

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

TATLI SU AMFİPODU *Gammarus pulex* (L., 1758)'TE KADMİYUM
TOKSİSİTESİ ÜZERİNE SICAKLIĞIN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ
Osman SERDAR

Anabilim Dalı: Su Ürünleri

DANIŞMAN
Prof. Dr. Rahmi AYDIN

2. DANIŞMAN
Prof. Dr. Metin ÇALTA

TUNCELİ – 2017

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TATLI SU AMFİPODU *Gammarus pulex* (L., 1758)'TE KADMİYUM
TOKSİSİTESİ ÜZERİNE SICAKLIĞIN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ
Osman SERDAR
(131106102)

Anabilim Dalı: Su Ürünleri

DANIŞMAN
Prof. Dr. Rahmi AYDIN

2. DANIŞMAN
Prof. Dr. Metin ÇALTA

TUNCELİ – 2017

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TATLI SU AMFİPODU *Gammarus pulex* (L., 1758)'te KADMİYUM
TOKSİSİTESİ ÜZERİNE SICAKLIĞIN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Osman SERDAR
DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 07/02/2017 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından ~~oybirliği/oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

İmza:.....
Prof. Dr. Rahmi AYDIN
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

İmza:.....
Prof. Dr. M. Şener URAL
(Fırat Üniversitesi)

ÜYE

İmza:.....
Doç. Dr. Numan
YILDIRIM
(Munzur Üniversitesi)

ÜYE

İmza:.....
Doç. Dr. Durah DANABAŞ
(Munzur Üniversitesi)

ÜYE

İmza:.....
Doç. Dr. M. Enis YONAR
(Fırat Üniversitesi)

ÜYE

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

Doç. Dr. Numan YILDIRIM
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

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

Proje No: DRTUB015-01

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

ÖZET

Bu çalışmada, kadmiyum (Cd)'un *Gammarus pulex*'te sıcaklığa bağlı olarak oluşturduğu oksidatif stres incelenmiştir. *G. pulex*'e 10, 14 ve 18 °C'de 96 saat süreyle farklı Cd konsantrasyonları uygulanarak LC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Probit analizi sonucunda LC₅₀ değeri; 10 °C sıcaklık için $51,79 \pm 1,2 \mu\text{gL}^{-1}$, 14 °C sıcaklık için $47,67 \pm 0,6 \mu\text{gL}^{-1}$ ve 18 °C sıcaklık için $33,93 \pm 0,6 \mu\text{gL}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. LC₅₀ değerlerinin sıcaklık artışına bağlı olarak azaldığı görülmüştür.

G. pulex'e 10, 14 ve 18°C su sıcaklığında 0,00 μgL^{-1} Cd (kontrol), 1,25 μgL^{-1} , 2,50 μgL^{-1} ve 5,00 μgL^{-1} konsantrasyonlarında Cd uygulanmış ve Oksidatif stresin bir göstergesi olarak malondialdehit (MDA) düzeyi ile katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitelerindeki değişimler belirlenmiştir.

MDA düzeyinin sıcaklık ve Cd konsantrasyon artışına bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. MDA düzeyi, 14 ve 18 °C sıcaklıkta 2,50 μgL^{-1} Cd ve 5,00 μgL^{-1} Cd uygulanan gruplarda, 10 °C sıcaklıkta kontrol ve 1,25 μgL^{-1} Cd uygulanan gruplara kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde artmıştır ($p < 0,05$).

CAT enzim aktivitesinin artan sıcaklıkla düştüğü, Cd'un konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. En düşük CAT enzim aktivitesi 18 °C sıcaklıktaki ve kontrol grubunda, en yüksek enzim aktivitesi 10 °C sıcaklık ve 5,00 μgL^{-1} Cd uygulanan grupta tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).

GPx enzim aktivitesinin artan sıcaklıkla düştüğü, Cd'un konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. En düşük GPx enzim aktivitesi 18 °C sıcaklık ve kontrol grubunda, en yüksek enzim aktivitesi 10 °C sıcaklık ile 0,00 μgL^{-1} ve 5,00 μgL^{-1} Cd uygulanan gruplarda tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Oksidan düzeyleri ve antioksidan aktivitelerinin ortalama değerleri artan sıcaklık ve konsantrasyon açısından incelendiğinde; sıcaklıkla MDA düzeyleri ve CAT enzim aktivitelerinin arttığı, GPx enzim aktivitesinin düştüğü belirlenmiştir. Konsantrasyona bağlı olarak ise MDA düzeylerinde, CAT ve GPX enzim aktivitelerinde artış olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada elde edilen sonuçlara göre; sıcaklığın, Cd'un *G. pulex*'te oluşturduğu oksidatif stresi daha da arttırdığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Gammarus pulex*, Kadmiyum, Oksidatif Stres, Antioksidan, MDA, CAT, GPx

ABSTRACT

Determination of the Effect of Temperature Changing on Cadmium Toxicity in Freshwater Amphipod *Gammarus pulex* (L., 1758)

In this study, the oxidative stress effects of cadmium (Cd) toxicity depend on water temperature was investigated on *Gammarus pulex*. The lethal concentration (LC₅₀) values for *G. pulex* which were exposed to various Cd concentrations for 96 hours were determined at different temperatures as 10, 14 and 18 °C. LC₅₀ values from probit analysis was found to be; $51.79 \pm 1.2 \mu\text{gL}^{-1}$ for 10 °C, $47.67 \pm 0.6 \mu\text{gL}^{-1}$ for 14 °C and $33.93 \pm 0.6 \mu\text{gL}^{-1}$ for 18 °C. LC₅₀ values were decreasing with increasing the temperature.

The temperatures of 10, 14 and 18°C and the concentrations of 0,00 μgL^{-1} Cd (control), 1,25 μgL^{-1} , 2,50 μgL^{-1} and 5,00 μgL^{-1} Cd were applied To *G. Pulex* and oxidant level malondialdehyde (MDA) with catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) enzyme activities were investigated.

The level of MDA was increasing with increasing of temperature and Cd concentration. MDA levels were statistically meaningful increased at 14 and 18 °C and 2,50 μgL^{-1} Cd, 5,00 μgL^{-1} Cd than 10 °C control group and 1,25 μgL^{-1} Cd applied samples ($p < 0,05$).

CAT enzyme activities were decreasing with increasing temperature, but increasing with increasing Cd concentration. The lowest CAT enzyme activities were seen at 18 °C and control group but the highest enzyme activities were determined at 10 °C and 5,00 μgL^{-1} Cd applied control group. The differences between groups due to statistic are meaningful ($p < 0,05$).

GPx enzyme activities were decreasing with increasing temperature, but increasing with increasing Cd concentration. The lowest GPx enzyme activities were seen at 18 °C and control group but the highest enzyme activities were detected at 10 °C and 5,00 μgL^{-1} Cd applied control group. The differences between groups due to statistic are meaningful ($p < 0,05$).

The oxidant levels and average values of anti-oxidation activities with increasing temperature shows that MDA levels and CAT enzyme activities increase with raising temperature, but GPx enzyme activities decrease. It can be said that MDA levels, CAT and GPx enzyme activities increase with concentration.

The results of this study show that oxidative stress due to Cd on *G. pulex* was increasing with temperature.

Key Words: *Gammarus pulex*, cadmium, oxidative stress, antioxidant, MDA, CAT, GPx

TEŞEKKÜRLER

Doktora tez çalışmamın hazırlanmasında ve yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Rahmi AYDIN'a, ikinci danışmanlığımı üstlenen hocam Sayın Prof. Dr. Metin ÇALTA'ya, tez izleme komitesinde yer alan Sayın Doç. Dr. Durali DANABAŞ ve Sayın Doç. Dr. Numan YILDIRIM'a, laboratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyeleri Sayın Doç. Dr. M. Enis YONAR'a ve Sayın Doç. Dr. Serpil MİŞE YONAR'a, araştırmanın yapılabilmesi için gerekli altyapıyı sunan Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığına ve öğretim elemanlarına, çalışmayı maddi yönden destekleyen Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine teşekkür ederim.

Ayrıca doktora çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Arş. Gör. Ayşegül PALA'ya, çalışma hayatım boyunca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim eşim Emine SERDAR ve oğlum M. Kaan SERDAR'a, bu günlere gelmeme vesile olan annem Meryem SERDAR ve babam Mehmet Ali SERDAR başta olmak üzere tüm aile fertlerime sonsuz şükranlarımı sunarım.

Osman SERDAR

Tunceli - 2017

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜRLER.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
TABLolar LİSTESİ	VIII
RESİMLER LİSTESİ.....	IX
KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOT	12
2.1. Çalışmada Kullanılan Canlı Materyal.....	12
2.2. <i>G. pulex</i> 'lerin Laboratuvar Koşullarına Adaptasyonu	13
2.3. Çalışmada Kullanılan Ağır Metal	15
2.4. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar	15
2.5. LC ₅₀ Değerinin Belirlenmesi.....	16
2.6. Deneme Dizaynı.....	17
2.7. Biyokimyasal Analizler.....	17
2.7.1. Homojenatların Hazırlanması	17
2.7.2. MDA Düzeyinin Belirlenmesi	18
2.7.3. CAT Aktivitesinin Ölçülmesi	18
2.7.4. GPx Aktivitesinin Ölçülmesi	18
2.7.5. Protein Düzeyinin Belirlenmesi	18
2.8. İstatistiksel Analizler.....	19
3. BULGULAR.....	20
3.1. LC ₅₀ Bulguları.....	20
3.2. Biyokimyasal Analizlere Ait Bulgular.....	23
3.2.1. MDA Düzeyindeki Değişimler	23
3.2.2. CAT Aktivitesindeki Değişimler	26
3.2.3. GPx Aktivitesindeki Değişimler	28
3.3. Oksidan Düzeylerinin ve Antioksidan Ortalama Değerlerinin Sıcaklığa Bağlı Olarak Değerlendirilmesi.....	31
3.4. Oksidan Düzeylerinin ve Antioksidan Ortalama Değerlerinin Konsantrasyona Bağlı Olarak Değerlendirilmesi	32
4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	33

5. ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	49



SEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 3.1. Probit analiziyle belirlenen, 10 °C sıcaklıkta Cd'unLC ₅₀ değeri.....	21
Şekil 3.2. Probit analiziyle belirlenen, 14 °C sıcaklıkta Cd'un LC ₅₀ değeri.....	22
Şekil 3.3. Probit analiziyle belirlenen, 18 °C sıcaklıkta Cd'un LC ₅₀ değeri.....	22
Şekil 3.4. Sıcaklığa bağlı olarak farklı konsantrasyonlarda Cd uygulanmış grupların MDA düzeyleri.....	25
Şekil 3.5. Cd konsantrasyonuna bağlı olarak farklı sıcaklıklarda MDA düzeyleri	25
Şekil 3.6. Sıcaklığa bağlı olarak farklı Cd konsantrasyonlardaki CAT enzim aktiviteleri .	27
Şekil 3.7. Cd Konsantrasyonuna bağlı olarak farklı sıcaklıklarda CAT enzim aktiviteleri ..	28
Şekil 3.8. Sıcaklığa bağlı olarak farklı konsantrasyonlarda Cd uygulanmış grupların GPx enzim aktiviteleri	30
Şekil 3.9. Cd konsantrasyonuna bağlı olarak farklı sıcaklıklarda GPx enzim aktiviteleri ..	30

TABLolar LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler.....	15
Tablo 2.2. Çalışmanın yürütülmesinde kullanılan laboratuvar ekipmanları	16
Tablo 2.3. LC ₅₀ değerinin belirlenmesi için kullanılan konsantrasyon aralıkları.....	16
Tablo 2.4. Çalışmada kullanılan gruplar	17
Tablo 3.1. <i>G. pulex</i> 'in toplandığı su kaynağının fiziko-kimyasal özellikleri	20
Tablo 3.2. <i>G. pulex</i> 'e farklı sıcaklıklarda uygulanan Cd'un LC ₅₀ değerleri	21
Tablo 3.3. <i>G. pulex</i> bireylerinde farklı sıcaklık ve konsantrasyonlardaki MDA düzeyleri.	24
Tablo 3.4. <i>G. pulex</i> bireylerinde farklı sıcaklık ve konsantrasyonlardaki CAT aktiviteleri	27
Tablo 3.5. <i>G. pulex</i> bireylerinde farklı sıcaklık ve konsantrasyonlardaki GPx aktiviteleri	29
Tablo 3.6. Sıcaklığa bağlı olarak ortalama oksidan ve antioksidan değerleri	31
Tablo 3.7. Konsantrasyona bağlı olarak oksidan ve antioksidan değerleri	32

RESİMLER LİSTESİ

Sayfa No

Resim 2.1. <i>G. pulex</i> örneklerinin toplandığı alan	12
Resim 2.2. <i>G. pulex</i>	13
Resim 2.3. Adaptasyon sonrası <i>G. pulex</i> 'lerin salkım söğüt ve çayır söğüdü yaprakları ile beslenmeleri (Orijinal)	14
Resim 2.4. Stok akvaryumları ve adaptasyon ortamı	14
Resim 2.5. Subletal konsantrasyon düzeneği	17



KISALTMALAR

AChE	Asetilkolinesteraz
As	Arsenik
ATP	Adenozin trifosfat
CAT	Katalaz
Cd	Kadmiyum
Cr	Krom
Cu	Bakır
DNA	Deoksiribonükleikasit
EDTA	Etilendiamintetraasetikasit
Fe	Demir
G6PD	Glukoz 6 fosfataz dehidrojenaz
GR	Glutatyon redüktaz
GSH	Redükte glutatyon
GPx	Glutatyon peroksidaz
GSSG	Okside glutatyon
GST	Glutatyon -S- transferaz
Hg	Civa
KCl	Potasyum klorür
LDH	Laktat dehidrojenaz
MDA	Malondialdehit
MT	Metallotionin
NADPH	Nikotinamidadeninükleotidfosfat
Pb	Kurşun
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	2-Thiobarbituric acid
TCA	Trikloroasetik asit

SEMBOLLER LİSTESİ

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

1. GİRİŞ

Su, medeniyetlerin gelişmişlik seviyelerinin belirlenmesi, toplumların yaşam kalitelerinin artırılabilmesi ve canlılığın devam ettirilebilmesi için en önemli doğal kaynaktır (Tokatlı, 2012).

Sucul ortamlarda muazzam bir canlı varlık hazinesi, dolayısı ile gıda deposu bulunur. Sularda olabilecek bozulma, besin zinciri ve ekolojik dengeyi olumsuz yönde etkilemektedir. Su kirliliğinin, ortamda yaşayan canlılar üzerinde doğrudan etki yaptığı bilinmektedir. Bu nedenle su kirliliğinin çevre kalitesinde yarattığı düşüşü belirlemek için biyoindikatör türlerden faydalanılmaktadır (Kazancı ve ark., 1997).

