kasım-1999 Uşakbükü, Kasım-1998 Çayırhan, Mart-1999 Çayırhan, Kasım-1999 Çayırhan, Kasım-1998 Sarıyar grupları ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Kasım-1999 dönemine ait Uşakbükü örnekleri ile diğer lokasyonlardan yakalanan balık örnekleri karşılaştırıldığında Mart-1999 Çayırhan, Nisan-1999 Çayırhan, Mart-1999 Sarıyar ve Nisan-1999 Sarıyar ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu gözlenmiştir.

Aynı enzim için Kasım-1999 Çayırhan ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; Mart-1999 Çayırhan, Nisan-1999 Çayırhan ve Mart-1998 Sarıyar grupları ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Mart-1999 Çayırhan ile diğer gruplar karşılaştırıldığında Kasım-1999 Çayırhan, Kasım-1998 Sarıyar grupları ile aralarında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir. Nisan-1999 Çayırhan ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; Kasım-1998 Sarıyar ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu saptanmıştır.



Çayırhan ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; Mart-1999 Sarıyar, Nisan-1998 Sarıyar ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Aynı enzim için Kasım-1998 Sarıyar ile diğer gruplar karşılaştırıldığında; Mart-1999 Sarıyar, Nisan-1998 Sarıyar ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu gözlenmiştir.

Benzer şekilde ALP enzimi için gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; Kasım-1999 Çayırhan ile diğer gruplar karşılaştırıldığında Kasım-1998 Çayırhan, Kasım-1998 Sarıyar ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir. Aynı enzim için Kasım-1998 Çayırhan ile diğer gruplar karşılaştırıldığında Kasım-1999 Çayırhan, Mart-1999 Sarıyar ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir. Kasım-1998 Sarıyar ile diğer gruplar karşılaştırıldığında ise Mart-1999 Sarıyar ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu saptanmıştır.

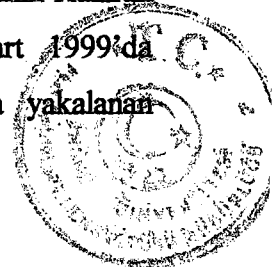
Çizelge 4.2.'de sazan balıkları için biyobelirteç olarak seçilen beyin dokusu enzim aktiviteleri özet olarak sunulmuştur.

Varyans analizi sonuçlarına göre biyobelirteç olarak kullanılan beyin dokusu enzimlerinden sadece AChE için grup içi farklılık istatistiksel olarak önemlidir. Aynı tarih dikkate alınarak farklı lokasyonlar arasında yapılan grup içi varyans analizinde istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunamamıştır. Ancak aynı tarih dikkate alınarak farklı lokasyonlar arasında gruplar arası yapılan varyans analizinde Kasım-1998 tarihli Sakarya ve Sarıyar lokasyonları arasında; Nisan-1999 tarihli Çayırhan ve Sarıyar lokasyonları arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

AChE enzimi için yapılan grup içi karşıştırmalarda Nisan-1999 Uşakbükü ile Kasım-1998 Çayırhan, Kasım-1999 Çayırhan ve Kasım-1999 Sarıyar ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

4.2. Yayın Balıkları (*Silurus glanis*) İçin Enzim Aktiviteleri ile İlgili Bulgular

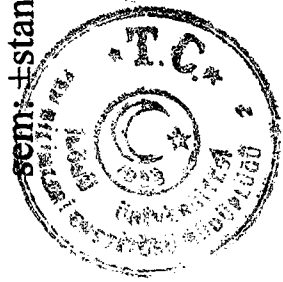
Yayın balıklarında karaciğer dokusu enzim aktivite değerleri Çizelge 4.3.'de sunulmaktadır. Sonuçlara göre en yüksek LDH değeri Nisan 1999'da Uşakbükü istasyonunda, en düşük Kasım 1999'da Çayırhan'da saptanmıştır. AST için en yüksek aktivite Nisan 1999'da Uşakbükün'de bulunurken, en düşük enzim aktivitesinin Haziran 1998'de Uşakbükü'nde bulunduğu; ALT için en yüksek değer Mart 1999'da Sarıyar'da en düşük değer Kasım 1999'da Uşakbükü lokasyonunda yakalanan balıklarda saptandığı görülmektedir.



Çizelge 4.3. Çeşitli İstasyonlardan toplanan *S. glanis* (yayın) örnekleri karaciğer dokusunda LDH, AST, ALT, ACP ve ALP enzimlerinin spesifik aktivite değerleri (nM/dakika/mg total protein).

Örnekleme Tarihi	İstasyon	n	LDH	sem	AST	sem	ALT	sem	ACP	sem	ALP	sem
Haziran 1998	Uşakbükü	8	27,113	±4,759	210,388	±42,600	7,538	±2,178	0,811	±0,044	0,116	±0,056
Kasım 1998	Sarıyar	3	27,067	±0,536	280,200	±39,671	7,133	±1,658	0,590	±0,072	0,039	±0,019
Kasım 1998	Çayırhan	2	31,350	±4,150	375,850	±104,450	2,950	±0,250	0,605	±0,105	0,042	±0,024
Mart 1999	Sarıyar	1	70,500	-	258,100	-	8,800	-	2,620	-	0,356	-
Nisan 1999	Uşakbükü	6	74,417	±8,430	395,917	±75,784	7,850	±0,685	0,777	±0,097	0,401	±0,114
Kasım 1999	Çayırhan	1	25,800	-	225,700	-	6,500	-	0,430	-	0,449	-
Kasım 1999	Uşakbükü	1	26,400	-	278,900	-	2,100	-	0,700	-	0,076	-

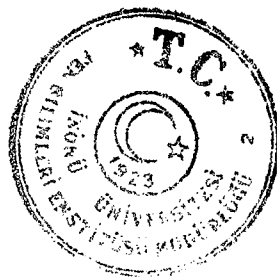
sem: ±standart ortalama hata değerini ifade etmektedir. n: Çalışılan örnek sayısını belirtmektedir.

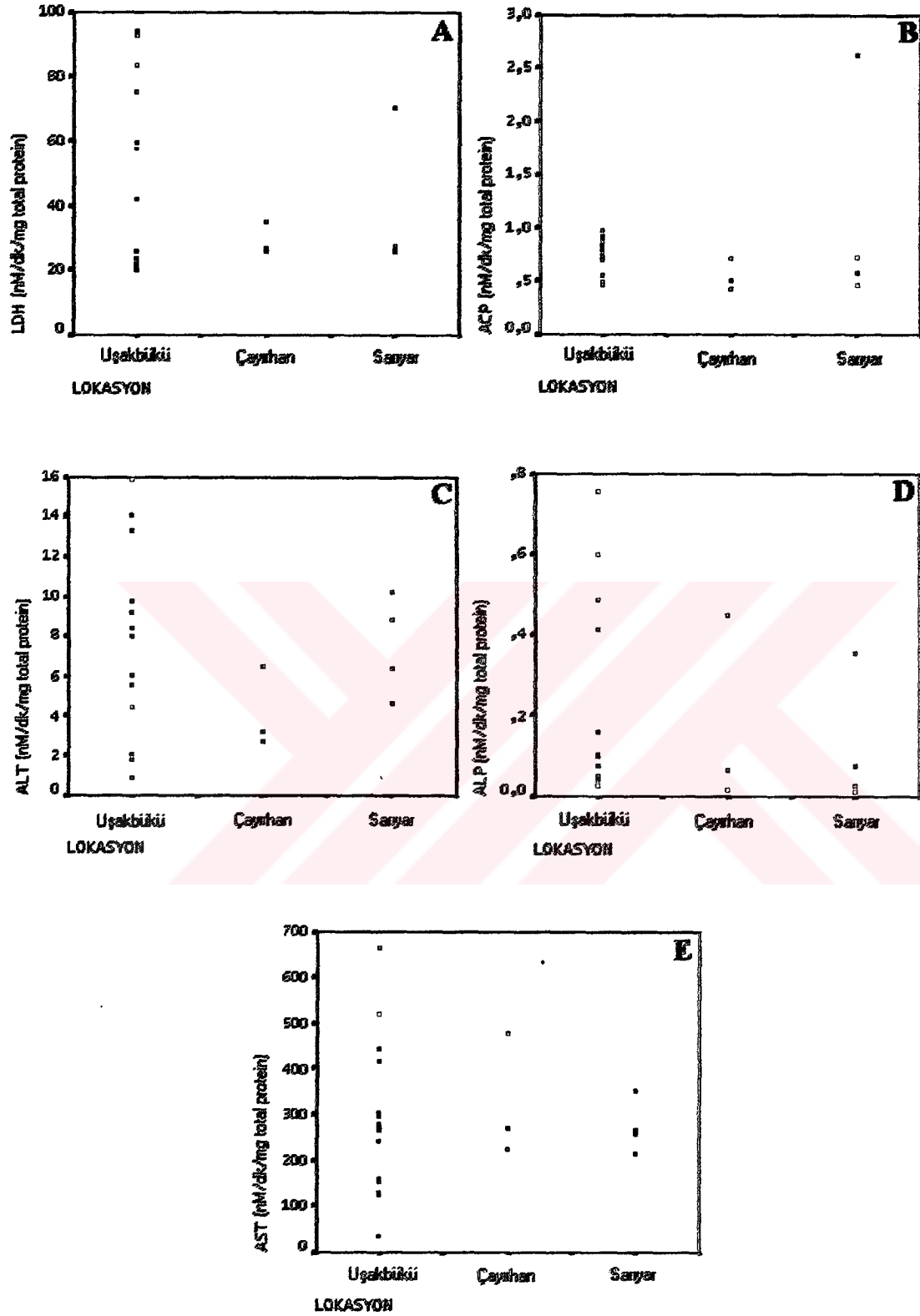


Çizelge 4.4. Çeşitli İstasyonlardan toplanan *S. glanis* (yayın) örnekleri beyin dokusunda AChE ve CaE enzimlerinin aktivite değerleri (U/L).