Özellikle endüstriyel atıklar ve bazı pestisitler içerisinde bulunan ve suları kirleten en önemli inorganik faktörler olan ağır metaller, deşarj edildikleri ortamda uzun süre kalabilmeleri, sucul canlılarda toksik etkiler meydana getirmeleri ve besin zincirinde birikerek insan sağlığını tehdit etmeleri nedeniyle büyük önem taşırlar (Wildi ve ark., 2004; Köse, 2007; Tokatlı, 2012).

Sucul ekosistemlerde ağır metal kirliliği ekosistem sağlığını tehdit eden büyük stres kaynaklarından biridir ve su canlıları için büyük bir risk oluşturmaktadır (Del Valls ve ark., 1998; Türkoğlu, 2008; Tokatlı, 2012).

Çevresel kirleticiler içerisinde toksik etkiye sahip ağır metallerden biri olan kadmiyum (Cd), düşük konsantrasyonlar da bile sucul canlılar için oldukça zararlıdır. (Katalay ve Parlak, 2002; Asri ve ark., 2007). Cd, suda çözünebilirliği en yüksek ağır metal elementtir. Bu sebeple yayılım hızı yüksektir. Ayrıca insan yaşamı için gerekli elementlerden biri değildir. Çözünebilirlik özelliğinden dolayı Cd⁺² halinde bitki ve sucul canlılar tarafından biyolojik sistemlere alınır ve birikme özelliğine sahiptir (Duffus, 1981).

Cd'un neden olduğu serbest radikal üretimi için dolaylı bir mekanizma öne sürülmektedir. Cd, metalloenzimlerdeki çinko (Zn), kalsiyum (Ca), bakır (Cu) ve demir (Fe)'in yerini alarak bu metallerin bağlı olmayan formlarının miktarını artırır; glutatyon gibi serbest radikal süpürücülerin tiyol gruplarına bağlanır, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimleri inhibe eder. Fenton metali olmamasına rağmen, süperoksit ve nitrik oksidinde içinde olduğu birçok serbest radikalın üretimine neden olduğu ve böylece hücre membranındaki yapıların

peroksidasyonuna, DNA hasarına ve protein oksidasyonuna yol açtığı düşünülmektedir. Membran lipidlerinin oksidasyonu, membran yapısının polimerizasyonuna ve çapraz bağlarla bozulmasına neden olur. Mitokondri membranındaki hasar, Ca'un mitokondriden hücre içine salıverilmesini sağlar (Brzóska ve Moniuszko-Jakoniuk, 2001; Waisberg ve ark., 2003; Bertin ve Averbeck 2006; Göktaş, 2007).

Oksidatif stres; kısaca oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine kayması olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif strese neden olan serbest oksijen radikalleri oksijen metabolizması sonucu oluşan bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, molekül ağırlığı düşük, kısa ömürlü, kararsız, etkin, aktif ara bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Abdollahi ve ark., 2003). Bu radikaller; metal-katalizörlü reaksiyonların ürünü olarak, UV, X-ray ve gamma-ray ışınlarının radyasyonu sırasında, atmosferde mevcut olan kirletici maddeler nedeniyle, enfeksiyon sırasında nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilerek, mitokondri-katalizli elektron taşıma zinciri reaksiyonları veya diğer mekanizmaların ürünleri olarak meydana gelmektedir (Cadenas, 1989).

Lipit peroksidasyonu, membran yapısını bozarak, iyon geçirgenliğinin artmasına, membran akışkanlığında kayba sebebiyet verir. Lipid peroksidasyonu reaktif oksijen türlerine (ROS) bağlı hasar ile ilgili en çok araştırılan konulardan bir tanesidir. Membranlarda bulunan fosfolipidler ROS'un etki edebileceği, en bol bulunan hedeflerdir. Özellikle poliinsatüre yağ asidi (PUFA) grupları ROS tepkimelerine oldukça duyarlıdırlar (De Zwart ve ark., 1999; Piner, 2009). Biyolojik örneklerde lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak malondialdehid (MDA) tayini yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. MDA, biyolojik materyallerde serbest ve bağlı şekillerde bulunur (Özden, 2006).

MDA, uçucu, düşük molekül ağırlığına sahip, zayıf asid karakterde, kısa zincirli bir 1,3-dikarbonil bileşiğidir. Nötral ve alkali koşullarda enolat iyon formunda bulunur. MDA asidik (λ_{max} : 245 nm) ve alkali ya da nötral çözeltilerde (λ_{max} : 267 nm) ışığı UV alanda absorbe eder. MDA, 2 yada daha fazla çifte bağ içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin (linolenik asid, araşidonik asid, dokosaheksaenoik asid) oksidatif peroksidasyonu sonucu oluşur (Özden, 2006).

Antioksidanlar, ksenobiyotiklerin, ilaçların, kanserojenlerin, toksik maddelerin ve radikallerin olumsuz etkilerine karşı doğrudan ya da dolaylı olarak hücreyi korumaktadır (Eaton ve Hale, 1993). Antioksidanlar etkilerini iki şekilde gösterirler (Özbe, 2009):

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi;
 - ✓ Başlatıcı reaktif türevlerini uzaklaştırıcı etki

- ✓ Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki
- ✓ Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki

2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi;

- ✓ Toplayıcı (scavenging) etki: ROS'u etkileyerek onları tutması veya çok daha az reaktif başka bir moleküle dönüştürülmesi (örneğin: Enzimler),
- ✓ Bastırıcı (quencher) etki: ROS ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite göstermesi (örneğin: Vitaminler)
- ✓ Onarıcı (repair) etki: Hedef moleküllerin hasar sonrası tamir edilmesi (örneğin: Glutasyon),
- ✓ Zincir kırıcı (chain breaking) etki: ROS'u ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki.

Antioksidan savunma sistemi, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan moleküllerden oluşmaktadır. Enzimatik antioksidanlar:

- ✓ SOD
- ✓ CAT
- ✓ GPx
- ✓ Glutasyon-S-Transferazlar (GST)
- ✓ Glutasyon Redüktaz (GR)

Enzimatik olmayan antioksidanlar ise,

- ✓ Glutasyon (GSH)
- ✓ Vitaminler (A, C, E)
- ✓ Melatonin (MT)

gibi bazı elementleri kapsayan antioksidan moleküllerden oluşmaktadır (Özbey, 2009).

Normal metabolizma dışında, çok sayıda çevresel kirletici suçlu canlılarda oksidatif stresi indüklemeye kapasitesine sahiptir. Organizmalarda, ROS'un oluşumu ile gerçekleşen oksidatif strese engel olmak için, antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki (GPx, GST, GR, CAT vb.) değişimle paralel olarak antioksidan savunma sistemi de cevap oluşturmaktadır (Güngördü, 2007).

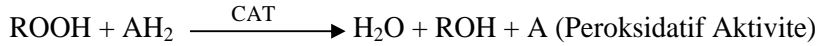
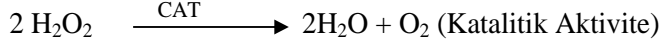
CAT, yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Bu enzim, esas olarak peroksizomlarda daha az olarak da sitozolde ve mikrozomal fraksiyonlarda bulunmaktadır. Hidrojen peroksiti (H_2O_2) suya ve oksijene parçalayarak lipid

peroksidasyonuna karşı koruyucu rol oynamaktadır. CAT, H₂O₂ varlığında bir takım küçük substrat moleküllerine karşı peroksidatif aktivite göstermektedir (Paller, 1991).

Enzim iki tip tepkimeyle etkisini gösterir:

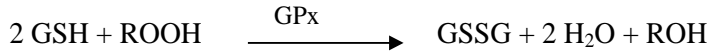
1-H₂O₂'nin dismutasyonu (katalitik tepkime)

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



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

GPx enzimi H₂O₂ ve lipid peroksidasyonunda zincir kırıcı etkiyi katalizler. GPx enzimi reaksiyon sırasında indirgenmiş GSH elektron alıcısı olarak kullanır ve oluşan okside glutatyon (GSSG) NADPH bağımlı GSH-Rd enzimi tarafından rejenere edilir. Reaksiyonları aşağıdaki gibi gösterilebilir (Ak ve ark., 1994; Yanbeyi, 1999).



Günümüzde dünyanın karşılaştığı en büyük sorunlardan birisi de artan küresel ısınmadır. Özellikle fosil yakıtların aşırı kullanımı sonucu meydana gelen küresel ısı artışı, tüm dünyayı etkilemektedir. Sera gazları, pestisitler, ağır metaller, insan faaliyetleri sonucunda artmakta ve sucul ortamlar ile sucul canlılar üzerinde olumsuz rol oynamaktadır (Mol ve Doğruyol, 2012).

Temiz su indikatörü olarak bilinen gammarusların, birçok toksik maddeye karşı duyarlı olduğu bilinmektedir. Gammaruslar toksikolojik çalışmalarda en fazla kullanılan canlı gruplarından birisi olup, akarsularda bol bulunması, kolay elde edilmesi, laboratuvar

koşullarına kolay uyum sağlamaları ve üremelerinin hızlı oluşu gibi avantajları vardır (Arthur, 1980). Bu sebeple toksikolojik çalışmalarda kullanımı giderek artmaktadır (Demirsoy, 1999).

Herhangi bir maddenin canlılar üzerindeki zehirleyici seviyesini belirleyebilmek için akut toksisite testlerinin yapılma zorunluluğu vardır. Kullanılan en yaygın akut toksisite, öldürücü doz (letalite) testidir. Bu testteki amaç, bir kimyasala maruz bırakılan canlı üzerinde ortaya çıkabilecek toksik semptomları, beyin, böbrek, karaciğer gibi belli başlı organların etkilenme derecesini veya öldürücü doz seviyesini saptamaktır. Letal doz veya konsantrasyon değeri, o maddenin ne kadar güvenli kullanılabileceğinin de bir göstergesi olarak kabul edilir (Saygı, 2003).

Sucul ortamdaki kirliliğin belirlenme yöntemlerinden biride, ortamda yaşayan canlıların etkilenmesi ile yapılmaktadır. Bu amaçla indikatör türler kullanılmaktadır. Ağır metal kirliliğinin sucul indikatör türlere olan toksisitesi, biyobelirteç olarak kullanımları ve etkileri üzerine bazı araştırmalar yapılmıştır.

Boşgelmez ve ark. (1981), *G. pulex* L., *Notoneete glauca* L. ve fitoplankton populasyonları üzerine bir insektisit olan malathionun etkisi araştırılmış ve sonuçta fitoplankton populasyonlarından Chlorococcales grubunun malathion'un uygulanan dozlarından olumsuz yönde etkilenmediği aksine populasyon büyüklüklerinde artışların olduğu saptanmıştır

Ritterhoff ve Zauke (1997), Grönland Denizi'nden topladıkları bazı zooplankton türlerinde Cd, kurşun (Pb), Cu ve nikel (Ni) gibi ağır metallerin vücut uzunluğu, yaşam döngü özelliklerini ve cinsiyete bağlı olarak etkisini araştırmışlardır. Cd, Pb, Cu ve Ni konsantrasyonları ile bazı zoolanktonların vücut boyları arasında üssel ilişki elde ettiklerini bildirmişlerdir. Sonuç olarak, rutin biyolojik izleme çalışmalarında kullandıkları türlerin sadece yetişkin bireylerinin kullanılmasını önermişlerdir.

Lawrence ve Poulter (1998), canlılar üzerinde öldürücü olmayacak şekilde kirlenmiş sularda *Gammarus duebeni* amfipodunu biyomonitör olarak kullanımını araştırmışlar ve bu organizmaların biyomonitör kullanımına uygun olduklarını bildirmişlerdir.

Bat ve ark. (2000), tatlı su amfipodlarından *G. pulex pulex* (L., 1758)'lerde çinko (Zn), Cu ve Pb toksisitesi üzerine sıcaklığın etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla 15, 20 ve 25 °C sıcaklıkta Cu, Zn ve Pb'nun *G. pulex pulex* üzerine 96 saatlik LC₅₀ değerlerini belirlemişlerdir. LC₅₀ değerlerinin artan sıcaklıkla Cu'da 0,080; 0,041 ve 0,028 mgL⁻¹,

Zn'da 12,1; 9,3 ve 5,2 mgL⁻¹ ve Pb'da 23,2; 16,1 ve 11,2 mgL⁻¹ olarak bulmuşlardır. Çalışma verilerine göre sıcaklığın artışına bağlı olarak toksik etkinin arttığını ve ayrıca bu türe ait en toksik metalin Cu olduğunu ve bunu Zn daha sonra da Pb'nun izlediğini bildirmişlerdir.

Çalta (2001), farklı Cd konsantrasyonlarında aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L) yumurtalarının dölllenme, yumurta rengi, pigmentasyonu, kuluçka işlemi, embriyo büyümesi ve larvaların hayatta kalma oranına etkilerini araştırmıştır. Cd uygulanan yumurtalarda hacim artışının kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Kuluçka süresinin Cd uygulananlarda kontrol grubuna göre önemli derecede geciktiği tespit edilmiştir. Cd konsantrasyonunun artmasıyla ölüm ve deforme olmuş larvaların arttığı bildirilmiştir. Larva ve embriyolarda baş malformasyonu ve sipinal eğrilikleri içeren deformitelerin, Cd'dan kaynaklandığı, Cd uygulanan larvalarda ağırlık ve uzunlukça büyümenin kontrole göre önemli ölçüde geciktiği belirlenmiştir. Ayrıca, 96 saatlik toksisite test sonuçları ile sazan larvalarında larval sürecin artmasıyla, Cd'a duyarlılığının azaldığı bildirilmiştir.

Poyraz (2001), bir ağır metal olan Pb'un sucul bir amfipod olan *G. pulex*'teki GR enzimi üzerine etkilerini incelemiş, enzimin biyokimyasal ve kinetiksel analizlerini yaparak sucul kirliliğin ölçülmesinde bir biomarker olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmıştır. Sucul ortam kirliliğinin tespiti için *G. pulex*'lerin sonraki çalışmalarda kullanılabilir olduğunu bildirmiştir.

Brooks ve Mills (2003), tatlı su amfipodu *G. pulex*'te osmoregülasyon üzerine Cu'nun etkisini incelemişlerdir. Deney çözeltisi içinde 10 µgL⁻¹ veya daha üstünde olan Cu'nun, solungaç Na⁺/K⁺ ATPaz aktivitesini önemli ölçüde düşürdüğünü belirlemişlerdir.

Cold ve Forbes (2004), kısa süreli pyrethroid pestisit uygulamalarının *G. pulex*'in hayatta kalma ve çoğalmasına etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak yaygın olarak kullanılan esfenvalerate pestisitinin maruz kalabilecekleri konsantrasyonlarının *G. pulex*'in yaşam süresini ve çoğalmasını önemli bir şekilde etkilediğini belirlemişlerdir.

De Lange ve ark. (2006), antidepresan fluoksetin, analjezik ibuprofen ve anti-epileptik karbamazepin ilaçlarının düşük konsantrasyonlarının uygulandığı *G. pulex*'in davranışsal tepkilerini belirlemişlerdir. Kontrol grubuna göre ibuprofen ve fluoksetin uygulamasının davranışsal tepkilerde önemli bir düşüşe yol açtığını, karbamazepinin benzer ama istatistiksel açıdan önemsiz sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Geffard ve ark. (2007), *G. pulex*'teki metal maruziyeti sonucu metallothioneinlerin cinsiyet, boy-ağırlık ve mevsim değişkenlerinin protein seviyesinde etkilerini belirlemişlerdir. Metallothionein düzeyleride, *G. pulex*'lerin ağırlıklarındaki artışla negatif korelasyon tespit etmişlerdir. Erkek ve dişi örneklerin metallothionein düzeyleri arasında istatistiksel bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Mevsimsel açıdan metallothionein düzeyleri sonbahar ve kış dönemlerinde anlamlı farklılıkların olduğunu tespit etmişlerdir. Metallothionein düzeylerindeki en yüksek değerin üreme periyodunda tespit edildiğini ve bunun sebebinin Zn gibi temel metabolik metal ihtiyaçlarıyla bağlantılı olabileceğini bildirmişlerdir.

Xuereb ve ark. (2007), *G. pulex*'deki kolinesteraz (ChE) aktivitesini karakterize etmek için ilk olarak biyokimyasal ve farmakolojik özellikleri araştırmışlardır. Bunun için farklı substratlar (asetiltiokolin iyodür, propiyoniltiokolin iyodür ve bütiril tiokolin iyodür) ve selektif inhibitörler (eserin sülfat, Pentan-3-bir dibromür ve pyro fosfor tetramide) kullanmışlardır. Çalışmanın ikinci bölümünde ise yaygın olarak kullanılan organofosforlu chlorpyrifos pestisitinin *in vitro* ve *in vivo* etkilerinin ChE aktivitesi araştırılmıştır. Yaptıkları çalışma sonucunda *G. pulex*'in asetilkolinesteraz tipik özelliklerini gösteren tek bir ChE'ye sahip olduğu bildirilmiştir.

Felten ve ark. (2008a), laboratuvar koşullarında farklı pH düzeylerinin (4,1; 5,1 ve 6,0) *G. pulex*'te oluşturduğu fizyolojik ve davranışsal etkileri araştırmışlardır. Sirküle olmayan 38 saatlik asidik uygulamada *G. pulex*'in hayatta kalma oranında önemli bir düşüş olduğunu belirlemişlerdir.

Manyin ve Rowe (2008), Çim karidesine (*Palaemonetes pugio*) larva döneminden üreme olgunluğuna erişinceye kadarki yaşam döngüsünde Cd konsantrasyonları uygulamışlar ve popülasyon artışı üzerine modelleme çalışması sonuçlarını ortaya koymuşlardır. Çalışma sonuçlarına göre yetişkinlerin hayatta kalma süresinin, $2,51 \mu\text{gL}^{-1}$ Cd⁺² konsantrasyonunda belirgin şekilde azaldığını, ancak Cd'un, embriyo, larva ve yavruların hayatta kalması üzerinde etkisi olmadığını belirlemişlerdir.

Adam ve ark. (2009), ahşap koruyucu olarak kullanan insektisit ve fungusitlerin toksisitesini belirlemek için *G. pulex*'e propikonazol, tebukonazolin, 3-iyodo-2-propinil bütiril karbamat (IPBC, fungusid) ve cypermethrini tek ve karışım halinde uygulamışlardır. Ticari uygulama konsantrasyonlarında propikonazol ve tebukonazolinin tek olarak *G. pulex*'e uygulandığında toksik olmadıklarını, 3-iyodo-2-propinil bütiril karbamatın orta ölçüde toksik olduğunu ve cypermethrinin aşırı derecede toksik olduğunu belirlemişlerdir.

Pestisit, çözücü ve katkı maddeleri içeren ticari karışım uygulandığında toksik etkiler yaptığını, yaygın olarak kullanılan %0,002'lik cypermethrin içeren diğer bir karışımın 2,5-18 kat fazla ölümcül sonuç verdiğini belirlemişlerdir.

Alonso ve ark. (2009), *G. pulex*'i kullanılarak çok yönlü (beslenme, kadmiyumlu beslenme, cinsiyet ve davranış) biyolojik deney yapmışlardır. Bu amaçla geliştirdikleri cihaz (Multispecies Freshwater Biomonitor = MFB) ile *G. pulex*'lerin suyun içindeki hareketleriyle ürettikleri belirli frekansları, Fourier dönüşüm vasıtasıyla her bir frekansın (0,5 ila 8,5 Hz) zaman yüzdesini hesaplayarak kayıt etmişlerdir. Sonuç olarak kullandıkları MFB ile toksik maddeler uygulanan *G. pulex*'in beslenme davranışını kayıt edebildiklerini, yüzme gibi bazı davranışlarının benzer sinyaller verdiğinden kompleks hareketlerin incelenmesi için MFB'yi kullanarak daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyduklarını belirtmişlerdir.

Geffard ve ark. (2010), *G. fossarum*'da Cd, Ni ve Pb metallerinin karşılaştırılmalı yöntemlerle hücre içindeki etkisini belirlemişlerdir. Bu amaçla metalotiyonein benzeri proteinler (MTLP) ve metalotiyonein benzeri olmayan proteinler (non-MTLP)'i boyut dışlama kromatografisi, ısıtma işlemi ve santrifüjle ayırarak, metal bölünmesinin değişimlerini belirlemişlerdir. Ekolojik açıdan önem taşıyan *G. fossarum*'da metal bölünmesi, trofik olarak mevcut metal fraksiyonunu tanımlayan ve bünyesinde metal biriktirmesi gibi sonuçları incelemişlerdir.

Issartel ve ark. (2010), Cd uygulanan *G. fossarum* amfipodunun hücresel ve moleküler osmoregülasyon yanıtlarını, hemolimf osmolitesi (HO), solungaç yapısı, solungaçlarda Na^+/K^+ -ATPaz (NKA) lokalizasyonu ve nispi ekspresyonu ile belirlemişlerdir. Cd uygulanan *G. fossarum*'da, ortalama HO'nun, kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldığını, 3 ve 7 gün süren denemede organizmalardaki HO değerlerinde yüksek varyasyonlar görüldüğünü, HO'nun kabuklu hayvanın sağlığını değerlendirmek için önemli bir biyolojik belirteç olduğunu ve kontaminantlara karşı bireysel cevapların değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Noël ve ark. (2011), avladıkları ıstakoz, örümcek yengeçleri, ortak yengeçler, yüzme yengeçler ve kral yengeçler de Pb, Cd ve Hg'nin birikimlerini incelemişlerdir. Elde ettikleri verilerin Avrupa mevzuatı maksimum düzeyinin altında olduğunu belirtmişlerdir.

Batista ve ark. (2012), sıcaklık ve Cd'un çürükçül sucul organizma olan *Limnephilus* sp.'nin bitki-yaprak ayrışması üzerindeki etkilerini belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucuna göre sıcaklığın artması, mantar üremesi, yaprak tüketimi ile yaprak

ayrışmasını uyardığını, Cd konsantrasyonlarında artış ise mantar çeşitliliğini, çoğalmasını ve *Limnephilus* sp. tarafından yaprak tüketiminin engellendiğini bildirmişlerdir.

Gismondi ve ark. (2012), Cd uygulanan *G. roeseli*'nin enerji rezervleri ve savunma kapasiteleri üzerindeki mikrosporidye enfeksiyonlarının etkisini belirlemek amacıyla yalnızca dişilere iki mikrosporidya parazit türü (*Dictyocoela roeselum* ve *Dictyocoela muelleri*) enfekte etmişlerdir. Sonuç olarak, mikrosporidyan parazitlerinin *G. roeseli*'nin enerji rezervleri ve savunma kapasiteleri üzerinde önemli bir etkisi olmadığını, Cd uygulaması ile enerji rezervleri ve antioksidan savunma sistemlerinin enfekte dişilerde azaldığını, ayrıca MDA seviyesindeki artış sebebiyle hücresel zarar saptandığını bildirmişlerdir.

Giusto ve ark. (2012), *Hyaella curvispina*'da Cd toksisitesini belirlemişlerdir. Kadmiyumun genç bireylerin gelişimlerini olumsuz etkilediğini bildirmişlerdir.

Vellinger ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada arsenat (AsO_4^{-3}) ve Cd'un *G. pulex* üzerindeki toksik etkisini karşılaştırmalı olarak belirlemişlerdir. Arsenatın 240 saatlik LC₅₀ değerinin Cd'un LC₅₀ değerinden 100 kat daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Boudet ve ark. (2013), metal kirliliği olan (Los Padres) ve kirlenmemiş (Nahuel Ruca) lagünlerden yakalanan beyaz karides (*Palaemonetes argentinus*) üzerine Cd'un akut toksisitesini değerlendirmişler. Her iki gruba 96 saat süreyle 3,06; 12,26; 30,66; 61,32; 306,0 ve 613,2 mgL⁻¹ konsantrasyonlarda Cd uygulayarak LC₅₀ değerlerini belirlemişlerdir. Sonuç olarak Los Padres lagününden yakalanan karideslerin LC₅₀ değerlerinin (24. saatte 269,8; 48. saatte: 67,45; 72. saatte 30,66 ve 96. saatte 24,50 mgL⁻¹ Cd), Nahuel Ruca lagününden yakalanan karideslerin LC₅₀ değerlerinin (24. saatte 153,3; 48. saatte 32,65; 72. saatte 18,40 ve 96. saatte 12,26 mgL⁻¹ Cd) olduğunu ve *P. argentinus*'un, Cd'a karşı yüksek bir duyarlılık gösterdiğini, 96 saat için LC₅₀ değerlerinin düşük ve oldukça hassas değerler olduğunu ve bu nedenle, iyi bir indikatör tür olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Demirci (2013) yaptığı çalışmada, endosulfan, indoxacarb, thiomethoxam ve atrazin pestisitlerinin tek ve kombine kullanımlarının, *G. kischineffensis*'in antioksidan ve detoksifikasyon enzimleri üzerine etkilerini incelemiş ve bu organizmalarda bıraktığı kalıntı düzeylerini araştırmıştır. Sonuç olarak, pestisitlerin tek ve kombine kullanımlarının *G. kischineffensis*'in antioksidan ve detoksifikasyon enzimleri üzerinde modülatör etki gösterdiğini, endosulfan dışındaki tüm pestisitlerin kalıntı oluşturduğunu ifade etmişlerdir.

Funck ve ark. (2013), gümüş (Ag) ağır metali uygulanan *G. fossarum*'un davranışlarını ve fizyolojik yanıtlarını da inceledikleri çalışmada, juvenil, yetişkin dişi ve yetişkin erkeklere ait LC₅₀ değerlerini sırasıyla 1,01; 1,9 ve 2,2 µgL⁻¹ olarak bulunmuştur.

Palüzar (2013), yaptığı çalışmada malation, diklorvos, deltamethrin ve lambda cyhaloetrin pestisitlerinin antioksidan enzimlerinden CAT, SOD, GPx enzim aktiviteleri üzerine etkilerini ve bu etkilerin 2-PAM (2-aldoksim metiyodür) ile yenilenmesi üzerinde çalışmıştır. Deneysel olarak çalıştığı üç enzim arasından, sadece CAT enziminin tüm pestisitlerin artan konsantrasyonlarıyla doğru orantılı inhibisyon ve 2-PAM ile yenilenme gösterdiğini bildirmiştir.

Prato ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada *G. aequicauda*'nın hayatta kalması, büyümesi ve çoğalması üzerine Cu'nun subletal etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla amfipodlar 2 nominal Cu konsantrasyonlarına (50 ve 100 µgL⁻¹), 77 gün süreyle maruz bırakılmışlardır. Cu etkisinin en hassas ölçümünün hayatta kalmak olduğunu ve özellikle genç bireylerde söz konusu etkinin önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Amfipodların büyümesinin de Cu'dan olumsuz etkilendiğini ve *G. aequicauda*'daki büyüme bozukluğunun artan metal konsantrasyonu ile birlikte artmış olduğunu, üreme özelliklerinin bozulduğunu tespit etmişlerdir.

Vellinger ve ark. (2013), tarafından yapılan çalışmada *G. pulex*'te Cd ve AsO₄⁻³'ün tek ve kombine uygulamalarının fizyolojik ve davranışsal tepkiler arasındaki ilişkiye etkilerini belirlemişlerdir. Biyomarkerlerin Cd ve AsO₄⁻³'a tek başına veya birlikte verdikleri yanıtın *G. pulex*'de benzer olduğunu bildirmişlerdir.

Uğurlu ve ark. (2015), tiametoksamin akut toksisitesini ve *G. kischineffensis*'in solungaç dokusundaki histopatolojik etkilerini ortaya koymuşlardır. Tiametoksamin tüm dozlarında en yaygın değişikliklerin *G. kischineffensis*'in solungaç dokusunda meydana geldiğini ve vakuolizasyon ve hemostatik infiltrasyon oluşturduğu göstermişlerdir.

Franco ve ark. (2016), *Mytilus galloprovincialis* solungaçlarında Pb, Cd ve Cu ağır metal kirliliğinin tek ve kombine etkisini biyokimyasal açıdan inceleyerek, biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Bu amaçla *M. galloprovincialis* solungaç örneklerinde esterez aktivitesini (EA), total oksidan durumunu (TOS) ve total antioksidan kapasitesini (TAC) belirlemişlerdir. Sonuç olarak midye solungaçlarında EA, TOS ve TAC ölçümleri için elde ettikleri veriler ışığında *M. galloprovincialis*'in biyolojik izleme programlarında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Piazza ve ark. (2016), geniş tuzluluk ve sıcaklık aralıklarında sucul organizma olan *Amfibalanus amfitrite* larvası üzerine Cd'un letal ve subletal etkilerini araştırmışlardır. Sıcaklık için (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ve 40 ° C) aralığında ve tuzluluk için (%10, 20, 30, 37, 40, 50, 60 ve 70) konsantrasyonlarında ölüm, immobilizasyon ve yüzme hızı değişimi olmak üzere üç parametre ölçmüşlerdir. Ayrıca 24 ve 48 saat için LC₅₀ ve EC₅₀ değerlerini, hesaplamak amacıyla farklı sıcaklık ve tuzluluk konsantrasyonlarında *A. amfitrite* larvasına Cd (NO₃)² (0; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 ve 3,2 mgL⁻¹) konsantrasyonları uygulamışlar ve Cd toksisitesinin artan tuzluluk değerleriyle azaldığını ve artan sıcaklıklarda arttığını tespit etmişlerdir.