Örnekleme Tarihi	İstasyon	n	AChE	sem	CaE	sem
Haziran 1998	Uşakbükü	6	115,897	±8,945	0,833	±0,167
Kasım 1998	Sarıyar	7	113,360	±11,262	2,029	±0,460
Kasım 1998	Çayırhan	3	130,607	±15,831	1,567	±0,376
Mart 1999	Sarıyar	1	101,840	-	2,100	-
Nisan 1999	Uşakbükü	4	81,270	±5,159	5,000	±0,601
Kasım 1999	Sarıyar	2	102,928	±24,341	0,300	±0,100
Kasım 1999	Uşakbükü	1	119,620	-	4,600	-

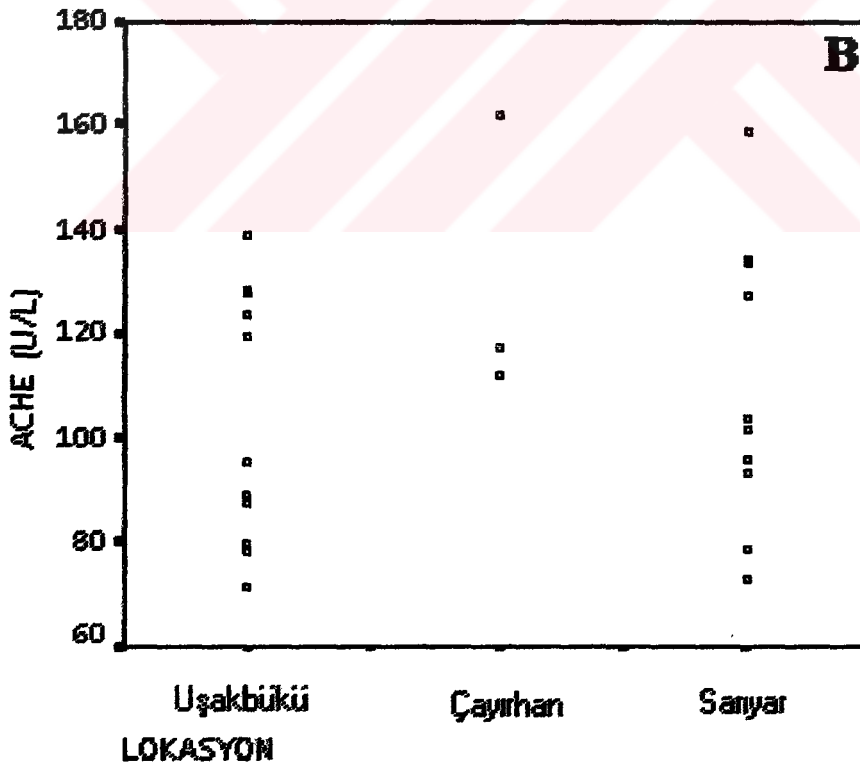
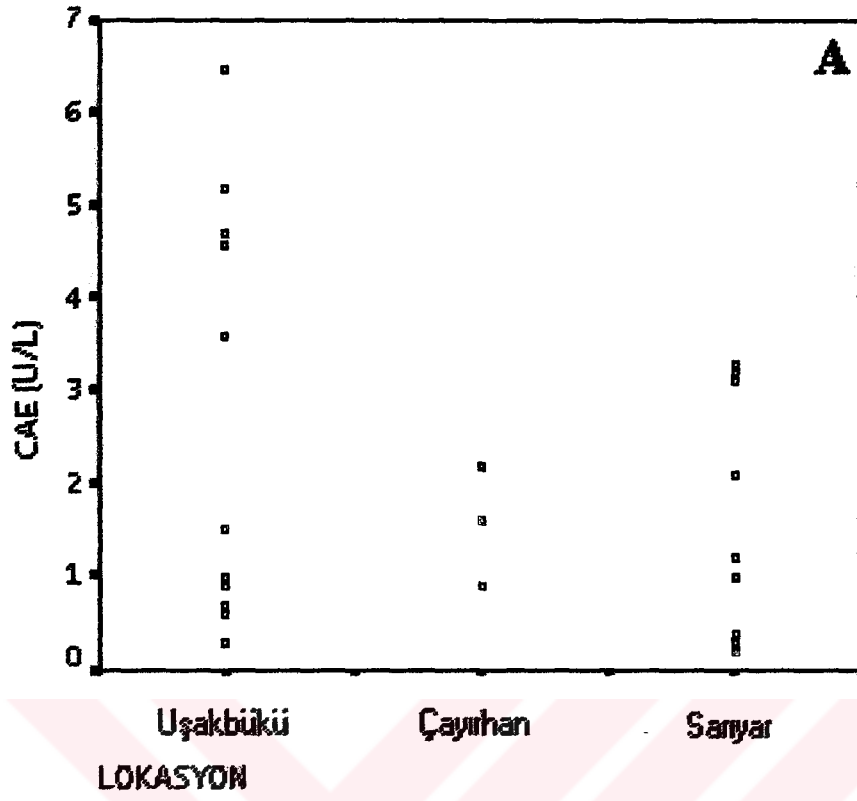
sem: ±standart ortalama hata değerini ifade etmektedir. n: Çalışılan örnek sayısını belirtmektedir.





Şekil 4.3. Farklı lokasyonlardan yakalanan yaym balıklarında karaciğer enzim aktivitelerinin dağılımı (A: LDH, B: ACP, C: ALT, D: ALP, E: AST).





Şekil 4.4. Farklı lokasyonlardan yakalanan yayın balıklarında beyin AChE ve CAE enzim aktivitelerinin dağılımı



ACP aktivitesi en yüksek Mart 1999'da Sarıyar lokasyonunda , en düşük aktivite ise Kasım 1999'da Çayırhan'da belirlenmiştir. ALP aktivitesi ise Kasım 1999'da Çayırhan'da en yüksek iken, Kasım 1998'de Sarıyar istasyonu örneklerinde en düşük düzeydedir.

Varyans analizi sonuçlarına göre biyobelirteç olarak seçilen karaciğer ACP, ALP, AST, ALT enzim aktivitelerinde grup içi farklılık istatistiksel olarak önemli değilken, LDH enzim aktivitelerinde grup içi farklılık istatistiksel olarak önemlidir (LDH için $p<0,05$). Bu balıklarda en yüksek LDH enzim aktiviteleri Mart ve Nisan 1999 dönemlerinde Sarıyar ve Uşakbükü lokasyonlarında belirlenmiştir. Buna göre enzim aktivitesi değerleri sırayla 70.5 ve 74.41 nM/dk/mg total protein olarak saptanmıştır. En düşük LDH enzim aktivitesi ise Kasım 1998-1999 ve Haziran 1998 dönemlerine ait olup, bu aylarda belirlenen enzim aktiviteleri ortalama 27.0 nM/dk/mg total protein düzeyindedir. Aynı tarihler dikkate alınarak farklı lokasyonlar arasında yapılan varyans analizinde gruplar arası farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı bulunmuştur.

LDH enzimi için Haziran-1998'de Uşakbükü'nden yakalanan örnekler ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, Nisan-1999 Uşakbükü ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Nisan-1999 Uşakbükü diğer gruplarla karşılaştırıldığında Kasım-1998 Çayırhan, Kasım-1998 Sarıyar ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

Çizelge 4.4.'de yayın balıkları için biyobelirteç olarak seçilen beyin dokusu enzim aktiviteleri özet olarak sunulmuştur.

Varyans analizi sonuçlarına göre biyobelirteç olarak kullanılan beyin dokusu enzimlerinden CaE aktivitesi için grup içi farklılık istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0,05$), AChE enzimi için farklılık istatistiksel açıdan önemli değildir. Aynı tarih dikkate alınarak farklı lokasyonlar arasında yapılan varyans analizinde gruplar arası farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

Yayın balıklarında AChE aktivitesi en düşük Nisan 1999'da Uşakbükü istasyonundan alınan balıklarda saptanırken, en yüksek aktivite Kasım 1998'de Çayırhan örneklerine aittir. CaE aktivitesi Kasım 1999'da Sarıyar istasyonunda en düşük, Nisan 1999'da Uşakbükü'nde ise en yüksek düzeydedir.

CaE enzimi için yapılan gruplar arası karşılaştırmalara göre; Kasım-1998'de Sakarya lokasyonundan yakalanan balıklar ile diğer gruplar karşılaştırıldığında Nisan-1999 Uşakbükü, Nisan-1999 Çayırhan, Kasım-1999 Çayırhan, Kasım-1998 Sarıyar, Nisan-1999 Sarıyar, Kasım-1999 Sarıyar ile arasında istatistiksel açıdan önemli bir

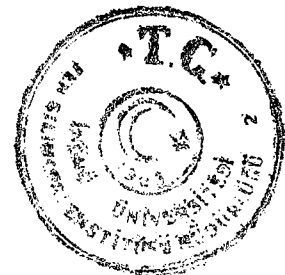


farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Benzer şekilde Haziran-1998 Uşakbükü ile diğer gruplar karşılaştırıldığında Nisan-1999 Sarıyar, Nisan-1999 Sarıyar ile aralarında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Nisan-1999 Uşakbükü ile diğer gruplar karşılaştırıldığında ise Kasım-1999 Uşakbükü ile aralarında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

4.3. Çay Balıkları (*Capoeta tinca*) İçin Enzim Aktiviteleri ile İlgili Bulgular

Çizelge 4.5.'de çay balıkları için biyobelirteç olarak seçilen karaciğer enzim aktiviteleri özet olarak sunulmuştur. Sonuçlara göre en yüksek LDH değeri Nisan 1999'da Uşakbükü istasyonunda, en düşük aktivite Kasım 1998'de Sarıyar'da saptanmıştır. AST için en yüksek aktivite Kasım 1999'da Uşakbükü'de bulunurken, en düşük enzim aktivitesinin Kasım 1999'da Sarıyar'de bulunduğu; ALT için en yüksek değer Kasım 1999'da Uşakbükü'de en düşük değer Kasım 1998'de Sarıyar lokasyonunda yakalanan balıklarda saptandığı görülmektedir. ACP aktivitesi en yüksek Kasım 1998'de Sarıyar lokasyonunda , en düşük aktivite ise Nisan 1999'da Çayırhan'da belirlenmiştir. ALP aktivitesi ise Nisan 1999'da Uşakbükü'nde en yüksek iken, Kasım 1998'de Sarıyar istasyonu örneklerinde en düşük düzeydedir

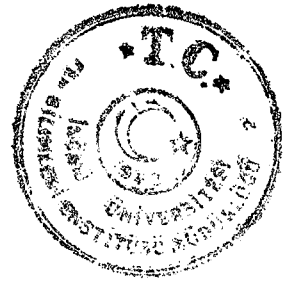
Varyans analizi sonuçlarına göre biyobelirteç olarak seçilen karaciğer ACP, ALP ve ALT enzim aktivitelerinde grup içi farklılık istatistiksel olarak önemli değilken ($p>0.05$), LDH ve AST enzim aktivitelerinde grup içi farklılık istatistiksel olarak önemlidir (LDH için $p<0.001$, AST için $p<0.05$) . Bu balıklarda en yüksek LDH enzim aktiviteleri Mart ve Nisan aylarında Sarıyar, Uşakbükü ve Çayırhan lokasyonlarında belirlenmiştir. Diğer balıklarda olduğu gibi bu balıklarda da en düşük LDH enzim aktivitesi ise Kasım ayına ait olup, Kasım dönemlerine ait aktivitelerin diğer dönemlerle karşılaştırıldığında görece daha düşük olduğu saptanmıştır. En yüksek AST enzim aktiviteleri Mart-1999 Sarıyar ve Kasım-1999 Uşakbükü gruplarında elde edilmiştir. Buna göre enzim aktivite değerleri sırasıyla 234.0 ve 239.4 nM/dk/mg total protein olarak belirlenmiştir. Bu enzim için en düşük değer Kasım-1998 Sarıyar dönemine ait olup enzim aktivite değeri 83.75 nM/dk/mg total protein olarak belirlenmiştir.