Sanayi, kentsel, zirai vb. gibi gelişmeler günümüz çevresel sorunlarını artırmakta, bu çevresel sorunlar küresel ısınma ile canlılar üzerine olumsuz sinerji etki yapmaktadır. Yapılan bu çalışma ile Cd'un *G. pulex*'te 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklardaki LC₅₀ değerleri tespit edilmesi ve Cd'un subletal konsantrasyonlarının, 10, 14 ve 18 °C sıcaklıkta *G. pulex*'te oksidan düzeyleri ve antioksidan aktiviteleri üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Literatür taraması ve incelenen çalışmalar ışıkında řu ana kadar bu konuda yapılmış bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın bundan sonraki benzer çalışmalara ışık tutacağı ve literatürdeki boşluğu dolduracağı düşünölmektedir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Çalışmada Kullanılan Canlı Materyal

Çalışmanın canlı materyalini oluşturan *G. pulex* (L., 1758) örnekleri, Tunceli İli Munzur Akarsuyu yan kollarından (39.156820 N, 39.499640 E) temin edilmiştir (Resim 2.1).

G. pulex'ler Aralık 2015 – Şubat 2016 döneminde, örnekleme noktasının akıntılı kısımlarından dip kepçesi yardımıyla, durgun kısımlarından hortumla vakumlanmak suretiyle toplanarak, hava takviye edilmiş tanklarla Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarına canlı olarak getirilmiştir.



Resim 2.1. *G. pulex* örneklerinin toplandığı alan (URL-1, 2016)

Gammarus pulex türünün sistematikteki yeri,

Alem: Animalia

Şube : Arthropoda

Altşube : Crustacea

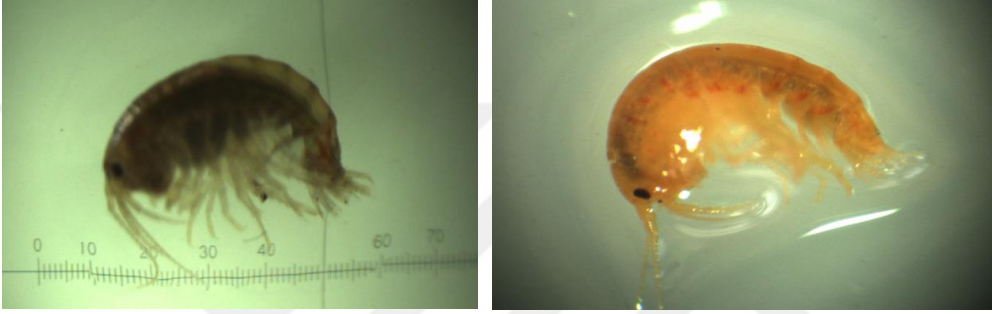
Sınıf : Malacostraca

Takım : Amphipoda

Aile : Gammaridae

Cins : Gammarus

Tür : *Gammarus pulex* (Resim 2.2)



Resim 2.2. *G. pulex* (Orijinal)

2.2. *G. pulex*'lerin Laboratuvar Koşullarına Adaptasyonu

Laboratuvara canlı olarak getirilen *G. pulex* örnekleri doğal ortamına benzer şekilde hazırlanmış akvaryumlara yerleştirilmiştir. Bu amaçla canlı materyalin yaşam ortamından getirilen sedimentler distile su ile yıkanarak 80x40x25 cm ebatlarındaki stok akvaryumlarına ilave edilmiştir. Akvaryumlara örneklerin temin edildiği doğal ortamlardan alınan dinlenmiş su konulmuştur. Laboratuvar aydınlatmasında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde fotoperiyot uygulanmıştır (Welton ve Clarke, 1980). Ortam sıcaklığı termostatlı klima sayesinde hem adaptasyon hem de test aşamalarında 10, 14 ve 18°C'ye ayarlanarak sabit tutulmuştur. *G. pulex*'lerin doğal ortamlarından toplanan salkım söğüt ve çayır söğüdü ağaç yaprakları cam bir kapta, suyun içinde çürütülerek *G. pulex*'lerin beslenmesinde (Resim 2.3) kullanılmıştır (Cold ve Forbes, 2004).



Resim 2.3. Adaptasyon sonrası *G. pulex*'lerin salkım söğüt ve çayır söğüdü yaprakları ile beslenmeleri (Orijinal)

Stok akvaryumlarında su sirkülasyonu için harici filtre, *G. pulex*'lerin oksijen ihtiyacını karşılamak için hava motoru kullanılmıştır (Resim 2.4). Akvaryumlardaki suların %70'i canlıların doğal ortamından temin edilen dinlenmiş suyla haftada bir değiştirilerek yenilenmiştir. Adaptasyon süresince canlıların beslenmesi ve hareketliliği gözlemlenmiştir.



Resim 2.4. Stok akvaryumları ve adaptasyon ortamı (Orijinal)

G. pulex'in temin edildiği akarsuyun fiziko-kimyasal özellikleri standart titrimetrik yöntem ve multiparametre cihazı (YSI marka Professional Plus model) ile ölçülmüştür. Stok akvaryum sularının sıcaklık, oksijen ve pH gibi fiziko-kimyasal özellikleri multiparametre cihazı ile günlük olarak ölçülmüştür.

Çalışmada yapılan tüm deneyler için üreme olgunluğuna erişmiş *G. pulex* örneklerinin sağlıklı olanları seçilmiştir. Seçilen örneklerin cinsiyet olgunluğuna erişmiş, kabuk değişimini tamamlamış erkek bireyler olmasına dikkat edilmiştir. Kontrol grubu dahil tüm konsantrasyon grupları ve tekerrürler için 10'ar adet canlı birey kullanılmıştır.

2.3. Çalışmada Kullanılan Ağır Metal

Çalışmada kullanılan Cd, kadmiyum klorür ($CdCl_2$ 99,99%) bileşiği formunda kullanılmıştır. Bu kimyasal ticari bir firmadan temin edilmiştir.

2.4. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Çalışma için kullanılan kimyasal malzemeler Tablo 2.1.'de, kullanılan laboratuvar cihaz ve malzemeleri Tablo 2.2.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Madde
2-Thiobarbituric acid (TBA)
Trikloroasetik asit (TCA)
Potasyum klorür (KCl)
Perklorik asit
Serum fizyolojik tuzlu su % 0,9
Bakır-2-sülfat
Folin ciocalteu phenol
Nitrik asit (HNO_3)
Potasyum tartarat
Sodyum karbonat (Na_2CO_3)
Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Potasyum dihidrojenfosfat (KH_2PO_4)
Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4)
Etilen diamin tetra asetat (EDTA)
Redükte glutatyon (GSH)
Sodyum Azide ($NaNH_3$)
Nikotinamid adenin dinükleotidfosfat (NADPH)
Amonyum Sülfat ($(NH_4)_2SO_4$)
GSH redüktaz

Tablo 2.2. Çalışmanın yürütülmesinde kullanılan laboratuvar ekipmanları

Kullanılan Araç ve Gereçler	Marka - Model
Hassas terazi ($\pm 0,0001$)	BEL M214Ai
Çalkalamalı su banyosu	Mikrotest MCS-20
Saf su cihazı	Nüve
Homojenizatör	IKA Ultra-Turrax T-10
Multiparametre cihazı	YSI Professional Plus
Otomatik pipetler	Brand
Soğutmalı santrifüj	Nüve 12000R
UV-Visible spektrofotometre	Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis
Vortex	Benchmark
Manyetik karıştırıcı	WiseStir

2.5. LC₅₀ Değerinin Belirlenmesi

LC₅₀ değeri, 10, 14 ve 18 °C sıcaklıkların her biri için deneysel olarak belirlenmiştir. Bu amaçla yapılan aralık belirleme çalışmasından sonra her bir sıcaklık için litrede μg düzeyinde Cd konsantrasyonları hazırlanmıştır (Tablo 2.3). LC₅₀ değerini belirlemede statik test uygulanmıştır (APHA, 1998).

Tablo 2.3. LC₅₀ değerinin belirlenmesi için kullanılan konsantrasyon aralıkları

Sıcaklık (°C)	Kontrol	Konsantrasyonlar ($\mu\text{g/L}$)						
10	0,0	40,0	42,5	45,0	47,5	50,0	52,5	55,0
14	0,0	37,5	40,0	42,5	45,0	47,5	50,0	52,5
18	0,0	30,0	32,5	35,0	37,5	40,0	42,5	45,0

Her bir sıcaklık için uygulama ortamı sıcaklığı $\pm 0,5$ °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Sıcaklık faktörü sabitlendikten sonra cam akvaryumlara canlı ortamından temin edilen ve belirlenen konsantrasyonlarda Cd içeren bir litre su konulmuştur. Akvaryumlara yeterli hava akımını sağlayan hava motorları bağlanarak *G. pulex* örnekleri için gerekli oksijen akımı verilmiştir (Resim 2.5). Hazırlanan konsantrasyonlarda *G. pulex* bireyleri 96 saat Cd etkisinde bırakılmıştır. Denemenin 24, 48, 72 ve 96. saatlerinde gözlemlenmiş, ölen *G. pulex* sayıları tespit edilmiştir. Ölen bireyler deneme ortamından uzaklaştırılmış ve not edilmiştir. Bu süre içinde *G. pulex*'lere besleme yapılmamıştır. LC₅₀ deneyleri her bir sıcaklık için üç defa tekrarlanmıştır. Elde edilen veriler probit analizi ile hesaplanarak 96 saat için LC₅₀ değerleri tespit edilmiştir.



Resim 2.5. Subletal konsantrasyon düzenegi (Orijinal)

2.6. Deneme Dizayını

Cd'un *G. pulex*'teki etkilerini biyokimyasal olarak incelemek için MDA düzeyi, CAT ve GPx enzim aktivitelerindeki değişimler incelenmiştir. Bu amaçla 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarda Cd'un subletal konsantrasyonlarının uygulandığı toplam dört grup oluşturulmuştur. Subletal konsantrasyonlar LC₅₀ değerlerinin yaklaşık 1/40, 1/20 ve 1/10 oranlarına eşdeğer olan sırasıyla 1,25; 2,50 ve 5,00 µgL⁻¹ Cd uygulanmıştır (Tablo 2.4). 96 saat sonunda her gruptan alınan 10'ar adet *G. pulex* örnekleri biyokimyasal analiz yapılana kadar -20 °C'ta tutulmuştur.

Tablo 2.4. Çalışmada kullanılan gruplar

Sıcaklık °C	Kontrol	Konsantrasyonlar (µgL ⁻¹ Cd)		
	K	C ₁	C ₂	C ₃
10	0,00	1,25	2,50	5,00
14	0,00	1,25	2,50	5,00
18	0,00	1,25	2,50	5,00

2.7. Biyokimyasal Analizler

2.7.1. Homojenatların Hazırlanması

Homojenatların hazırlanması için uygulama yapılan *G. pulex* örnekleri saf sudan geçirilmiştir. Örneklerden homojenat oluşturulabilmesi için 10 bireyden (toplamda yaklaşık 0,5 g) havuz oluşturulmuştur. Kurutma kâğıdı ile suyu alındıktan sonra 0,5 g tartılıp %1,15'lik KCl içinde 1/10 oranında sulandırılarak homojenize edilmiştir. Elde

edilen homojenatlar cam tüplerde soğutmalı santrifüjde 3200 rpm'de +4 °C' de 15 dakika kadar santrifüj edildikten sonra süpernatantları ayrılmıştır (Yonar, 2008).

2.7.2. MDA Düzeyinin Belirlenmesi

MDA düzeylerinde meydana gelen değişimler Placer ve ark. (1966)'den modifiye edilen yöntemle göre spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbitürik asit (TBA) ile ölçülebilen MDA meydana gelmektedir. Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturur. Oluşan bu pembe renk 532 nm'de okunur. Buna göre, elde edilen homojenatlardan 0,25 ml alınarak üzerine 2,25 ml renk ayırıcı (TBA ve %10'luk triklorasetik asit) ilave edilmiştir.

2.7.3. CAT Aktivitesinin Ölçülmesi

CAT aktivitesi Aebi (1984)'e göre tayin edilmiştir. Bunun için elde edilen süpernatantlardan alınarak, üzerine fosfat tamponu ve hidrojen peroksit ilave edilmiştir. 240 nm'de 0. ve 30. saniyedeki absorbans farkı spektrofotometrede ölçülmüştür..

2.7.4. GPx Aktivitesinin Ölçülmesi

G. pulex örneklerindeki GPx aktivitelerinin tayini Beutler (1975) tarafından tarif edilen metoda göre yapılmıştır. Glutasyon peroksidaz, H₂O₂ varlığında GSH'yi okside glutasyon (GSSG)'a dönüşmesini katalize eder. H₂O₂'nin bulunduğu ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımıyla tekrar GSH'a dönüştürülür. Glutasyon peroksidaz aktivitesi, deney ortamındaki NADPH'ın NADP⁺'ya çevrilmesi ile optik dansitede meydana gelen 0. ve 3. dakikalardaki absorbans farkının 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile belirlenmiştir.

2.7.5. Protein Düzeyinin Belirlenmesi

G. pulex örneklerine ait protein miktarları spesifik enzim aktiviteleri ve MDA düzeylerini hesaplamak amacıyla çalışılmıştır. Bunun için protein miktarı Lowry (1951)'e göre belirlenmiştir.

2.8. İstatistiksel Analizler

G. pulex'te Cd'un LC₅₀ değeri probit analizi kullanılarak SPSS 24.0 paket programında belirlenmiştir. Biyokimyasal analizler sonucu oksidan / antioksidan parametreleride meydana gelen değişimler ise iki yönlü varyans analizi (Two Way – Anova) ile belirlenmiştir (Sümbüloğlu, 1998; Kocaçalışkan ve Bingöl, 2008; Kalaycı, 2010). Grafik çizimleri için Microsoft Office 2010 Excel paket programı kullanılmıştır.



3. BULGULAR

Çalışmada kullanılan *G. pulex* örneklerinin ortalama ağırlıklarının $0,053 \pm 0,008$ g, ortalama uzunluklarının ise $8,7 \pm 0,7$ mm' olduğu belirlenmiştir.

G. pulex'in yakalandığı Munzur Akarsuyu'nun fiziko-kimyasal özellikleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. *G. pulex*'in toplandığı su kaynağının fiziko-kimyasal özellikleri

Fiziko-kimyasal parametreler	
Sıcaklık (°C)	12,1
pH	8,65
Çözünmüş oksijen (mgL ⁻¹)	10,23
Ca (mgL ⁻¹)	18,04
Mg (mgL ⁻¹)	55,20
Toplam sertlik (CaCO ₃ mgL ⁻¹)	245,00
Nitrat-N (mgL ⁻¹)	4,12
Nitrit-N (mgL ⁻¹)	<0,002
Amonyum-N (mgL ⁻¹)	0,41
Toplan Fosfat (mgL ⁻¹)	<0,02

Çalışma boyunca stok akvaryumlarındaki suyun ortalama oksijen değerleri $9,8 \pm 0,7$ mgL⁻¹, pH değerleri ise $8,65 \pm 0,38$ olarak belirlenmiştir.

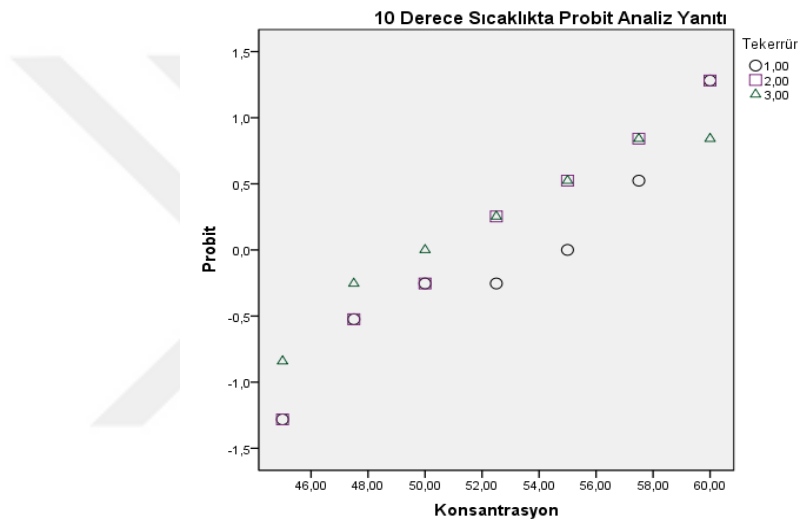
3.1. LC₅₀ Bulguları

Aralık belirleme testlerinden sonra *G. pulex* örnekleri için 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarına ait LC₅₀ değerleri belirlenmiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. *G. pulex*'e farklı sıcaklıklarda uygulanan Cd'un LC₅₀ değerleri

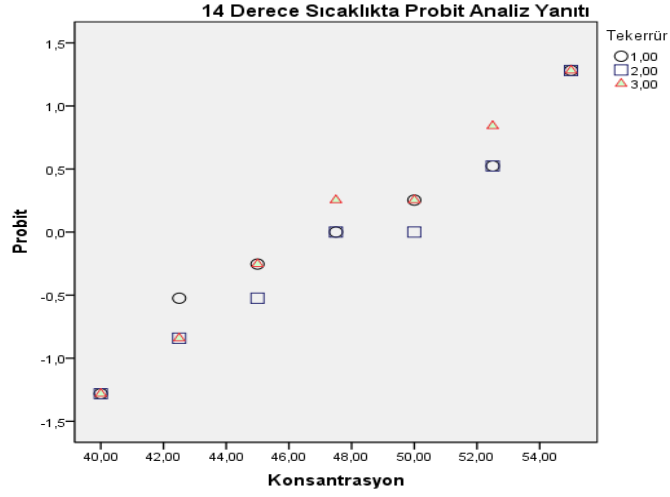
Sıcaklık	LC ₅₀ Değeri (µgL ⁻¹)	Alt Sınır (µgL ⁻¹)	Üst Sınır (µgL ⁻¹)
10 °C	51,79 ± 1,2	49,03 ± 1,3	54,43 ± 1,3
14 °C	47,67 ± 0,7	45,27 ± 0,67	50,10 ± 0,7
18 °C	33,93 ± 0,7	31,39 ± 0,8	37,00 ± 0,8

Cd'un akut toksitesi üzerine sıcaklığın etkisi incelendiğinde, 10 °C sıcaklıkta Cd'un LC₅₀ değerinin 51,79 ± 1,2 µgL⁻¹, alt sınır değerinin 49,03 ± 1,3 µgL⁻¹ ve üst sınır değerinin 54,43 ± 1,3 µgL⁻¹ olduğu bulunmuştur (Şekil 3.1).



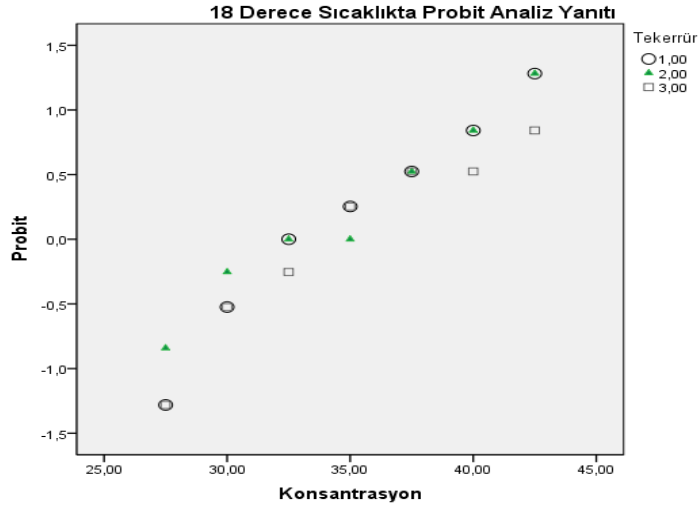
Şekil 3.1. Probit analiziyle belirlenen, 10 °C sıcaklıkta Cd'un LC₅₀ değeri

Cd'un 14 °C sıcaklıktaki LC₅₀ değerinin 47,67 ± 0,7 µgL⁻¹, alt sınır değerinin 45,27 ± 0,7 µgL⁻¹ ve üst sınır değerinin 50,10 ± 0,7 µgL⁻¹ olduğu bulunmuştur (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Probit analiziyle belirlenen, 14 °C sıcaklıkta Cd'un LC₅₀ değeri

Cd'un 18 °C sıcaklıktaki LC₅₀ değerinin $33,93 \pm 0,7 \mu\text{gL}^{-1}$, alt sınır değerinin $31,39 \pm 0,8 \mu\text{gL}^{-1}$ ve üst sınır değerinin $37,00 \pm 0,8 \mu\text{gL}^{-1}$ olduğu saptanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Probit analiziyle belirlenen, 18 °C sıcaklıkta Cd'un LC₅₀ değeri

Yapılan LC₅₀ deneyleri sonucunda sıcaklık arttıkça *G. pulex* bireylerinin Cd toksistesine olan hassasiyetlerinin arttığı saptanmıştır.

3.2. Biyokimyasal Analizlere Ait Bulgular

3.2.1. MDA Düzeyindeki Değişimler

G. pulex'e farklı sıcaklıklarda uygulanmış Cd konsantrasyonlarının MDA düzeyine etkisi Tablo 3.2'de verilmiştir.

İstatistiksel analiz sonucuna göre, konsantrasyon artışına bağlı olarak MDA düzeyleri incelendiğinde;

K grubu ve Cd uygulanan, C₁, C₂ ve C₃ gruplarının 10 °C'teki MDA düzeyleri sırasıyla 1,03 ± 0,4; 0,75 ± 0,3; 1,41 ± 0,4 ve 1,85 ± 0,7 nmol/mg protein olarak tespit edilmiştir. C₁ ve C₂ grupları MDA düzeyi K grubuna benzer (p>0,05), C₃ grubunun ise K grubundan yüksek ve aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0,05) olduğu belirlenmiştir.

K grubu ve Cd uygulanan, C₁, C₂ ve C₃ gruplarının 14 °C'teki MDA düzeyleri sırasıyla 1,93 ± 0,6; 1,86 ± 1,0; 1,81 ± 1,7 ve 2,13 ± 1,7 nmol/mg protein olarak tespit edilmiştir. Bu sıcaklıkta Cd uygulanan grupların arasında MDA düzeyleri arasında istatistiksel açıdan farkın önemli olmadığı bulunmuştur (p>0,05).

K grubu ve Cd uygulanan, C₁, C₂ ve C₃ gruplarının 18 °C'teki MDA düzeyleri sırasıyla 0,90 ± 0,3; 2,02 ± 1,0; 2,71 ± 0,2 ve 3,15 ± 1,0 nmol/mg protein olarak bulunmuştur. C₁, C₂, ve C₃ konsantrasyon gruplarının MDA düzeyleri K grubundan istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (p<0,05).

İstatistiksel analiz sonucuna göre, sıcaklık artışına bağlı olarak MDA düzeyleri incelendiğinde;

K grubu örneklerinin 10, 14 ve 18 °C sıcaklıktaki MDA düzeyleri sırasıyla 1,03 ± 0,4; 1,93 ± 0,6 ve 0,90 ± 0,3 nmol/mg protein olarak belirlenmiştir. MDA düzeylerinin 14 °C sıcaklıkta, 10 ve 18 °C sıcaklıktakinden daha yüksek ve aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı (p<0,05) olduğu tespit edilmiştir.

C₁ grubu MDA düzeylerinin 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarda sırasıyla 0,75 ± 0,3; 1,86 ± 1,0 ve 2,02 ± 1,0 nmol/mg protein olduğu tespit edilmiştir. C₁ grubu MDA düzeylerinin 14 ve 18 °C'deki MDA düzeylerinin birbirine yakın ve aralarındaki farkın önemsiz olduğu (p>0,05), 10 °C'deki MDA düzeyinin ise daha düşük ve farkın önemli olduğu bulunmuştur (p<0,05).

C₂ grubu MDA düzeylerinin 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarda sırasıyla 1,41 ± 0,4; 1,81 ± 1,7 ve 2,71 ± 0,2 nmol/mg protein olduğu tespit edilmiştir. 18 °C sıcaklıkta MDA düzeylerinin 10 °C sıcaklıktakinden istatistiksel olarak daha yüksek olduğu (p<0,05) tespit edilmiştir. 14 °C sıcaklıktaki MDA düzeyinin 10 ve 18 °C sıcaklık değerleri ile benzer olduğu tespit edilmiştir (p>0,05).

C₃ grubu MDA düzeylerinin 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarda sırasıyla 1,86 ± 0,7; 2,13 ± 1,7 ve 3,15 ± 1,0 nmol/mg protein olduğu tespit edilmiştir. C₃ grubunda tüm sıcaklıklarda belirlenen MDA düzeyleri istatistiksel olarak önemli herhangi bir fark göstermemiştir (p>0,05).

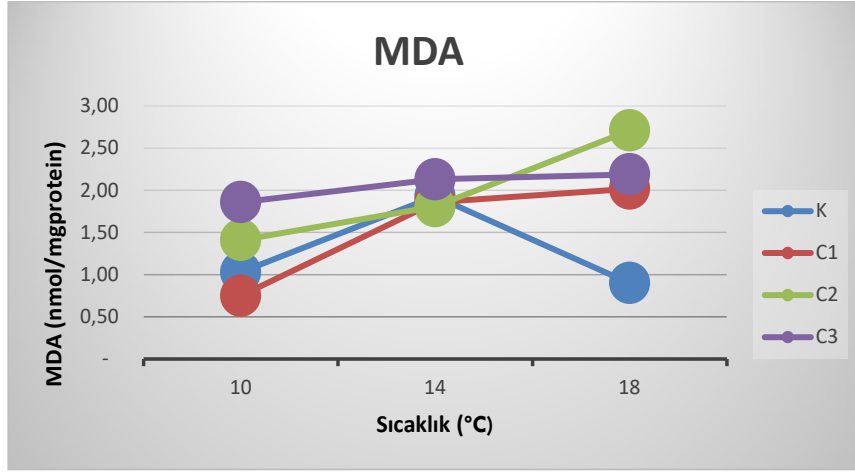
Tablo 3.3. *G. pulex* bireylerinde farklı sıcaklık ve konsantrasyonlardaki MDA düzeyleri (nmol/mg protein)

Sıcaklık (°C)	Kontrol	Subletal Cd Konsantrasyon Grupları		
	0,00 (K)	1,25 (C ₁)	2,50 (C ₂)	5,00 (C ₃)
10	1,03 ± 0,4 ^{bcY}	0,75 ± 0,3 ^{cY}	1,41 ± 0,4 ^{abY}	1,85 ± 0,7 ^{aX}
14	1,93 ± 0,6 ^{aX}	1,86 ± 1,0 ^{aX}	1,81 ± 1,7 ^{aXY}	2,13 ± 1,7 ^{aX}
18	0,90 ± 0,3 ^{cY}	2,02 ± 1,0 ^{bX}	2,71 ± 0,2 ^{aX}	3,15 ± 1,0 ^{aX}

^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli (p<0,05) bulunmuştur.

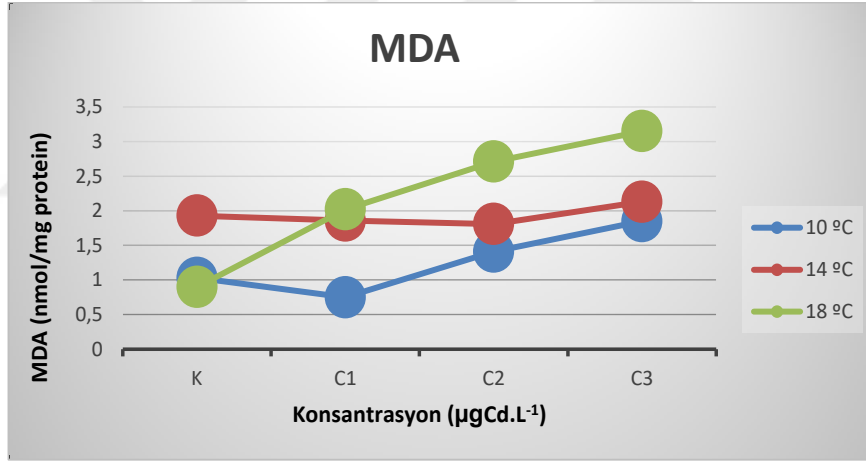
^{X,Y,Z} Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli (p<0,05) bulunmuştur.

Belirlenen konsantrasyonlarda sıcaklık artışına bağlı olarak MDA düzeyleri incelendiğinde sıcaklık arttıkça MDA düzeyinde artışın meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Sıcaklığa bağlı olarak farklı konsantrasyonlarda Cd uygulanmış grupların MDA düzeyleri

Belirlenen sıcaklıklarda konsantrasyon açısından MDA düzeyleri incelendiğinde, konsantrasyon arttıkça MDA düzeylerinde artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Cd konsantrasyonuna bağlı olarak farklı sıcaklıklarda MDA düzeyleri

Yapılan çalışmada sıcaklık ve konsantrasyondaki artışa bağlı olarak MDA düzeyinin K grubu hariç diğer tüm gruplarda arttığı belirlenmiştir.

3.2.2. CAT Aktivitesindeki Değişimler

Farklı sıcaklıklarda Cd konsantrasyonlarının uygulandığı *G. pulex*'in CAT enzim aktivitesindeki meydana gelen değişimler Tablo 3.4'te verilmiştir.

İstatistiksel analiz sonucuna göre, konsantrasyon artışına bağlı olarak CAT enzim aktivitesi incelendiğinde;

K grubu ve Cd uygulanan, C₁, C₂ ve C₃ gruplarının 10 °C'teki CAT enzim aktiviteleri sırasıyla 64,40 ± 40,4; 76,91 ± 60,7; 159,66 ± 66,6 ve 179,94 ± 78,8 k/mg protein olarak tespit edilmiştir. C₁ grubunda CAT enzim aktivitesi K grubuna benzer (p>0,05), C₂ ve C₃ gruplarında ise K grubundan istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (p<0,05).