Çizelge 4.5. Çeşitli İstasyonlardan toplanan *C. tinca* örnekleri karaciğer dokusunda LDH, AST, ALT, ACP ve ALP enzimlerinin spesifik aktivite değerleri (nM/dakika/mg total protein).

Örnekleme Tarihi	İstasyon	n	LDH	sem	AST	sem	ALT	sem	ACP	sem	ALP	sem
Kasım 1998	Sarıyar	2	10,150	±8,350	83,750	±11,750	3,650	±1,450	4,230	±0,410	1,881	±0,565
Mart 1999	Sarıyar	3	41,167	±4,596	234,000	±14,059	7,700	±0,404	2,043	±0,311	1,819	±0,531
Mart 1999	Çayırhan	4	38,650	±5,822	173,925	±21,689	5,575	±1,362	2,640	±0,542	2,216	±0,955
Nisan 1999	Sarıyar	4	39,250	±4,072	170,250	±8,094	5,850	±1,608	2,463	±0,322	2,062	±1,079
Nisan 1999	Çayırhan	4	33,500	±2,936	164,875	±14,390	7,200	±1,782	1,805	±0,393	2,209	±0,181
Nisan 1999	Uşakbükü	5	61,420	±7,106	137,680	±16,078	12,640	±5,347	2,670	±0,492	6,072	±1,406
Kasım 1999	Sarıyar	5	19,600	±2,550	134,780	±15,023	4,940	±0,516	2,312	±0,285	3,958	±0,895
Kasım 1999	Çayırhan	9	15,533	±1,178	152,267	±18,460	6,289	±0,660	2,604	±0,194	2,956	±0,690
Kasım 1999	Uşakbükü	2	16,300	±3,200	239,400	±44,400	13,450	±0,750	3,850	±0,490	2,275	±0,050

sem: ±standart ortalama hata değerini ifade etmektedir. n: Çalışılan örnek sayısını belirtmektedir.

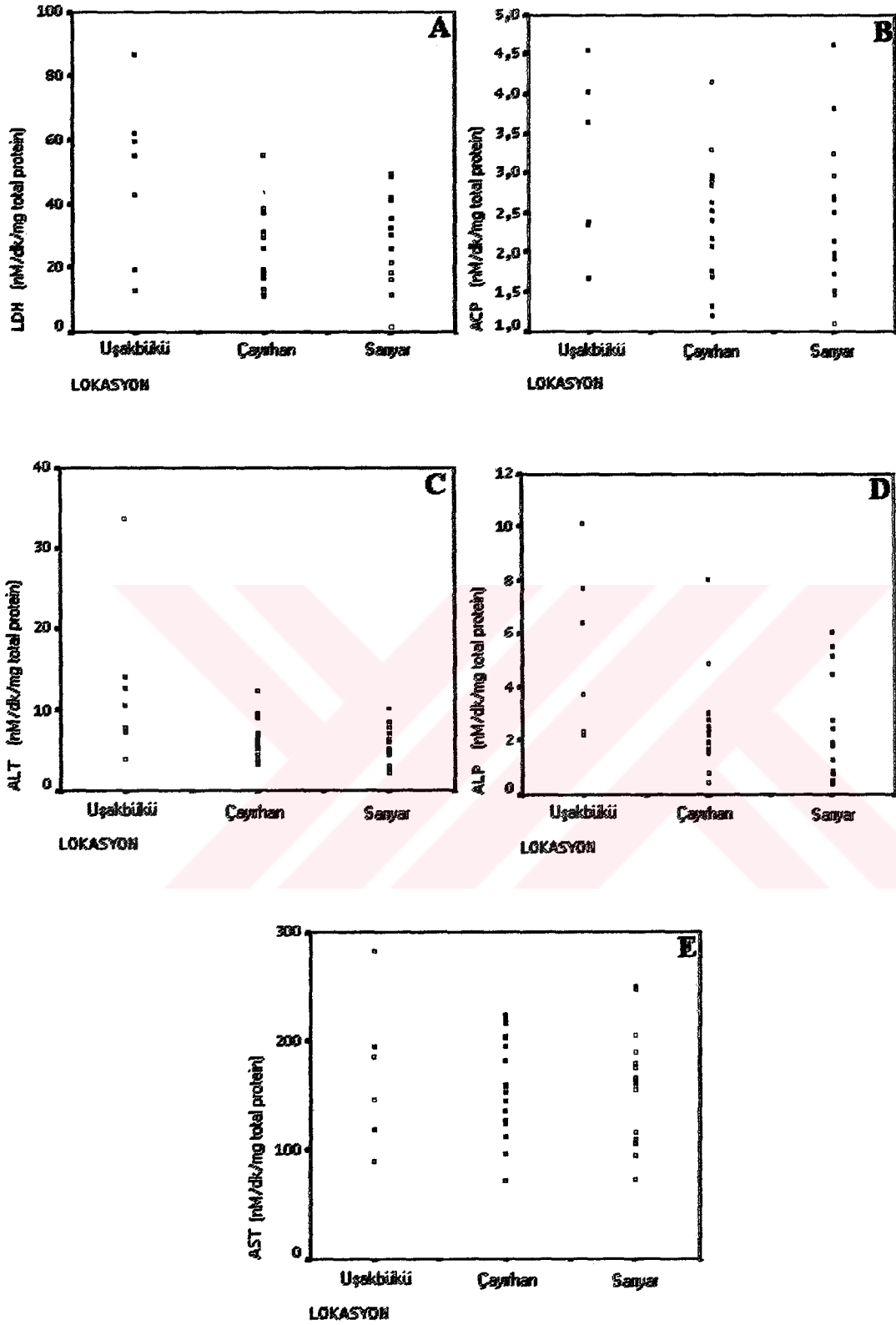


Çizelge 4.6. Çeşitli İstasyonlardan toplanan *C. tinca* örnekleri beyin dokusunda AChE ve CaE enzimlerinin aktivite değerleri (U/L).

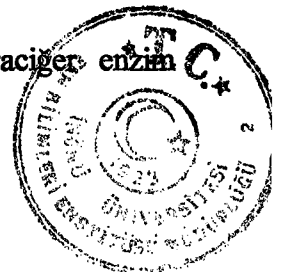
Örnekleme Tarihi	İstasyon	n	AChE	sem	CaE	sem
Kasım 1998	Çayırhan	4	155,418	±5,155	0,975	±0,361
Mart 1999	Sarıyar	2	222,250	±0,810	2,250	±0,450
Mart 1999	Çayırhan	2	269,200	±28,160	5,950	±0,250
Nisan 1999	Sarıyar	4	142,910	±24,632	4,625	±0,912
Nisan 1999	Çayırhan	3	224,323	35,199	3,133	±1,338
Nisan 1999	Uşakbükü	5	204,014	±20,227	6,120	±1,196
Kasım 1999	Sarıyar	9	123,859	±15,833	2,122	±0,615
Kasım 1999	Çayırhan	7	158,810	±6,571	2,843	±0,738
Kasım 1999	Uşakbükü	1	135,083	-	1,400	-