K grubu ve Cd uygulanan, C₁, C₂ ve C₃ gruplarının 14 °C'teki CAT enzim aktiviteleri sırasıyla 82,16 ± 33,7; 157,02 ± 13,1; 103,42 ± 39,0 ve 108,32 ± 32,7 k/mg protein olarak tespit edilmiştir. C₁ grubunda CAT enzim aktivitesi diğer gruplardan istatistiksel açıdan yüksek bulunmuştur (p<0,05).

K grubu ve Cd uygulanan, C₁, C₂ ve C₃ gruplarının 18 °C'teki CAT enzim aktiviteleri sırasıyla 4,86 ± 1,8; 9,20 ± 2,5; 28,29 ± 3,6 ve 45,32 ± 17,6 k/mg protein olarak tespit edilmiştir. C₃ grubuna ait CAT enzim aktivitesi K grubundan yüksek olup, aralarındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0,05).

İstatistiksel analiz sonucuna göre, sıcaklık artışına bağlı olarak CAT enzim aktivitesi incelendiğinde;

K grubu örneklerinin 10, 14 ve 18 °C sıcaklığındaki CAT enzim aktiviteleri sırasıyla 64,40 ± 40,4; 82,16 ± 33,7 ve 4,86 ± 1,8 k/mg protein olarak belirlenmiştir. CAT enzim aktivitesinin 14 °C sıcaklıkta, 10 ve 18 °C sıcaklıktakinden daha yüksek ve aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı (p<0,05) olduğu tespit edilmiştir.

C₁ grubu CAT enzim aktivitesinin 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarda sırasıyla 76,91 ± 60,7; 157,02 ± 13,1 ve 9,20 ± 2,5 k/mg protein olduğu tespit edilmiştir. C₁ grubu CAT enzim aktivitesi 14 °C sıcaklıkta, 10 ve 18 °C sıcaklıktaki enzim aktivitesinden daha yüksek olup, aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı (p<0,05) olduğu tespit edilmiştir.

C₂ grubu CAT enzim aktivitesi 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarda sırasıyla 1,41 ± 0,4; 1,81 ± 1,7 ve 2,71 ± 0,2 k/mg protein olarak tespit edilmiştir. En yüksek CAT enzim aktivitesi 10 °C sıcaklıkta, en düşük aktivitenin ise 18 °C sıcaklıkta olduğu tespit edilmiştir.

Tüm sıcaklıklara ait CAT enzim aktivitesi arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemlidir ($p<0,05$).

C₃ grubu CAT enzim aktivitesi 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarda sırasıyla $179,94 \pm 78,8$; $108,32 \pm 32,7$ ve $45,32 \pm 17,6$ k/mg protein olarak tespit edilmiştir. 10 ve 14 °C sıcaklıklardaki CAT enzim aktivitelerinin 18 °C sıcaklıktaki enzim aktivitesinden daha yüksek ve aralarındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir.

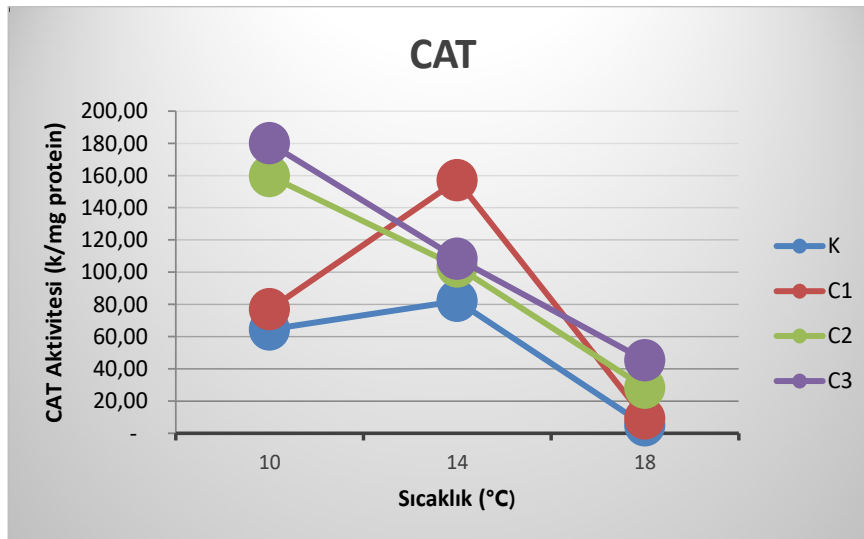
Tablo 3.4. *G. pulex* bireylerinde farklı sıcaklık ve konsantrasyonlardaki CAT aktiviteleri

Sıcaklık (°C)	Kontrol	Subletal Cd Konsantrasyon Grupları		
	0,00 (K)	1,25 (C ₁)	2,50 (C ₂)	5,00 (C ₃)
10	$64,40 \pm 40,4$ ^{bY}	$76,91 \pm 60,7$ ^{bY}	$159,66 \pm 66,6$ ^{aX}	$179,94 \pm 78,8$ ^{aX}
14	$82,16 \pm 33,7$ ^{bX}	$157,02 \pm 13,1$ ^{aX}	$103,42 \pm 39,0$ ^{bY}	$108,32 \pm 32,7$ ^{bY}
18	$4,86 \pm 1,8$ ^{cZ}	$9,20 \pm 2,5$ ^{cZ}	$28,29 \pm 3,6$ ^{bZ}	$45,32 \pm 17,6$ ^{aX}

^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuştur.

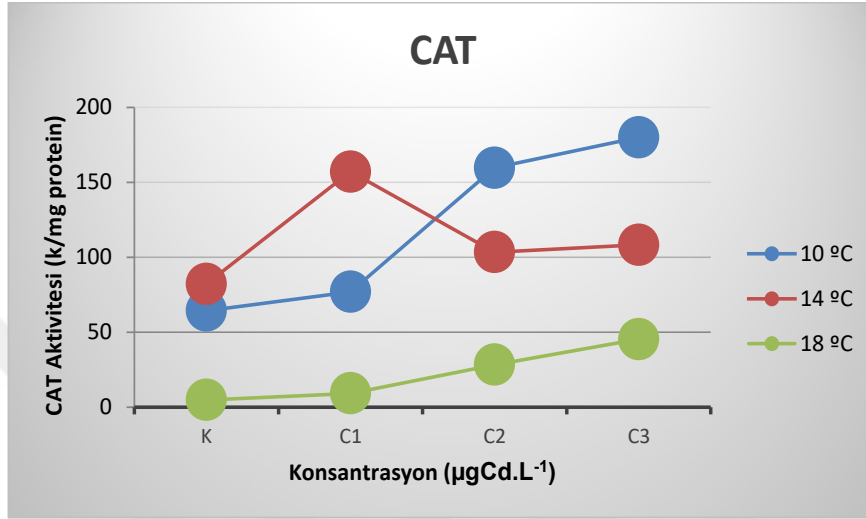
^{X,Y,Z} Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuştur.

Cd'a maruz bırakılan *G. pulex* bireylerinde 14 °C sıcaklıktaki K ve C1 grupları hariç, diğer tüm gruplarda sıcaklığın artışıyla birlikte belirlenen konsantrasyonlarda CAT enzim aktivite seviyelerinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Sıcaklığa bağlı olarak farklı Cd konsantrasyonlardaki CAT enzim aktiviteleri

G. pulex bireylerinin farklı Cd konsantrasyonlarında artan sıcaklıkla CAT enzim aktivite düzeylerindeki değişimler belirlenmiştir (Tablo 3.6). Belirlenen değerlere göre artan konsantrasyon ve sıcak ile CAT enzim düzeylerinde artma tespit edilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Cd Konsantrasyonuna bağlı olarak farklı sıcaklıklarda CAT enzim aktiviteyi

3.2.3. GPx Aktivitesindeki Değişimler

Farklı sıcaklıklarda Cd konsantrasyonlarının uygulandığı *G. pulex*'in GPx enzim aktivitesinde meydana gelen değişimler Tablo 3.5'te verilmiştir.

İstatistiksel analiz sonucuna göre, konsantrasyon artışına bağlı olarak GPx enzim aktivitesi incelendiğinde;

K grubu ve Cd uygulanan, C₁, C₂ ve C₃ gruplarının 10 °C'teki GPx enzim aktiviteyi sırasıyla 24,54 ± 40,4; 7,29 ± 0,2; 19,67 ± 0,7 ve 20,88 ± 1,6 U/mg protein olarak tespit edilmiştir. GPx aktiviteyi en yüksek K grubunda ve en düşük C₁ grubunda olup, aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0,05) olduğu belirlenmiştir.

K grubu ve Cd uygulanan, C₁, C₂ ve C₃ gruplarının 14 °C'teki GPx enzim aktiviteyi sırasıyla 17,03 ± 0,2; 20,33 ± 0,9; 17,48 ± 0,9 ve 19,67 ± 0,7 U/mg protein olarak tespit edilmiştir. K ve C₂ gruplarının GPx enzim aktiviteyi birbirine yakın bulunurken (p>0,05), C₃ ve C₁ gruplarının GPx enzim aktiviteyi K grubundan yüksek bulunmuştur (p<0,05).

K grubu ve Cd uygulanan, C₁, C₂ ve C₃ gruplarının 18 °C'teki GPx enzim aktiviteleri sırasıyla 3,54 ± 0,8; 7,15 ± 0,8; 11,64 ± 2,8 ve 13,18 ± 0,3 U/mg protein olduğu tespit edilmiştir. C₁, C₂ ve C₃ gruplarına ait GPx enzim aktiviteleri K grubundan yüksek olup aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05).

İstatistiksel analiz sonucuna göre, sıcaklık artışına bağlı olarak GPx enzim aktiviteleri incelendiğinde;

K grubu örneklerinin 10, 14 ve 18 °C sıcaklıktaki GPx enzim aktiviteleri sırasıyla 24,54 ± 0,4; 17,03 ± 0,2 ve 3,54 ± 0,8 U/mg protein olduğu tespit edilmiştir. GPx enzim aktivitesi 10 °C sıcaklıkta en yüksek, 18 °C sıcaklıkta en düşük olup, aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı (p<0,05) olduğu tespit edilmiştir.

C₁ grubu GPx enzim aktivitesi 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarda sırasıyla 7,29 ± 0,2; 20,33 ± 0,9 ve 7,15 ± 0,8 U/mg protein olarak bulunmuştur. C₁ grubunun GPx enzim aktivitesi 14 °C sıcaklıkta, 10 ve 18 °C sıcaklıktakinden daha yüksek olup aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı (p<0,05) olduğu tespit edilmiştir.

C₂ grubu GPx enzim aktivitesinin 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarda sırasıyla 19,67 ± 0,7; 17,48 ± 0,9 ve 11,64 ± 2,8 U/mg protein olduğu tespit edilmiştir. GPx enzim aktivitesi en yüksek 10 °C sıcaklıkta, en düşük ise 18 °C sıcaklıkta tespit edilmiştir. Tüm sıcaklıklarda GPx enzim aktivitesinin birbirinden farklı olduğu saptanmıştır (p<0,05).

C₃ grubu GPx enzim aktivitesinin 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarda sırasıyla 20,88 ± 1,6; 19,67 ± 0,7 ve 13,18 ± 0,3 U/mg protein olduğu tespit edilmiştir. 10 ve 14 °C sıcaklıklarda ki GPx enzim aktivitesinin 18 °C sıcaklıktaki enzim aktivitesinden istatistiksel açıdan daha yüksek olduğu (p<0,05) tespit edilmiştir.

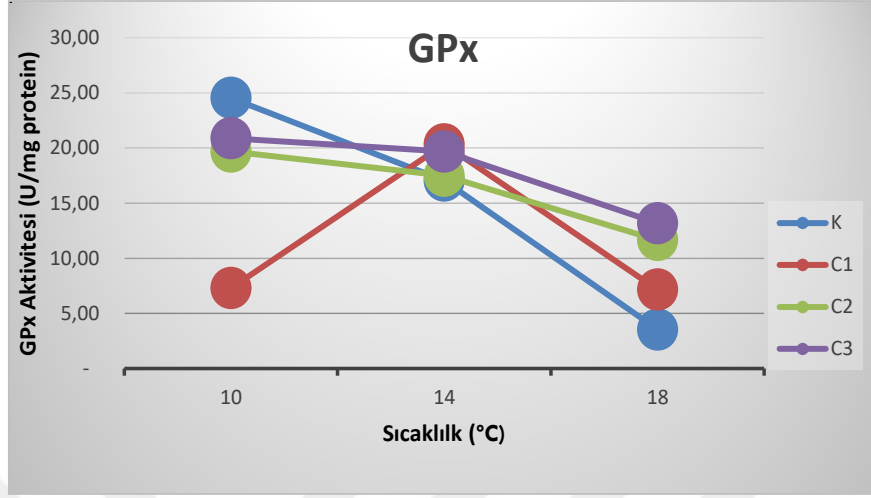
Tablo 3.5. *G. pulex* bireylerinde farklı sıcaklık ve konsantrasyonlardaki GPx aktiviteleri

Sıcaklık (°C)	Subletal Cd Konsantrasyon Grupları			
	Kontrol 0,00 (K)	1,25 (C ₁)	2,50 (C ₂)	5,00 (C ₃)
10	24,54 ± 0,4 ^{aX}	7,29 ± 0,2 ^{dY}	19,67 ± 0,7 ^{cX}	20,88 ± 1,6 ^{bX}
14	17,03 ± 0,2 ^{bY}	20,33 ± 0,9 ^{aX}	17,48 ± 0,9 ^{bY}	19,67 ± 0,7 ^{aX}
18	3,54 ± 0,8 ^{cZ}	7,15 ± 0,8 ^{bY}	11,64 ± 2,8 ^{aZ}	13,18 ± 0,3 ^{aY}

a,b,c,d Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli (p<0,05) bulunmuştur.

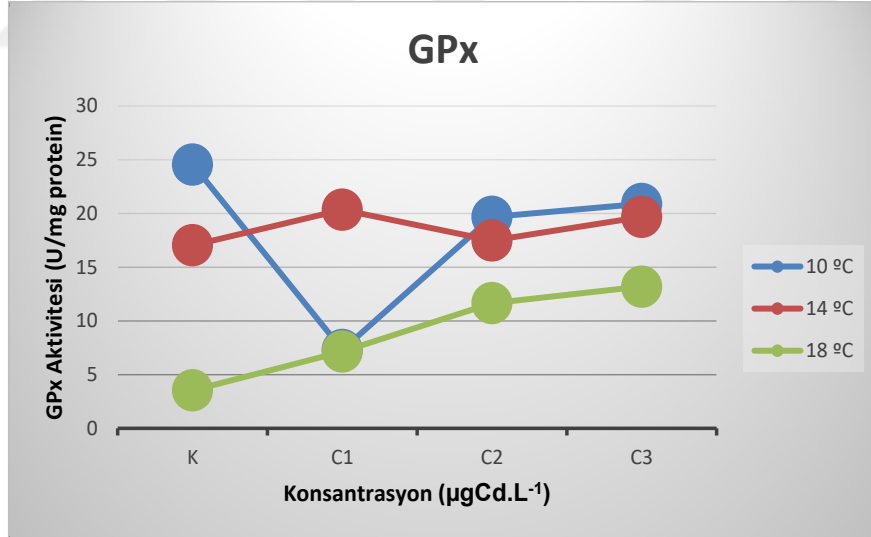
X,Y,Z Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli (p<0,05) bulunmuştur.