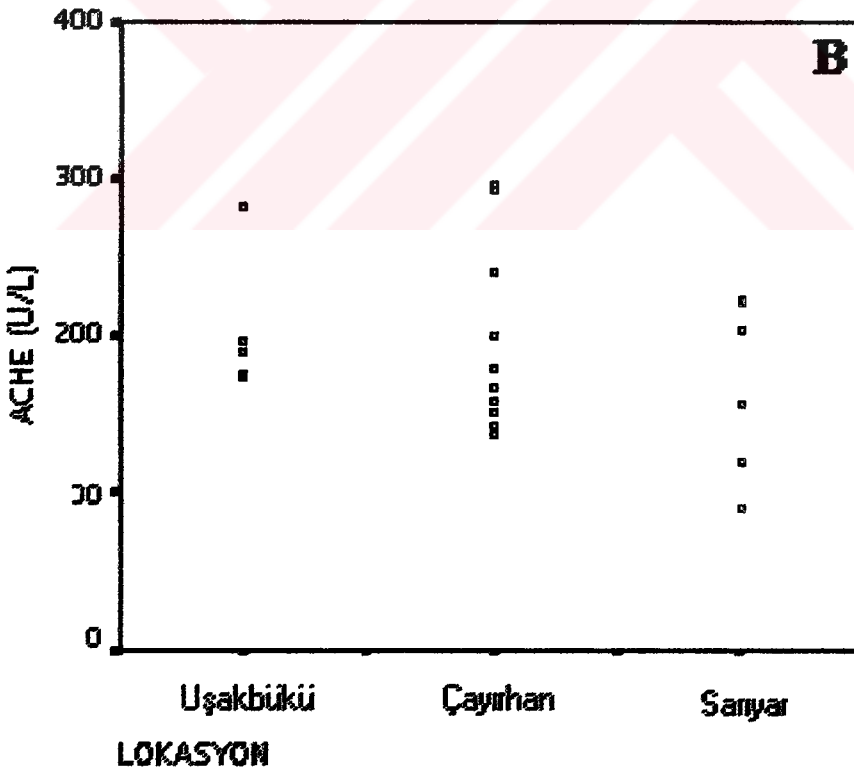
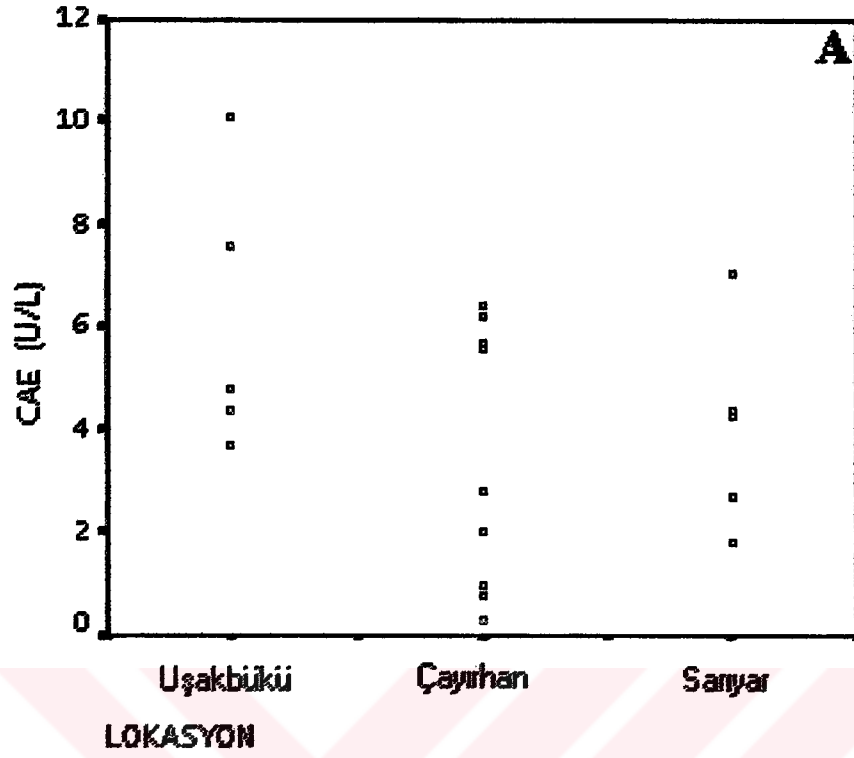
SEM: ±standart ortalama hata değerini ifade etmektedir. n: Çalışılan örnek sayısını belirtmektedir.





Şekil 4.5. Farklı lokasyonlardan yakalanan çay balıklarında karaciğer enzim aktivitelerinin dağılımı (A: LDH, B: ACP, C: ALT, D: ALP, E: AST).





Şekil 4.6. Farklı lokasyonlardan yakalanan çay balıklarında beyin AChE ve CAE enzim aktivitelerinin dağılımı



Aynı tarih dikkate alınarak farklı lokasyonlar arasında yapılan varyans analizinde yapılan grup içi karşılaştırmalarda; Nisan-1999'de Uşakbükü'nden yakalanan örnekler ile karşılaştırıldığında, Sarıyar lokasyonunda LDH enzimi bakımından ve Çayırhan lokasyonunda LDH ve ALP enzimleri bakımından istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Kasım-1999'de Uşakbükü'nden yakalanan örnekler ile karşılaştırıldığında ise Çayırhan lokasyonunda ACP ve ALT enzimleri bakımından istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$).

Bu balık türü için örnekleme tarihleri ve istasyonları dikkate alınarak yapılan gruplar arası karşılaştırmalarda şu sonuçlar elde edilmiştir:

LDH enzimi için yapılan gruplar arası karşılaştırmalara göre; Nisan-1999'da Uşakbükü lokasyonundan yakalanan balıklar Mart-1999 Çayırhan, Nisan-1999 Çayırhan, Kasım-1999 Çayırhan, Mart-1999 Sarıyar, Nisan-1999 Sarıyar ve Kasım-1999 Sarıyar ile karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Aynı enzim için Mart-1999 Çayırhan ile diğer gruplar karşılaştırıldığında Kasım-1999 Çayırhan ve Kasım-1999 Sarıyar, ile aralarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olduğu gözlenmiştir. Nisan-1999 Çayırhan ile diğer gruplar karşılaştırıldığında ise Kasım-1999 Çayırhan ve Kasım-1999 Sarıyar ile aralarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

Aynı enzim için Kasım-1999'da Çayırhan lokasyonunda yakalanan balıklar ile diğer dönem ve lokasyonlarda yakalanan balıklar karşılaştırıldıklarında Mart-1999 Sarıyar ve Nisan-1999 Sarıyar ile aralarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Mart-1999 Sarıyar ile diğer gruplar karşılaştırıldığında Kasım-1999 Sarıyar ile aralarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olduğu saptanmıştır. Son olarak Nisan-1999 Sarıyar ile diğer gruplar karşılaştırıldığında ise Kasım-1999 Sarıyar ile aralarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Grup içi karşılaştırmalarda aralarında önemli düzeyde fark belirlenen diğer enzim, AST için gruplar arası karşılaştırmalarda ise şu sonuçlar elde edilmiştir: Nisan-1999'da Uşakbükü lokasyonundan yakalanan balıklar ile diğer gruplar karşılaştırıldığında Mart-1999 Sarıyar ile aralarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Nisan-1999 Çayırhan ile karşılaştırıldığında Mart-1999 Sarıyar ile aralarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olduğu belirlenmiştir. Kasım-1999 Çayırhan ile karşılaştırıldığında Mart-1999 Sarıyar ve Nisan-1999 Sarıyar



ile aralarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olduğu belirlenmiştir. Son olarak Mart-1999 Sarıyar ile karşılaştırıldığında Kasım-1999 Sarıyar ile aralarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

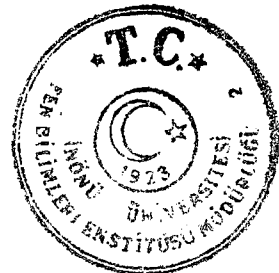
Çizelge 4.6.'da çay balıkları için biyobelirteç olarak seçilen beyin dokusu enzim aktiviteleri özet olarak sunulmuştur.

Varyans analizi sonuçlarına göre biyobelirteç olarak kullanılan beyin dokusu enzimlerinden CaE ve AChE aktiviteleri için grup içi farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). Bu enzimler için aynı dönem dikkate alınarak farklı lokasyonlar arasında yapılan varyans analizinde gruplar arası farklılığın yalnızca Kasım-1999 döneminde Çayırhan ve Sarıyar lokasyonları arasında AChE enzimi açısından istatistiksel olarak önemli düzeyde bir farklılığın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Bu balık türü için CaE ve AChE enzimleri için örnekleme tarihleri ve lokasyonlar dikkate alınarak yapılan gruplar arası karşılaştırmalarda elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir: Nisan-1999'da, Uşakbükü lokasyonunda yakalanan balıklar ile diğer gruplar karşılaştırıldığında her iki enzim için de Kasım-1998 Çayırhan, Kasım-1999 Çayırhan ve Kasım-1999 Sarıyar ile aralarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde bir farkın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Ancak diğer gruplar arasındaki fark iki enzimden yalnız birinde görülmüştür. Karşılaştırmalarda yalnız AChE enzimi için istatistiksel açıdan önemli düzeyde fark, Kasım-1998'de Çayırhan lokasyonunda yakalanan balıklar ile Nisan-1999 Çayırhan ve Kasım-1999 Sarıyar grupları karşılaştırıldığında; Mart-1999 Çayırhan ile Kasım-1999 Çayırhan ve Kasım-1999 Sarıyar karşılaştırıldığında; Nisan-1999'da Çayırhan lokasyonunda yakalanan balıklar ile Kasım-1999 Çayırhan ve Kasım-1999 Sarıyar grupları karşılaştırıldığında; Kasım-1999'da Çayırhan lokasyonunda yakalanan balıklar ile Mart-1999 Sarıyar ve Kasım-1999 Sarıyar grupları karşılaştırıldığında belirlenmiştir ($p<0,05$).

Karşılaştırmalarda yalnız CaE enzimi için istatistiksel açıdan önemli düzeyde fark, Kasım-1998 Çayırhan grubu ile Kasım-1999 Çayırhan ve Nisan-1999 Sarıyar grupları karşılaştırıldığında; Nisan-1999 Sarıyar grubu ile Kasım-1999 Sarıyar grupları karşılaştırıldığında belirlenmiştir ($p<0,05$).



5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çevrenin izlenmesinde biyolojik izleme yöntemleri ve biyobelirteç olarak adlandırılan yöntemlerin kullanılması, çevre ve insan sağlığı üzerinde çevresel kirleticilerin zararlarının belirlenmesinde yararlı bilgiler sağlamaktadır. Biyolojik izleme programları kapsamında çeşitli türden organizmalar, yabancı maddelerin varlığının ve etkilerinin belirlenmesinde yararlı araçlar olarak kullanılmaktadır. Kirletici etkisine maruz kalan organizmaların seçiminde, özellikle kirletici kaynakların bırakıldığı alıcı ortamın özellikleri önemlidir. Buna bağlı olarak, baraj, göl, deniz gibi alıcı ortamlara boşaltılan ya da çeşitli yollarla bu su kaynaklarına ulaşan kirleticilerin etkilerinin saptanmasında balıklar önemli test organizmalarıdır ve besin zincirinin en üst halkalarından birini oluştururlar. Özellikle beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak omnivor ve karnivor balıklar ağır metaller, pestisitler ve poliaromatik hidrokarbonlu bileşikler gibi bileşiklerin dokularda birikimi sonucu sucul ekosistemde en üst düzeyde etkilenirler. Bu organizmalarda çevresel kirlenmenin etkilerini saptamak üzere, fizyolojik, hematolojik, histolojik ve biyokimyasal çeşitli biyobelirteçler kullanılabilir. Toksik maddeye maruz kalma sonucu enzim aktivitelerinde ortaya çıkan değişimler çevresel etkinin belirlenmesinde kullanılacak en iyi biyobelirteçlerden birisidir.

Çevresel kirliliğin belirlenmesinde kimyasal yöntemler de kullanılmaktadır ancak, kimyasal gözlem ve analizlerin oldukça pahalı olması, çalışmaların çevredeki az sayıda toksik kimyasal ile ilgili olması, elde edilen verilerin çok azının biyolojik açıdan anlamlı olması ve izlenen sistemlerin kompleksliğinin göz ardı edilmesi çevresel kirliliğin belirlenmesi ve izlenmesinde kimyasal yöntemleri problemlili hale getirmektedir. Buna ilave olarak, organizmaların zamanla, ortama bağlı olarak maddeleri vücutlarında biriktirmeleri ve maddelerin biyolojik bulunurluklarının biyolojik etkiler açısından ortamda bulunan toplam madde miktarından daha önemli olması, çevre izleme programlarında biyolojik test sistemlerini daha önemli kılmaktadır [92].

Sarıyar Baraj Gölü, çok uzun yıllar boyunca hem Sakarya Nehri havzası hem de Baraj Gölü çevresindeki termik santral gibi tesislerin oluşturduğu tarımsal ve endüstriyel kökenli kirleticilerin tehdidi altında kalmıştır. Çevre kirliliği yönünden uzun yıllar boyunca oluşan kirlilik yükünün bu ortamda besin piramidinin üst kademesinde yer alan balıklarda toksik etkilerinin ortaya çıkması kaçınılmazdır. Baraj Gölü'nde kirliliğin su ortamındaki boyutları analitik verilere göre çok yoğun değildir. Ancak,



özellikle Sakarya Nehri ile tarımsal ve endüstriyel kökenli kirleticilerin göle taşındığı elde edilen bulgular ile ortaya çıkmıştır. Bu kirliliğin Sarıyar Baraj Gölü'ne güneydoğu yönünden giriş yapan Sakarya Nehri ve Kirmir Çayı ile taşındığı, Baraj Gölü'nün özellikle Çayırhan ve Uşakbükü bölgelerinde biriktiği ve bu kirleticilerin balıklarda yükselttiği ağır metal ve organoklorlu pestisit kalıntı analizleri ile saptanmıştır [93]. Yapılan bu çalışma sonucunda kullanımı ülkemizde yasaklanmış olmasına karşın organoklorlu pestisitler ve bunların kalıntılarının su, sediment ve balık dokularında yüksek miktarlarda bulunduğu belirlenmiştir.

Ülkemizde baraj göllerinin mevcut kirlilik durumu ve kirliliğin balıklarda oluşturduğu toksik etkilerin boyutu kapsamlıca çalışılmamıştır. Bu nedenle, bu çalışma ile Sarıyar Baraj Gölü'nde çevresel kirleticilerin etkileri, çeşitli karaciğer ve beyin dokusu enzimleri biyobelirteç olarak kullanılarak belirlenmeye çalışıldı. Mevsimsel kirliliğe bağlı olarak yapılan biyolojik izleme çalışmalarında lokasyonlardaki kirliliğin belirlenmesi için herhangi bir kontrol grubu kullanılmadı. Buna karşın değişik sezon ve tarihlerde farklı istasyonlardan yakalanan balıkların enzim aktiviteleri karşılaştırıldı ve karşılaştırma sonuçlarından hareketle çevresel kirliliğinin boyutları ve organizmalar üzerindeki etkilerinin saptanması amaçlandı. Çevresel etkiye bağlı olarak, belirtilen enzimlerde görülen değişimler bu çalışmada kullanılan üç balık türü için ayrı ayrı değerlendirildi.

Sazan balıklarında ve diğer iki balık türünde en önemli varyasyon gösteren enzimin LDH olduğu ve bu enzimin özellikle Nisan-Mart dönemlerinde Kasım dönemlerine oranla önemli düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır. Kirlilik halinde karaciğer tahribatı nedeniyle bu enzimin kandaki oranının artmasına bağlı olarak kan-LDH aktivitesinin arttığı, buna karşın karaciğer LDH aktivitesinin enzim inhibisyonu nedeniyle düştüğü bilinmektedir. Bununla birlikte stres periyotlarında (kirlilik gibi) laktik asit oranının arttığı da rapor edilmiştir [74]. Laktik asit oranında artışın olması LDH aktivitesinde de artış olduğunu gösterir. Bundan dolayı belirtilen enzimin aktivitesinin nispeten yüksek oluşu kirlilik artışı nedeniyle karbonhidrat metabolizmasındaki değişime bağlanabilir.

Karşılaştırmalarda lokasyonlar arasında LDH enzim aktivitesi bakımından önemli farklılıklar belirlenmesine karşın aynı sezon söz konusu olduğunda enzim aktiviteleri açısından önemli bir farkın olmaması; sadece çay balıklarında Nisan-1999'da Uşakbükü ile Sarıyar lokasyonları arasında bir farkın belirlenmesi, bu enzimin lokasyonlar arasında kirlilik farklılığının belirlenmesinde kullanılamayacağını gösterir.

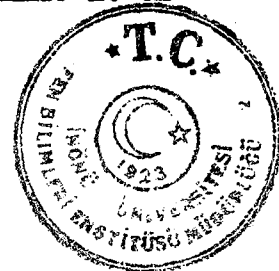


bahar aylarında LDH enzimi aktivitesinde artışın olması kirlilik artışı yerine, sıcaklıkların etkisiyle metabolizmadaki değişimlere de bağlanabilir.

Sazan balıklarında karşılaştırmalarda istatistiksel açıdan önemli farklılıklar gösteren diğer enzim ALP'dir. Organofosfat pestisitlerin balıkların farklı dokularında nükleik asit sentezini olumsuz etkileyerek ALP aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir. Yapılan karşılaştırmalarda Haziran-Kasım 1998'de Sarıyar ve Sakarya lokasyonlarında enzim aktivitesinin görece daha düşük olduğu belirlenmiştir. Haziran ayında enzim aktivitesindeki değişiklik mevsimsel değişim ile ilgili olabilir; ancak Kasım ayındaki değişiklik kirliliğin varlığını göstermektedir.

ALP aktivitesinde mevsimsel değişimlerin meydana geldiği; alabalıklarda ALP aktivitesinin sonbaharda en yüksek seviyede olduğu Folmar [94] tarafından rapor edilmiştir. ALP aktivitesindeki mevsimsel değişimin, sıcaklık değişiminden kaynaklandığı; sıcaklığın düşmesi durumunda ALP aktivitesinin arttığı McDonalds ve Milligan [96] tarafından bildirilmiştir. Benzer şekilde sazan balıklarında Haziran ayına göre Kasım ayında ALP enzim aktivitesinde artışın olduğu belirlenmiştir. Yine Mart ve Nisan aylarındaki ALP aktivitesinin görece yüksekliği de, bahar aylarının Haziran ayına göre daha soğuk olmasına bağlanabilir. Diğer taraftan, enzim aktivitesi kirlilik stresine bağlı olarak artış gösteriyor ise, bu durum ilkbaharda yağışların artışı sonucu özellikle tarımsal alanlardan su kaynaklarına pestisitlerin yıkanarak karışması sonucu da ortaya çıkabilir.

Bu balık türü için beyin dokusu enzimlerinin bulgularını değerlendirildiğinde özellikle AChE aktivitesinin önemli düzeyde farklılık gösterdiği görülmektedir. AChE enzimi yüksek sıcaklıklarda maksimum aktivite gösterirken, sıcaklık düşüşüne bağlı olarak enzimin kimyasal reaksiyon yeteneği de azalmaktadır. Balıkların poiklotermal organizmalar olması çevresel sıcaklık değişimi sonucu metabolik faaliyetlerin yavaşlaması ya da artışını açıklamaktadır. CaE ve AChE enzimlerinin aktivitesinin mevsime bağlı olarak değişiklik gösterdiği ve değişim farkının büyük olduğu bildirilmiştir. Buna göre, balıklarda AChE, Ocak ayında en yüksek aktivite değerine sahiptir. Buna karşın bu dönemde ortamda OP ve karbamat bileşiklerin konsantrasyonları ya çok düşüktür ya da bu bileşikler ortamda hiç bulunmazlar. AChE'nin Nisan ayında ise en düşük aktiviteyi gösterdiği bildirilmektedir. CaE aktivitesinin Eylül-Şubat döneminde en yüksek, Nisan-Ağustos döneminde ise en düşük düzeyde olduğu saptanmıştır [95].



Literatüre göre Nisan ayında en düşük düzeyde bulunan AChE aktivitesi bu araştırmada sazan balıkları için belirtilen ayda en yüksek düzeyde bulunmuştur. Kasım ayları diğer aylarla karşılaştırıldığında enzim aktivitesinde önemli bir düşüşün olduğu görülmektedir. CaE enzim aktivitelerinin AChE enzimine göre çok daha az farklılık gösterdiği saptanmıştır. Bu da AChE enziminin çevresel değişimlere daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Ancak CaE enzimi de AChE enzimine benzer olarak literatürde belirtilenin aksi sonuçlar vermiştir. Literatür sonuçları ile bulgularımızın uyuşmaması, yurdumuzda özellikle araştırmanın yürütüldüğü bölgede mevsimler arası yağış farkına bağlanabilir. Yaz aylarında azalan yağışlar, göl ve baraj gibi kaynaklarda su düzeyinin azalmasına neden olmaktadır. Sonuçta kirletici unsurların konsantrasyonu sularda artmakta ve bu nedenle, yaz ve izleyen mevsimlerde kirliliğe bağlı olarak organizmaların daha fazla etkilenebileceğini akla getirmektedir. Bu durum araştırma bulgularımız ile de desteklenmektedir.

Baraj gölünde kirletici maddelerin taşındığı yerin Sakarya Nehri olması itibarıyla en yüksek kirliliğin beklendiği yer burasıdır. Yapılan histopatolojik analizler ve ağır metal, organoklorlu pestisit kalıntı analizi sonuçları, bu bölgenin diğer bölgelere oranla daha kirli olduğunu kanıtlamaktadır. Sazan balıkları CaE aktivitesinin Sakarya lokasyonunda bütün lokasyonlara oranla daha düşük olması bu bölgede kirliliğin daha yüksek olduğu yönündeki görüşü desteklemektedir.