Cd konsantrasyonlarının uygulandığı *G. pulex*'te, 14 °C'deki grup hariç tüm gruplarda sıcaklık arttıkça GPx enzim düzeylerinde azalma tespit edilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Sıcaklığa bağlı olarak farklı konsantrasyonlarda Cd uygulanmış grupların GPx enzim aktiviteleri

Sıcaklığa bağlı olarak konsantrasyon arttıkça GPx enzim düzeylerinde de artma tespit edilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Cd konsantrasyonuna bağlı olarak farklı sıcaklıklarda GPx enzim aktiviteleri

3.3. Oksidan Düzeyleri ve Antioksidan Aktiviteleri Ortalama Değerlerinin Sıcaklığa Bağlı Olarak Değerlendirilmesi

Yapılan bu çalışmada belirlenen sıcaklıklarda, subletal Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılan *G. pulex*'te MDA düzeyi, GPx ve CAT enzim aktiviteleri ortalamalarının sıcaklıkla değişimi incelenmiştir (Tablo 3.6).

Tüm konsantrasyonlara ait ortalama MDA düzeyi 14 ve 18 °C sıcaklıklarında en yüksek ortalama değeri göstermiş ve aralarında istatistiksel açıdan benzerlik görülmüştür ($p>0,05$). 10 °C sıcaklıktaki ortalama değer daha düşük olup, istatistiksel olarak 10 ve 14 °C sıcaklıktaki ortalama MDA düzeylerinden farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tüm konsantrasyonlara ait ortalama CAT enzim aktivitesi en yüksek 18 °C sıcaklıkta tespit edilmiştir. 10 ve 14 °C sıcaklıktaki ortalama değerler daha düşük olup, 18 °C sıcaklıktaki enzim aktivitesi ile aralarında istatistiksel açıdan önemli farkın olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tüm konsantrasyonlara ait ortalama GPx enzim aktivitesine ait en düşük değer 18°C sıcaklıkta tespit edilmiştir. 10 ve 14 °C sıcaklıktaki ortalama değerler daha yüksek olup, 18 °C sıcaklıktaki enzim aktivitesi ile aralarında istatistiksel açıdan önemli farkın olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 3.6. Sıcaklığa bağlı olarak ortalama oksidan ve antioksidan değerleri

	Sıcaklık (°C)		
	10	14	18
MDA	1,26 ± 0,18 ^a	1,93 ± 0,18 ^b	2,19 ± 0,18 ^b
CAT	21,92 ± 8,36 ^a	112,73 ± 8,36 ^b	120,23 ± 8,36 ^b
GPx	18,10 ± 0,23 ^b	18,63 ± 0,23 ^b	8,88 ± 0,23 ^a

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Gruplara ait biyokimyasal analiz verilerinin ortalama değerleri sıcaklığa bağlı olarak incelenmiştir. Sıcaklığın artmasıyla MDA düzeyleri ve CAT enzim aktivitesinde artış, GPx enzim aktivitesinde ise azalmanın meydana geldiği tespit edilmiştir.

3.4. Oksidan Düzeyleri ve Antioksidan Aktiviteleri Ortalama Değerlerinin Konsantrasyona Bağlı Olarak Değerlendirilmesi

Yapılan bu çalışmada subletal Cd konsantrasyonlarına farklı sıcaklıklarda maruz bırakılan *G. pulex* örneklerinin MDA düzeyi, GPx ve CAT enzim aktiviteleri ortalamalarının konsantrasyonla değişimi incelenmiştir (Tablo 3.7).

MDA düzeyi C₃ grubu ortalama konsantrasyon değeri K ve C₁ grupları MDA ortalama değerlerinden yüksek olup, aralarındaki farkın istatistiksel açıdan önemli (p<0,05) olduğu belirlenmiştir. En düşük MDA enzim aktivitesi K grubunda tespit edilmiş ve C₁ konsantrasyon grubu ile benzerlik göstermiştir (p>0,05).

CAT enzim aktivitesi C₃ grubu ortalama konsantrasyonun değeri K ve C₁ grupları CAT enzim aktivitesi ortalama değerlerinden yüksek olup, aralarındaki farkın istatistiksel açıdan önemli (p<0,05) olduğu belirlenmiştir.

GPx enzim aktivitesi C₃ konsantrasyonu ortalama değeri diğer grupların GPx enzim aktivitesi ortalama değerlerinden yüksek olup, aralarındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir (p<0,05).

Tablo 3.7. Konsantrasyona bağlı olarak oksidan ve antioksidan değerleri

	Konsantrasyon (µg.l ⁻¹)			
	K	C1	C2	C3
MDA	1,28 ± 0,21 ^a	1,55 ± 0,21 ^{ab}	1,98 ± 0,21 ^{bc}	2,38 ± 0,21 ^c
CAT	50,47 ± 9,65 ^a	81,04 ± 9,65 ^b	97,12 ± 9,65 ^{bc}	111,19 ± 9,65 ^c
GPx	15,04 ± 0,26 ^b	11,59 ± 0,26 ^a	16,26 ± 0,26 ^c	17,91 ± 0,26 ^d

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05).

Gruplara ait biyokimyasal analiz verilerinin ortalama değerleri Cd konsantrasyonuna bağlı olarak incelenmiştir. Konsantrasyonlardaki artışın MDA düzeyleri, CAT ve GPx enzim aktivite üzerinde artışa sebep olduğu tespit edilmiştir.

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Dünya genelinde, çeşitli kirleticiler tarafından toprak ve su gibi ekosistemlerin kontaminasyonları hem insan sağlığı hem de diğer tüm canlılar için önemli bir problemdir. Çünkü gerek zirai mücadelede kullanılan pestisitler gerekse de çeşitli sanayi faaliyetlerinden kaynaklanan ve kimyasal kirlenmeye neden olan birçok faktör, ekosistemlerde besin zincirinin en alt halkasındaki canlılardan besin zincirinin en üst halkasındaki canlılara biyolojik birikim yolu ile taşınabilmektedir (Demirci, 2013).

Toksikoloji, fiziksel veya kimyasal etmenlerin canlı organizmalar üzerindeki zarar ve tahrip edici etkilerini inceler. Bu bağlamda akuatik toksikoloji testlerinin amacı sucul canlılar üzerinde herhangi bir maddenin hangi konsantrasyonda organizmalara zarar verip vermediğini belirlemektir (Karataş, 2005).

Ağır metallerin canlılar üzerine olan etkileri ve antioksidan aktiviteleri üzerine yapılmış çalışmalar olmasına rağmen bu çalışmalar günümüzde küresel ısınmayla birlikte etkisi üzerinde pek durulmamıştır. Yapılmış çalışmalarda daha çok sıcaklığın etkisi veya sanayileşmenin etkisi şeklinde ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Bu sebeple küresel ısınma ve sanayileşmenin canlılar üzerine kombine etkisinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu etkilerin oksidatif stres parametrelerinin ne yönde etkilediğinin belirlenmesi ile sonraki benzer çalışmalar için de belirleyici bir rol alacağı düşünülmektedir.

Yapılan bu çalışmada farklı su sıcaklıklarında ve farklı konsantrasyonlarda Cd'a maruz bırakılan *G. pulex* indikatör canlısının LC₅₀ değerleri araştırılmıştır.

Felten ve ark. (2008b), Cd'un *G. pulex*' teki fizyolojik ve davranışsal yanıtları üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada kuyu suyu kullanarak 12 °C sıcaklıkta Cd'a maruz bıraktıkları *G. pulex* bireyleri için akut toksisite deneyleri yapmışlar ve LC₅₀ değerlerini 96. saatte 82,1 µgL⁻¹, 120. saatte 37,1 µgL⁻¹, 168. saatte 21,6 µgL⁻¹ ve 264. saatte 10,5 µgL⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Deney süresince bireylerin davranışları gözlemlendiğinden bireyleri beslenmeye devam etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise, 10, 14 ve 18 °C sıcaklıklarda Cd'un *G. pulex* için 96. saatteki LC₅₀ değerleri sırasıyla 51,79 ± 1,2 µgL⁻¹, 49,03 ± 1,3 µgL⁻¹ ve 54,43 ± 1,3 µgL⁻¹ olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılıklar kullanılan suyun fiziko-kimyasal özelliği, suyun sıcaklığı, canlının büyüklüğü, canlı organizmanın beslenmemesi veya Cd'un uygulanan formundan kaynaklanabilir.

Zauke (1982), Cd'un *G. tigrinus* (Sexton 1939) doğal popülasyonlarında mevsimsel değişimi ile seçilen çevresel değişkenler arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Korelasyon analizi sonuçlarında, *G. tigrinus*'taki gözlenen Cd değişiminin Cd konsantrasyonu ve su sıcaklığına bağlı olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte, kısmi korelasyon katsayısı analiziyle su sıcaklığının en önemli faktör olduğunu bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada *G. pulex* bireylerinin sıcaklığa bağlı Cd toksisite değerlerinin sıcaklıkla ilişkili olduğu, bu açıdan benzer sonuçlara varıldığı tespit edilmiştir.

Oksijenden tek elektronun indirgenmesiyle meydana gelen serbest radikaller değişik birçok reaksiyon sonucunda hücre ve dokularda oluşur. Bu radikallerin vücutta aşırı üretilmesi sonucu protein, lipit, karbonhidrat ve nükleik asitler yıkıma uğrar. Ayrıca DNA zarar görür, enzimlerin aktivasyonu bozulur ve membran geçirgenliği olumsuz etkilenir. Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olan lipit peroksidasyon, serbest radikallerin uyardığı hücre yıkımında önemli bir mekanizmadır (Benzer, 2001).

Başlıca yumuşakçalar olmak üzere omurgasız hayvan türlerinde ROS'un üretimine bağlı olarak oluşan antioksidan cevap ve oksidatif hasarla ilgili pek çok çalışma yapılmıştır (Correia ve ark., 2003). Fakat krustaselerin bu mekanizmaları hakkında fazla bilgi yoktur.

Diğer yüksek omurgalılar ve balıklarda olduğu gibi gammaruslarda da lipit peroksidasyonun bir ürünü olan MDA hücresel bileşenlerde meydana gelen oksidatif zararın en önemli göstergesidir (Kandemir ve ark., 2011).

Chandran ve ark. (2005), Cd ve Zn'nin *Achatina fulica*'daki antioksidan enzim aktivitesini araştırmışlardır. Çalışma verilerine göre artan Cd konsantrasyonu ile birlikte MDA seviyelerinin de arttığını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da Cd konsantrasyonuna bağlı olarak MDA seviyeleri artmış, çalışma verileri paralellik göstermiştir.

Sroda ve Cossu-Leguille (2011) mevsimsel değişikliklerin *G. roeselli*'de enerji rezervleri, antioksidan belirteçleri ve cinsiyet ayrımının etkisini araştırmışlardır. Erkeklerde su sıcaklığındaki artışın MDA düzeyleri ile pozitif yönde ($r = 0,87$; $n = 57$; $p < 0,05$) korelasyon içerdiğini bildirmişlerdir. Sıcaklığın yükselmesine paralel olarak MDA düzeyinin, arttığını bildirmişlerdir. Dişiler için ise, MDA düzeylerinin doğrudan sıcaklık ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada erkek bireyler kullanmış olmamız ve sıcaklıkla birlikte MDA seviyelerindeki artış yönüyle, yapılan bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Gismondi ve ark. (2012), Microsporidia parazitleri ile enfekte ettikleri gammaridlere Cd uygulamışlardır. MDA düzeylerinin enfeksiyon durumuna bakılmaksızın, kontrol grubuna göre Cd uygulanan dişilerde çok daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, enfeksiyonun MDA düzeylerini önemli ölçüde etkilediği ve Cd uygulamasıyla etkileşim içinde oldukları sonucuna varılmıştır. Enfekte olmayan dişilerde, Cd konsantrasyonu ile MDA düzeyinin paralel şekilde yükseldiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da MDA düzeyinin artan Cd konsantrasyonu ile arttığı bulunmuş olup, araştırmacıların bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Velinger ve ark. (2013), Cd ve As'ın tek ve birlikte uygulandığı *G. pulex*'te MDA düzeylerinin kontrol grubuna oranla yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, bireylerde artan Cd konsantrasyonu ile MDA düzeyinde önemli derecede (% 67,2) arttığını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da hem sıcaklık hemde konsantrasyon artışına bağlı olarak MDA düzeylerinde artış meydana geldiği bulunmuştur. Bu bağlamda her iki çalışma verileri paralellik göstermektedir.

Katalaz, yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Bu enzim, esas olarak peroksizomlarda daha az olarak da sitozolde ve mikrozomal fraksiyonlarda bulunmaktadır. H_2O_2 'i suya ve oksijene parçalayarak lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu rol oynamaktadır. Katalaz, hidrojen peroksit (H_2O_2) varlığında bir takım küçük substrat moleküllerine karşı peroksidatik aktivite göstermektedir (Paller, 1991).

Yapılan bu çalışmada farklı sıcaklık ve Cd'un subletal konsantrasyonları için CAT enzim aktivitesindeki değişimler belirlenmiştir.

Franco ve ark. (2006), kahverengi midye (*Perna perna*)'ye Zn ağır metalini farklı konsantrasyonlarda (0, 10, 30 ve 100 μ M) uygulamışlardır. Sonuç olarak, *P. perna*'ya sadece 10 μ M konsantrasyon Zn uygulandığında CAT enzim aktivitesinin, oksidatif stres koşullarında tepki verdiğini, artan konsantrasyonla organizmanın etkilenmediğini bildirmişlerdir. Ayrıca, artan konsantrasyonla birlikte CAT enzim aktivite değerleri de artmıştır. Yapılan bu çalışma ile CAT enzim aktivite değerlerindeki farklılığın, denemede tatlısu organizması kullanılması ve farklı ağır metal uygulanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sroda ve Cossu-Leguille (2011) mevsimsel değişikliklerin *G. roselii*'de CAT enzim aktivitesine etkilerini araştırmışlar ve en yüksek enzim aktivitesini yüksek su sıcaklığında (yaz aylarında) belirlemişlerdir. Sıcaklık açısından CAT enzim aktivitesindeki değişimler bu çalışma ile benzerlikler göstermiştir.