Bu çalışmada kullanılan yayın balığı, karnivor olması itibarıyla çevresel kirleticilerin karnivor organizmalar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi açısından oldukça önemlidir. Bu balık türü için yapılan karşılaştırmalarda sadece LDH enzimi için grup içi karşılaştırmalar istatistiksel olarak önemli düzeyde belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar sazan balıkları ile uyumludur. Benzer şekilde bu enzimin özellikle Nisan-Mart dönemlerinde Kasım dönemlerine oranla önemli düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır. Bu balık türü için beyin dokusu AChE ve CaE enzimleri arasındaki ilişki mevsime ve lokasyona bağlı olarak önemli bir korelasyon göstermemektedir. Özellikle AChE enziminin Nisan-1999 Uşakbükü'de en düşük aktiviteyi göstermesi literatürle uyuşmaktadır ancak CaE'nin da benzer bir şekilde düşük aktivite göstermesi beklenirken, bu enzimin belirtilen gruptaki aktivitesinin en yüksek değeri vermesi dikkat çekicidir. Veriler dikkate alındığında AChE ve CaE enzimleri arasında korelasyon olmadığı görülmektedir.

Enzimatik biyotransformasyon sistemlerinde kirleticilerin indüklediği enzim aktivite artışının, PCP ve PAH gibi organik kirleticilerin varlıklarının belirlenmesi ve



etkilerinin değerlendirilmesi için kullanışlı olduğu düşünülmektedir. Benzer şekilde CaE enzimi ester bileşiklerinin biyotransformasyonunda yer alması ve aynı zamanda kirlenici maddelerin varlığında aktivitesinin inhibe olması nedeniyle biyolojik izleme çalışmalarında önemli bir yere sahiptir. Enzim aktivitesindeki artışı ester bileşiklerinin varlığında enziminin biyotransformasyondaki rolüne bağlanırken enzim aktivitesindeki düşüş ise ağır metal ve pestisit kirliliğinin enzimin aktivitesini inhibe etmesine bağlanabilir.

Çay balığı LDH enzimi için diğer iki balık türündeki değerlere benzer değerler vermiştir. Bu veriler enzimin mevsimsel değişimlerden etkilendiği yönündeki görüşü kuvvetlendirmektedir. Ancak pestisit olarak kullanılan çevre kirlenicilerinin organizmada aneorobik metabolizmayı etkileyerek LDH enzim aktivitesini artırdığı bildirilmiştir. Bu balık türü için LDH aktivitesinde Mart-Nisan aylarındaki ani artış, bu dönemlerde tarımsal ve endüstriyel aktivitelerin artışına bağlı olarak su ortamına verilen kirlenicilerin miktarına da bağlanabilir.

Bu balık türünde grup içi karşılaştırmalarda istatistiksel açıdan önemli değerler veren diğer karaciğer dokusu enzimi AST'dir. Balıklarda iki temel aminotransferaz (ALT, AST) aktivitesindeki artış, serbest amino asitlerin TCA döngüsü ve/veya glukoneogenesis yolu için transaminasyonlarından dolayı olabilmektedir. Her iki enzimin aktivitesinde değişik metal stresleri sonucu; örneğin cıvaya maruz bırakılmış sazanlarda solungaç, böbrek ve kas transaminaz aktivitesinin arttığı bulunmuştur [96].

Hans de Smet ve arkadaşlarının [97] bildirdiğine göre, *Cyprinus*'da akut kadmiyum muamelesi böbrek ve karaciğer proteaz aktivitesinde, yükselmeye neden olmuştur. Serbest amino asit (SAA) düzeyindeki artış da Cd'un hücresel hasarı indüklemesi sonucu proteaz aktivitesindeki bu yükselme ile açıklanmıştır. Karaciğer ve böbrek SAA düzeylerindeki artış ile eşzamanlı olarak her iki organda AST ve ALT aktiviteleri artmıştır.

Bu çalışmada Mart-Nisan 1999'da Sarıyar lokasyonunda, Kasım-1999 itibarıyla ise Uşakbükü lokasyonunda yakalanan balıklarda AST aktivitesinin diğer gruplara oranla daha yüksek olması, belirtilen tarih ve lokasyonlarda ağır metal kirliliğinin varlığını göstermektedir. Uşakbükü lokasyonunun kirlilik etkeni olan Sakarya Nehri'ne yakın bir yerde bulunması bu bölgede ağır metal birikimine neden olmaktadır. Nitekim yapılan ağır metal kalıntı analizleri bu düşünceyi desteklemektedir.

Çay balığı türü için belirlenen diğer bir veri ise, diğer balık türleri ile karşılaştırıldığında ALP enzim aktivitesinin yaklaşık on kat daha yüksek oluşudur.



Grup içi ve gruplar arası karşılaştırmalarda bu enzim için istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmazken enzim aktivitesindeki görece yükseklik balık türünün fizyolojik özelliğine bağlanabilir.

C. tinca'da beyin dokusu enzimlerinden CaE için diğer iki balık türünde olduğu gibi literatürün aksine en yüksek enzim aktivitesi Nisan ayında belirlenmiştir. Benzer şekilde AChE enzimi literatürün aksi sonuçlar vermiştir. Çay balıkları çalışma için seçilen diğer balıkların tersine oldukça hareketli organizmalardır. Sazan balıklarının ve özellikle yayın balıklarının buldukları lokasyonlardan kolay ayrılmadıkları hatta yayın balıklarının büyük oranda yaşam alanlarına bağlı oldukları bilinmektedir (Ekmekçi, kişisel görüşme). Oysa ki çay balıkları sürekli hareket halinde bulunurlar. Özellikle akarsu ağzları ve iç bölgelerine hareket etme eğilimindedirler. Kirliliğin yoğun olduğu bölgelerden uzaklaşma eğilimi gösterirler. Ayrıca beslenme alışkanlıkları bakımından da herbivor özellik sergilerler. Bu nedenle bu balıklarda kirletici unsurlara bağlı olarak enzim aktivitesinin değişim göstermediği düşünülmektedir.

Lokasyonlar arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, bütün sezonlarda Sarıyar lokasyonunda AChE aktivitelerinin diğer lokasyonlara oranla en düşük olduğu görülmektedir. Buna karşın bütün sezonlarda Çayırhan lokasyonunda belirtilen enzimin aktivitesinin en yüksek düzeyde olması, ayrıca Uşakbükü lokasyonunun ise orantılı olarak iki lokasyonun arasında değerler vermesi, bu enzim aktiviteleri dikkate alınarak OP ve karbamat pestisitlerin yarattığı kirlilik ile ilgili sonuçlara varılabilir. Buna göre belirtilen pestisitler açısından en kirli bölge Sarıyar olup en temiz bölge Çayırhan'dır. Ancak bu veriler belirtilen lokasyonlarda pestisit kalıntı analizleri ile tespit edilen değerler ile uyum göstermemektedir.

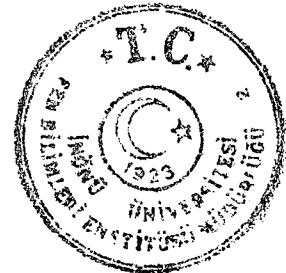
Bu çalışmada elde edilen sonuçlardan gruplar arası varyasyonu en fazla gösteren enzim olması nedeniyle LDH enziminin biyobelirteç olarak kullanıma daha uygun olduğu sonucuna varılabilir. Yine benzer şekilde gruplar arası farkın yüksek olduğu diğer iki enzim, ALP ve AST de biyobelirteç olarak kullanıma uygundur. Karaciğer enzimlerinden ACP ve ALT için gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olması bu enzimlerin çevresel kirliliğe daha az duyarlı olduklarını, en azından ortamda bulunan kirleticilerin bu enzimlerin aktivitesini etkileyecek düzeyde olmadığı göstermektedir. Beyin dokusu enzimlerinden AChE gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel önem bakımından CaE enzimine oranla daha fazla veri sağladığından, AChE enzimine bağlı kirlilik değerlendirmeleri daha kolay olmuştur. Bu iki beyin dokusu enziminin arasında korelasyon olup olmadığına dair değerlendirmelerde ise bu



iki enzim arasında istatistiksel açıdan bir bağlantı bulunamamıştır. Beyin dokusunda CaE aktivitelerinin çok düşük bulunması nedeniyle, bu enzimin pestisit etkisini gösteren iyi bir biyobelirteç olamayacağı düşünülmektedir.

Balık türleri karşılaştırıldığında özellikle sazan balıklarında örnek sayısının fazla olması bu balık türü ile ilgili değerlendirmeleri kolaylaştırmıştır. Çalışılan diğer iki türde ise örnek sayısının azlığı değerlendirmeleri güçleştirmiştir. Ayrıca bu tür çalışmalarda, çalışma alanının kompleksliği, canlı sistemlerin özelliklerinin çeşitliliği ve son olarak çalışmalarda kontrol grubunun olmaması bu tür çalışmaları güçleştiren diğer etkenlerdir.

Sonuç olarak Sarıyar Baraj Gölü'nde kirliliğin belirlenmesi için yapılan bu çalışmada üç farklı balık türünde farklı dokuların farklı enzimlerinin mevsimsel veya kirliliğe bağlı olarak lokasyonlar arasında farklılık gösterdiği ve karşılaştırmalarla elde edilen istatistiksel verilerle Sarıyar Baraj Gölü'nde bazı bölgelerin kirlilikten daha fazla etkilendiği belirlenmiştir.



KAYNAKLAR

- [1] Ekmekçi-Atalay F.G., "Sarıyar Baraj Gölünde Yaşayan Ekonomik Balık Populasyonlarının İncelenmesi" Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Türkiye, 1989, s. 225.
- [2] Kocataş A., *Ekoloji ve Çevre Biyolojisi*, Ege Üni. Fen Fak. Kitapları Serisi, 1992, No: 142, s. 310.
- [3] Matsumuro K., *Toxicology of Pesticides*, 2 nd edition, Plenum Press, New York, 1985, p. 410.
- [4] Sancho E., Ceron J. J., Ferrando M. D., *Cholinesterase Activity and Hematological Parameters as Biomarkers of Sublethal Molinate Exposure in Anguilla anguilla*, *Ecotox. Environ. Safety*, 2000, 46: 81-86.
- [5] Adams S. M., Hinton D. E., *Histopathological biomarkers in feral freshwater fish population exposed to different types of contaminant stress*, *Aquat. Toxicol.*, 1997, 37: 51-70.
- [6] Huggett R. J., Kimerle R. A., Mehrle P. M., et al., *Biomarkers: Biochemical, Physiological, and Histological Markers of Antropogenic Stress*, Lewis Publishers, Ann Arbor, 1992, p. 337.
- [7] Goksoyr A., Förlin L., *The cytochrome P450 system in fish: Aquatic toxicology and Environmental Monitoring*, *Aquat. Toxicol.*, 1992, 22: 287-312.
- [8] Van der Oost R., Vindimian E., Van den Brink P. J., Satumalay K., et al., *Biomonitoring Aquatic Pollution with feral eel (Anguilla anguilla). III-Statistical analysis of relationships between contaminant exposure and biomarkers*, *Aquat. Toxicol.*, 1997, 39: 45-75.
- [9] Shugart L.R., *Molecular Markers to Toxic Agents. In: Ecotoxicology; A Hierarchical Treatment*, Lewis Pub., Boca Raton, FL, USA, 1996, pp. 133-161.
- [10] Strmac M., Braunbeck T., *Isolated Hepatocytes of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) as a tool to discriminate between differently contaminated small river systems*, *Toxicol. in Vitro*, 2000 14: 361-377.
- [11] Jimenez D. B., Oikarai A., Adams S. M., et al., *In: Biomarkers of Environmental Contamination*, Lewis Pub., New York, 1990, pp. 123-149.
- [12] Oshima Y., Kobayashi K., Hidaka C., *Differences in the drug-metabolizing enzyme activities among fish and bivalves living in waters nearby industrial and non-industrial areas*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1994 53: 106-112.
- [13] Lenhardt M., *Seasonal Changes in Some Blood Chemistry Parameters and in Relative Liver and Gonad weights of Pike (Essox lucius) from the River Danube*, *J. Fish Biol.*, 1992, 40: 709-718.
- [14] Emekçi G., Erk'akan F., *Sarıyar Baraj Gölündeki Kirlenmenin Boyutu*, V. Bilimsel ve Teknik Çevre Kongresi, Ç. Ü. ve T. C. Başbakanlık Çevre genel Md, Adana, 1989, s. 811-819
- [15] Jensen S., Jernelov A., *Biologic methylation of mercury in aquatic organisms*, *Nature*, 1969, 223: 753-754.
- [16] Das B. K., Mukherjee S. C., *Chronic toxic effects of quinalpos biochemical parameters in Labeo rohita (Ham)*, *Toxicol. Letters*, 2000, 144: 11-18.
- [17] Brass H. J., Feige M. A., Halloran T., et al., *Drinking Water Quality Through Source Protection*, Ann Arbor, Michigan, 1977, pp. 393-416.
- [18] Amdur O. M., Doull J., Klaassen C. D., *Water and soil pollutants: Toxicology*, Pergamon Press, USA, 1991, pp. 872-873.
- [19] Fargasova A., *Effect of Pb, Cd, Hg, As, and Cr on germination and root growth of Sinapis alba seeds*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1994, 52: 452-456.



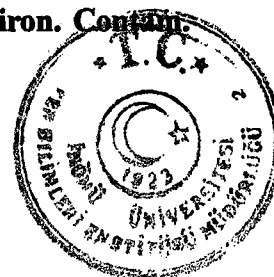
- [20] Dethloff G. M., Bailey H. C., Maier K. J., *Effects of dissolved copper on select hematological, biochemical, and immunological parameters of wild rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 2001, 40: 371-380.
- [21] Landis G. W., Yu M. H., *Heavy Metals: Environmental Toxicology*, Lewis Pub., USA, 1999, p. 177.
- [22] Bachour G., Failing K., Georgii S., et al., *Species and organ dependence of PCB contamination in fish, foxes, roe deer, and humans*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 1998, 35: 666-673.
- [23] Vos J. G., *Toxicity of PCBs for mammals and for birds*, **Environ. Health Perspect.**, 1972, 1: 105-117.
- [24] Gruber S. J., Munn M. D., *Organophosphate and carbamate insecticides in agricultural waters cholinesterase (ChE) inhibition in common carp (Cyprinus carpio)*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 1998, 35: 391-396.
- [25] Alabaster J. S., *Survival of fish in 164 herbicides, insecticides, fungicides, wetting agents and miscellaneous substansces*, **Int. Pest Control**, 1969, 12:29-35.
- [26] American Society for Testing and Materials (ASTM), 1991 Annual Book of ASTM standarts, Section 11, V11.04, 1991, p.1334.
- [27] Türk Standartları Enstitüsü (TSE) TS5676/ UDK 614.77, 628.5, 615.7, Su Kirliliği Kontrolü Zehirlilik Deneyleri, 1998, Kısım-1, 18 s.
- [28] Demirsoy A., *Kemikli balıklar: Yaşamın Temel Kuralları*, C3/ K1, Meteksan, Ankara, 1993, s. 248-328.
- [29] Heath A. G., *Water Pollution and Fish Physiology*, CRS Press, Boca Raton, FL, 1987, p.245.
- [30] Solbe J. F., *The relation between water quality and the status of fish population in Willow Brook*, **Water Treat. Exam.**, 1973, 22: 41-61.
- [31] Wallwork J. F., *Water supply intake protection: Section 1- River water data collection and pollution monitoring*, River Pollution Control,1980, p.175-187.
- [32] Calow P., *Handbook of Ecotoxicology*, V1, Blackweel Scientific Publications, Oxford, USA, 1993, p. 66.
- [33] Das B. K., Mukherjee S. C., *Chronic toxic effects of quinalpos biochemical parameters in Labeo rohita (Ham)*, **Toxicol Letters**, 2000, 144: 11-18.
- [34] Neff J. M., *Use of biochemical measurements to detect pollutant-mediated damatego fish Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Seventh symposium*, ASTM STP 854, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1985, pp. 155-183
- [35] Kuru M., *Kemikli balıklar: Omurgalı hayvanlar*, Gazi Ü. Eğitim Fak., Ankara, 1994, s. 215.
- [36] Noyan A., *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji*, Meteksan, Ankara, 1993, s. 882-883.
- [37] Kappas A., Alvares A. P., *How the liver metabolizes foreign substances*, **Sci. Am.**, 1975, 232(6): 22-31.
- [38] Reynolds E. S., Moslen M. T., *Environmental liver injury: halogenated hydrocarbons*, In *Toxic Injury of the Liver*, New York, 1980, pp. 541-596.
- [39] Dubale M. S., Shah,P., *Histopatological lesions induced by malathion in the liver of Channa punctatus*, **Indian J. Exp. Biol.**, 1979, 17: 693-697.
- [40] Oruç E. Ö., Üner N., *Effect of 2, 4-Diamin on some parameters of protein and carbohydrate metabolisms in serum, muscle and liver of Cyprinus carpio*, **Environ. Pollution**, 1999, 105: 267-272.
- [41] Leinweber FJ., *Possible physiological roles of carboxylic ester hydrolases*, **Drug Metab. Rev.**, 1987, 18: 379-439.



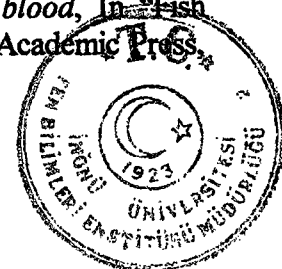
- [42] Barron M. G., Charron K. A., Stott W. T., et al., *Tissue carboxylesterase activity of rainbow trout*, **Environ. Toxicol. and Chem.**, 1999, 18(11): 2506-2511.
- [43] Mora P., Michel X., Narbonne J. F., *Cholinesterase activity as potential biomarker in two bivalves*, **Ecotox. and Environ. Safety**, 1999, 7: 253-260.
- [44] Dauterman W. C., *Extramicrosomal metabolism of insecticides*, In *Pesticide biochemistry and physiology*, Plenum Press, New York, 1976, pp. 149-176.
- [45] Walker C. H., *The correlation between in vivo and in vitro metabolism of pesticides in vertebrates*, In *Pesticide biochemistry and physiology*, V1, John Wiley & Sons, New York, pp. 247-285.
- [46] Kao L. R., Motoyama N., Dauterman W. C., *Multiple forms of esterase in mouse, rat, and rabbit liver, and their role in hydrolysis of organophosphorus and pyrethroid insecticides*, **Pestic. Biochem. Physiol.**, 1985, 23: 66-73.
- [47] Chambers J. E., Ma T., Brone J. S., Chambers H. W., *Role of detoxication pathways in acute toxicity levels of phosphorothionate insecticide in the rat*, **Life Sci.**, 1993, 54: 1357-1364.
- [48] Pond A. L., Chambers H. W., Chambers J. E., *Organophosphate detoxication potential of various rat tissues via A-esterase and aliesterase activities*, **Toxicol. Lett.**, 1995, 28: 245-252.
- [49] Rodgers C. A., Stalling D. L., *Dynamic of an ester of 2,4-D in organs of three fish species*, **Weed Sci.**, 1972, 20: 101-105.
- [50] Barron M. G., Albro P. W., Hayton W. L., *Biotransformation of di-2-ethylhexyl phthalate by rainbow trout*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 1995, 14: 873-876.
- [51] Boone J. S., Chambers J. E., *Time course of inhibition of cholinesterase and aliesterase activities, and nonprotein sulhydryl levels following exposure to organophosphorus insecticides in mosquito fish (Gambusia affinis)*, **Fundam. Appl. Toxicol.**, 1996, 29: 202-207.
- [52] Abas R., Hayton W. L., *A physiologically based pharmacokinetic and pharmacodynamic model for paraoxon in rainbow trout*, **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 1996, 145: 192-201.
- [53] Eaton J. G., *Chronic malathion toxicity to the blugill (Lepomis macrochirus Rafinesque)*, **Water Res.**, 1970, 4: 673-684.
- [54] Lockhart W. K., Metner D. A., Ward F. J., Swanson, G. M., *Population and cholinesterase responses in fish exposed to malathion sprays*, **Pestic. Biochem. Physiol.**, 1985, 24: 12-18.
- [55] Cook G. H., Moore F. C., Coppage D. L., *The relationship of malathion and its metabolites to fish poisoning*, **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 1976, 16: 283-290.
- [56] Gantberg A. N., Perevoznikov M. A., Rozengart V. I., Sherstobitov O. E., *Peculiarities of resistance of some freshwater fishes to carbophos*, **J. Ichthyol.**, 1989, 29: 81-86.
- [57] Lench J. J., Bend J. R., *Relationship between biotransformation and the toxicity and fate of xenobiotic chemicals in fish*, **Environ. Health. Perspect.**, 1980, 34: 115-131.
- [58] Barron M. G., *Bioconcentration*, **Environ. Sci. Techol.**, 1990, 24: 1612-1618.
- [59] Barron M. G., Mayes M. A., Murphy P. G., Nolan R. J., *Pharmacokinetics and metabolism of triclopyr butoxyethyl ester in coho salmon*, **Aquat. Toxicol.**, 1990, 16: 19-32.
- [60] Beauvais L. S., Jones S. B., Brewer S. K., et al., *Physiological emasures of neurotoxicity of diazinon and malathion to larval rainbow trout (Oncorhynchus*



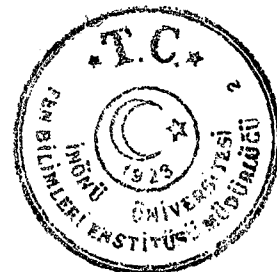
- mykiss*) and their correlation with behavioral measures, **Environ. Toxicol. and Chem.**, 2000, 19(7): 1875-1880.
- [61] Kaplan L. A., Pesce A. J., *Cholinesterase, Methods in Clinical Chemistry*, The C. V. Mosby Company, USA, 1987, 1366 p.
- [62] Jash N. B., Bhattacharya S., *Delayed toxicity of carbofuran in freshwater teleost, Channa punctatus (Bloch) and Anabas testudineus (Bloch)*. **Water, Air Soil Pollut.**, 1983, 17: 693-697.
- [63] Boone S. J., Chambers E. J., *Biochemical factors contributing to toxicity differences among chlorpyrifos, parathion, and methyl parathion in mosquitofish (Gambusia affinis)*, **Aquat. Toxicol.**, 1997, 39: 333-343.
- [64] Suresh A., Sivaramakrishna B., Victoriamma P. C., Radhakrishnaiah K., *Comparative study on the inhibition of acetylcholinesterase activity in the freshwater fish Cyprinus carpio by mercury and zinc*, **Biochem. Int.**, 1992, 26: 367-375.
- [65] Verma S. R., Tonk I. P., Gupta A. K., et al., *In vivo enzymatic alterations in certain tissues of Saccobranchus fossilis following exposure to four toxic substance*, **Environ. Pollut.**, 1981, 26: 121-127.
- [66] Bernet D., Schmidt H., Wahli T., Burkhardt-Holm P., *Effluent from a Sewage Treatment Works Causes Changes in Serum Chemistry of Brown trout (Salmo trutta L.)*, **Ecotox. Environ. Safety**, 2001, 48: 140-147.
- [67] Duve C., *In Lysosomes, a New Group of Cytoplasmic Particles: Subcellular Particles* (T. Hayashi, Ed.), New York, Ronald Press, 1959.
- [68] Dalela R. C., Bhatnagar M. C., Verma S. R., *Histochemical studies on the effects of rogon and thiodon on the activity of acid phosphatase in liver, muscle and kidney of Channa gachua*, **Indian J. Exp. Biol.**, 1978, 16: 1099-1102.
- [69] Satry K. V., Malik P. V., *Studies on the effect of dimecron on the digestive system of a fresh-water fish, Channa punctatus*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 1983, 31: 526-529.
- [70] Ram R. N., Singh S. K., *Carbofuran-induced histopathological and biochemical changes in liver of the teleost fish, Channa punctatus (Bloch)*, **Ecotox. Environ. Safety** 1998, 16: 194-201.
- [71] Sharma R. M., *Effect of endosulfan on acid and alkaline phosphatase activity in liver, kidney, and muscles of Channa gachua*, **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 1990, 44: 443-448.
- [72] Shafi S. A., *Thiodone toxicity: Non-specific phosphomonoesterase in nine freshwater teleosts*, **Toxicol. Letters**, 1980, 105C, s. 347.
- [73] Sastry K. V., Sharma K., *Effect of mercuric chloride on the activities of brain enzymes in Heteropneustes fossilis*, **Matsya**, 1981, 7: 66-69.
- [74] Cohen A., Nuggegoda D., Gagnon M. M., *Metabolic responses of fish following exposure to two different oil spill remediation techniques*, **Ecotox. Environ. Safety**, 2001, 48: 306-310.
- [75] Singh K. R., Sharma B., *Carbofuran- induced biochemical changes in Clarias batrachus*, **Pestic. Sci.**, 1998, 53: 285-290.
- [76] Kumari R., Singh R. K., Khanna Y. P., et al., *Carbofuran-induced stress-mediated disease syndromes in Clarias batrachus, A freshwater fish*, **Proc. Internat. Conf. Pollution Assessment, Control and Treatment**, 1997, pp.57-63.
- [77] Asztalos B., Nemcsok J., Benedeczky I., *The Effects of pesticides on some biochemical parameters of carp (Cyprinus carpio L.)*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 1990, 19: 275-282.



- [78] Escher M., Wahli T., Büttner S., et al., *The effect of sewage plant effluent on brown trout (Salmo trutta fario): a cage experiment*, **Aquat. sci.**, 1991, 61: 93-110.
- [79] Naqvi S. M., Vaishnavi C., *Bioaccumulative potential and toxicity of endosulfan insecticide to non-target animals: a mini review*, **Comp. Biochem. Physiol.**, 1993, 105C, p. 347.
- [80] Mishra R., Shukla S. P., *Impact of endosulfan on lactate dehydrogenase from the freshwater catfish Clarias batrachus*, **Pestic. Biochem. Physiol.**, 1997, 57: 220-234.
- [81] Gupta R. C., Kadel W. L., *Concerted role of carboxylesterase in the potentiation of carbofuran toxicity by ISO-OMPA pretreatment*, **J. Toxicol. Environ. Health.**, 1989, 26: 447-457.
- [82] Sharma B., Ram M. D., Lata S., et al., *Carbaryl-induced alterations in the biogenic amines in various parts of the brain of Clarias batrachus, a freshwater fish*, **Toxicol. Environ. Chem.**, 1993, 38: 95-99.
- [83] Adham K., Khairalla A., Abu-Shabana M., *Environmental stress in lake Maryut and physiological response of Tilapia zilli Gerv.*, **J. Environ. Sci. Health**, 1997, A32(9,10): 2585-2598.
- [84] Srivastava A. S., Oohara L., Suzuki T., Singh S. N., *Activity and expression of aspartate aminotransferase during the reproductive cycle of a fresh water fish, Clarias batrachus*, **Fish Physiol. Biochem.**, 1990, 20: 243-250.
- [85] Saha N., Dutta S., Haussinger D., *Changes in free amino acid synthesis in the perfused liver of an air-breathing walking catfish, Clarias batrachus infused with aminium chloride: A Strategy to adapt under hyperammonia stress*, **J. Exp. Zoo.**, 2000, 286: 13-23.
- [86] Gözükar E. M., *Amino Asitlerin Oksidasyonu: Biyokimya*, Evin Matbaası, Malatya, 1994, s. 1013.
- [87] Lehninger A. L., Nelson D. L., Cox M. M., *Principles of Biochemistry*, Worth Pub., New York, USA, 1993, s. 511-514.
- [88] Petroviç S., Semenciç L., Ozretiç B., Krajnoviç-Ozretiç M., *Selective determination of fish aspartate aminotransferase isoenzymes by their differential sensitivity of proteases*, **Comp. Biochem. Physiol.**, Part B. 1999, 124: 209-214.
- [89] Nemcsok J., Toth L., Juhasz M., Vagra T., *Some effect of CuSO₄ on carp.*, **J. Environ. Sci. Health**, 1996, B31, 3: 627-635.
- [90] Poleksic V., Karan V., *Effects of trifluralin on carp: Biochemical and histological evaluation*, **Ecotox. Environ. Safety**, 1999, 43: 213-262.
- [91] Vidmanic L., Drndarevic A., Mitrovic-Tutundzic V., et al., *Effects of herbicide trifluralin on biotic communities in a fish water ecosystem*. Second International Symposium and Exhibition on Environmental Contamination in Central and Eastern Europe, Symposium Proceedings, Budapest, 1994, pp. 894-896.
- [92] Römbke J., Moltmann J. F., *General aspects of fate and effects*: In Applied Ecotoxicology, Lewis Pub., USA, 1990, pp. 23-44
- [93] Ekmekçi G., Özmen M., Ayaş Z., Yerli S., *Saryar Baraj Gölü ve gölü besleyen akarsularda kirliliğin balıklara etkileri*, TARP-1846, Ankara, 2000, 230 s.
- [94] Folmar L. C., *Effects of chemical contaminants on blood chemistry of teleost fish: A bibliography and synopsis of selected effects*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 1993, 12: 337-375.
- [95] McDonald D. G., Milligan C. L., *Chemical properties of the blood*, In "Fish Physiology" (W. S. Hoar, D. J. Randall, and A. P. Farrell, Eds.), Academic Press, San Diego, 1992, pp. 55-133.



- [96] Hilmy A. M., Shabana M. B., and Daabees A. Y., *Effects of cadmium toxicity upon the in vivo and in vitro activity of proteins and five enzymes in blood serum and tissue homogenates of Mugil cephalus*, **Comp. Biochem. Physiol.**, 1985, 81:145-153.
- [97] Smet H. D., Blust R., *Stress responses and changes in protein metabolism in carp Cyprinus carpio during cadmium exposure*, **Ecotox. Environ. Safety**, 2001, 48: 255-262.



ÖZGEÇMİŞ

12.02.1977 tarihinde Malatya'nın Akçadağ ilçesine bağlı Durulova Köyü'nde doğdu. İlk ve orta öğretimini Durulova Köyü'nde tamamladı. 1993 yılında Malatya Lisesi'nden mezun oldu ve aynı yıl İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümünde üniversite öğrenimine başladı. 1997 yılında bölümden biyoloji öğretmeni olarak mezun oldu. Mart 1998'de Malatya Milli Eğitim Müdürlüğü'ne bağlı Gülümuşluğu İlköğretim Okulunda sınıf öğretmeni olarak göreve başladı. Aynı yılın Eylül ayında İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisansa başladı. 2.5 yıl öğretmenlik yaptıktan sonra, Kasım 2000'de öğretmenlik görevinden ayrılıp İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı.

İC YÜKSEK LİSANS KURULU
DOKÜMAN KONTROLÜ