Func ve ark. (2013), 96 saat süreyle farklı konsantrasyonlarda Ag uygulanan *G. fossarum*'da yüksek mortalite nedeniyle, CAT ve Se-GPx aktiviteleri ile LPO düzeyini belirlemiştir. Çalışma sonucuna göre 96. saat uygulamasında CAT enzim aktivitesinin azaldığını ve kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğunu, ancak Ag uygulamasının 48. saat ile kontrol grubu arasında enzim aktivite düzeyinde azalma olmasına rağmen, istatistiksel açıdan anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacıların, Cd uygulanan gruplarda sıcaklık ve konsantrasyonların artışı ile CAT enzim aktivitelerinin arttığı tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada da artan sıcaklık ve konsantrasyon ortalama değerlerine göre CAT enzim aktiviteleri artmıştır. Yapılan çalışmalar bu yönüyle benzerlik göstermektedir.

Rajeshkumar ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada süt balıklarının (*Chanos chanos*) farklı dokularında ağır metallerin antioksidanlara ekspresyonu araştırmışlardır. Ağır metal kirliliği bulunan bölgelerdeki balıkların SOD, CAT, GPx, GST ve GR seviyelerinin arttığını, diğer yandan kirli olmayan bölgelerde, tüm enzim seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, artan konsantrasyona bağlı olarak CAT, GPx ve MDA seviyelerinde artış olduğu belirlenmiştir. Denemizin canlı materyali bir tatlısu omurgasız olmasına rağmen, süt balıklarında yapılan çalışmanın enzim aktivitelerindeki değişimleri ile benzerlik göstermiştir.

Süperoksit, hidroksil ve hidrojen peroksit radikali gibi reaktif oksijen türleri özellikle mitokondri membranlarındaki oksidatif olayların bir sonucu olarak normal metabolizma sırasında oluşmaktadır. Fakat bu radikaller, vücuttaki çeşitli antioksidanlarla inhibe edilmektedirler. Bu antioksidanların en önemlilerinden biri glutatyon peroksidaz (GPx)'dir. Sitozolde yerleşik bir enzim olan GPx, tetramer yapıda 4 selenyum atomu içeren bir enzimdir. GPx hidrojen peroksit ve inorganik hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar (Piner, 2009).

Yapılan bu çalışmada farklı sıcaklık ve Cd'un subletal konsantrasyonları için GPx enzim aktivitesindeki değişimler belirlenmiştir.

Erdem (2002), çeşitli çevresel kirlenmelerin *G. pulex*'teki Se-bağımlı ve Se-bağımsız GPx enzim aktivitesine olan etkilerini ve enzimin bazı biyokimyasal özelliklerini araştırmıştır. Deney sonuçlarına göre Se-bağımlı GPx aktivitesinin Cu^{+2} ve Zn^{+2} iyonları ile azaldığını bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada da artan Cd konsantrasyonu ile birlikte GPx enzim aktivitesinin düştüğü belirlenmiştir.

Chandran ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada Cd ve Zn'nun *A. fulica*'daki antioksidan enzim aktivitesini araştırmışlardır. Araştırmacılara göre artan Cd konsantrasyonu ile birlikte GPx seviyelerinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışma *G. pulex*' uygulanan Cd verilerine göre GPx seviyelerinde azalmıştır. Çalışmalar bu yönleri ile paralellik göstermiştir.

Franco ve ark. (2006), kahverengi midye (*Perna perna*)'de Zn ağır metali farklı konsantrasyonlarının (0, 10, 30 ve 100 µM) etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak 10µM Zn uygulananların GPx düzeyleri 0, 30 ve 100 µM Zn uygulanan konsantrasyonlara kıyasla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da artan Cd konsantrasyonu ile birlikte GPx enzim aktivitesinin düştüğü belirlenmiştir. Bu farklılığın sebebi tür, metabolizma ve metal farklılığıyla açıklanabilir. Yapılan bu çalışma sonuçlarına göre artan Cd konsantrasyonu *G. pulex*'in GPx enzim aktivitesini inhibe ettiği belirlenmiştir.

Kim ve ark. (2014a), yaptıkları çalışmada *Tigriopus japonicus* sucul omurgasızlarda bazı ağır metallerin oksidatif stres ve ısı şok proteinlerini ve bunlar arasındaki etkileşimi araştırmışlardır. Cd için belirlemiş oldukları iki farklı konsantrasyonların GPx enzim aktivitelerinde indüksiyona sebep olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada da artan Cd konsantrasyonlarının *G. pulex* bireyleri üzerindeki GPx aktivite seviyelerinde azalmaya sebep olduğu, bu değişimin Cd maruziyetine bağlı olduğu belirlenmiştir.

Kim ve ark. (2014b), ağır metallerin *Euplotes crassus* üzerine, antioksidan genlerin akut etkilerini araştırmışlardır. Araştırma bulgularına göre, GPx mRNA seviyelerinde Cd konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışmada da GPx enzim aktivitesinde artan konsantrasyonla birlikte azalma olduğu tespit edilmiştir.

Rodrigues ve ark. (2014), antropojenik etki altında kalmış Şeria Irmağında yaşayan yengeçleri (*Carcinus maena*) biyobelirteç olarak kullanmış, bu organizmaların üzerine metallerin etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda GPx aktivitesinde önemli bir fark bulamamışlardır. Yapılan bu çalışmada Cd konsantrasyonuna ve sıcaklığa bağlı olarak elde edilen GPx seviyelerindeki fark, çalışmanın deneysel olması, konsantrasyon ve organizma farklılığı ile açıklanabilir.

Prokić ve ark. (2016), Ponjavica Nehrinden ve Danube-Tisza-Danube Kanalından yakaladıkları kurbağaların dokularında ağır metal kirliliğinin antioksidan cevabını

araştırmışlardır. Çalışmadan elde ettikleri verilere göre SOD, GPx ve GR aktivitelerinin istatistiksel olarak yüksek olduğunu, antioksidan sistem parametreleriyle en fazla etkileşim sergileyen elementlerin Ni, Zn, Hg, Cr ve Cd'un olduğunu bildirmişlerdir. Cd'un antioksidan parametreleriyle etkileşiminin elde edilen verilerle benzerlik göstermiştir. Yapılan bu çalışmada kabuklu omurgasız canlı materyali kullanılmasına rağmen, omurgalı canlı olan kurbağalarla yapılan çalışmanın enzim aktivitelerindeki değişimler ile benzerlik göstermiştir.



5. ÖNERİLER

Bir metal, herhangi bir canlının biyolojik sistemine girdiği zaman, o canlının üzerindeki yaşamsal işlevlerine zarar verme kapasitesine sahiptir (Hu, 2000; Kayhan, 2006). Sucul ortamlarda konsantrasyonu artan ağır metaller sucul organizmalar tarafından alınarak besin zinciri vasıtasıyla üst trofik düzeylere taşınmaktadır. Su ortamından yaşayan canlılarda ağır metal birikiminin incelenmesi, ağır metallere karşı duyarlılığı yüksek türlerin belirlenmesinin yanı sıra organizmada meydana gelen yapısal ve işlevsel bozuklukların belirlenmesi bakımından da önem taşımaktadır. Ağır metallerin subletal konsantrasyonlarda etkisinde kalan sucul organizmaların karaciğer, böbrek ve dalak gibi metal metabolizması ve metal detoksifikasyonu ile ilgili organlarında yüksek düzeyde birikmektedir. Canlılar aleminin ortak serveti olan su rezervleri ve barındırdıkları sucul organizmalar, kaliteli protein arayışı içinde olan toplumların gıda deposudur. Tüm toplumların ana hedefi, endüstrileşmenin yanında, yaşam kalitesini bozmadan, taze ve temiz ürünlerle sağlıklı beslenme olanaklarını korumak ve sürekliliğini sağlamak olmalıdır (Kayhan, 2006).

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

Bütün sucul ortamlarda, içerisinde barındırmış oldukları organizmalara zarar verebilecek her çeşit yabancı maddelerin karıştırılmaması insan sağlığı açısından, çevre canlı ilişkileri açısından, ekonomik açıdan ve organizmaların sağlığı açısından büyük önem arz etmektedir (Atamanalp ve Yanık, 2003). Dolayısıyla gerekli ön tedbirler ve yasal düzenlemelerin yanısıra güçlü bir denetimin olması elzemdir. Su yaşamının temel kaynaklarından biri olup yaşamın idamesi için olmazsa olmazıdır. Bu sebeple doğal su kaynaklarımızın her çeşit kirleticilerden korunması zorunludur.

Bu araştırmada elde edilen bulguların sonuçlarına göre;

- Kadmiyum ağır metalinin *G. pulex* sucul indikatör canlı bireylerine çok düşük konsantrasyonlarda dahi toksik etki yaptığı tespit edilmiştir. Bu nedenle alıcı

ortamlara karışma olasılığı yüksek gelişmiş sanayiye sahip kentlerde ağır metallerin doğaya salınımı kontrol altında tutulması, salınım esnasında sucul ortamdaki metallerin ortama bulaştırılmadan giderimi üzerine araştırma ve yatırımların yapılması tavsiye edilebilir.

- Yetkili kurum ve kuruluşlarca belirlenen, su kalite sınıflarına ait Cd'un alıcı ortamlardaki konsantrasyonu limit değerlerinin üstüne çıktığında sucul organizmalarda ani ölümler olabileceği gibi canlı organizmada birikim yaparak av avcı ilişkisiyle balık, kuş ve insanlara taşınabilme riskleri gözardı edilmemelidir.
- Bu tür çalışmalarda toksikolojik maddelerin canlı bireyler üzerindeki etkisi sıcaklığın artışıyla daha da arttığı belirlenmiştir. Günümüz çevre sorunlarından olan küresel ısınmanın silsile yoluyla tüm sucul ve kara canlılarını etkileyeceği tahmin edilmektedir. Toksik maddelerin canlı üzerindeki zarar veren birikim limitlerinin artan sıcaklıkla değişebildiği ve çok daha düşük düzeylerde maddelerin canlı organizmalar üzerinde hasara yol açabileceği üzerinde durulmalıdır. Hatta bu değerler artan sıcaklık ortalamalarıyla ilgili kurumlarca değerlendirilip güncellenmelidir.
- Deneysel çalışmalarda laboratuvar ortamında toksik maddeye maruz bırakılan canlı bireylerin iç güdüsel (avlanma, beslenme, üreme vb.) davranışlarının da etkilenebileceği ve birçok canlı neslinin tehlike altında olabileceği için farklı davranış şekillerindeki değişimlerin de belirlenmesi önerilir.
- Ağır metal gibi toksik maddelerin oluşturduğu kirliliklerin, kirliliğe duyarlı indikatör türler ve gıda zincirinin basamaklarındaki canlılar kullanılarak bu tür çalışmalar yaygınlaştırılmalıdır.
- Toksik maddelerin canlılara öldürücü etkisinin yanında canlının toksik madde tarafından nasıl etkilendiği, nörotoksik ve genotoksik etkileri ve bu etkilerin canlıların dokularında ne gibi değişiklikler yaptığının da bilinmesi için histopatolojik çalışmalar yaygınlaştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emmami, B., Fooladian, F., Zafarlet K.,** 2003. Increasing Intracellular cAMP and cGMP Inhibits Cadmium-induced Oxidative Stress in Rat Submandibular Saliva. *Comp. Biochem. Physio, C: Comp. Pharma.*, 135(3): 331-336.
- Adam, O., Badot, P.M., Degiorgi, F., Crini, G.,** 2009. Mixture toxicity assessment of wood preservative pesticides in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(2): 441-449.
- Aebi, H.,** 1984. Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105: 121-126.
- Ak, H., Dingiloğlu, T., Habif, N.,** 1994. Plasma lipid peroxidation, Vit. E, superoxide dismutase and glutathione peroxidase alterations in coronary atherosclerosis. *Tr J Med Sci*, 26: 11-15.
- Alonso, Á., De Lange, H.J., Peeters, E. T.,** 2009. Development of a feeding behavioural bioassay using the freshwater amphipod *Gammarus pulex* and the multispecies freshwater biomonitor. *Chemosphere*, 75(3): 341-346.
- American Public Health Association (APHA),** 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, 1998, 20th Edition.
- Arthur, J.W.,** 1980. Review of freshwater bioassay procedures for selected amphipods. *Aquatic Invertebrate Bioassays*, ASTM International.
- Atamanalp, M., Yanık, T.,** 2003. Salmonidlerde yapılan toksikolojik çalışmalar. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 34(1): 105-110.
- Asri, F. Ö., Sönmez, S., Çıtak, S.** 2007. Kadmiyumun çevre ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Derim*, 24(1): 32-39.
- Bat, L., Akbulut, M., Çulha, M., Gündoğdu, A., Satılmış, H.H.,** 2000. Effect of temperature on the toxicity of zinc, copper and lead to the freshwater amphipod *Gammarus pulex pulex* (L., 1758). *Turkish Journal of Zoology*, 24(4): 409-416.
- Batista, D., Pascoal, C., Cássio, F.,** 2012. Impacts of warming on aquatic decomposers along a gradient of cadmium stress. *Environmental pollution*, 169: 35-41.
- Benzer, F.,** 2001. *Fasciola hepatica* ile enfekte koyunların kan ve karaciğer dokularında arginaz, nitrik oksit, bazı antioksidant enzimler ve lipid peroksidasyon düzeyleri ile karaciğer arginaz enziminin biyokimyasal özellikleri. *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Elazığ, 121s.

- Bertin, G., Averbeck, D.,** 2006. Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie*, 88(11): 1549-1559.
- Beutler, E.,** 1975. Red cell metabolism, a manual of biochemical methods. *Grune Strottan*, New York.
- Boudet, L.C., Polizzi, P., Romero, M.B., Robles, A., Gerpe, M.,** 2013. Lethal and sublethal effects of cadmium in the white shrimp *Palaemonetes argentinus*: a comparison between populations from contaminated and reference sites. *Ecotoxicology and environmental safety*, 89: 52-58.
- Brzóska, M. M., Moniuszko-Jakoniuk, J.,** 2001. Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food and Chemical Toxicology*, 39(10): 967-980.
- Brooks, S.J., Mills, C.L.,** 2003. The effect of copper on osmoregulation in the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 135(4): 527-537
- Cadenas, E.,** 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annual Review of Biochemistry*, 58(1): 79-110.
- Chandran, R., Sivakumar, A.A., Mohandass, S., Aruchami, M.,** 2005. Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, *Achatina fulica*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 140(3): 422-426.
- Chelikani, P., Fita I., Loewen, P.C.,** 2004. Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61(2): 192-208.
- Cold, A., Forbes V.E.,** 2004. Consequences of a short pulse of pesticide exposure for survival and reproduction of *Gammarus pulex*. *Aquatic Toxicology*, 67(3): 287-299.
- Correia, A.D., Costa, M.H., Luis, O.J. Livingstone, D.R.,** 2003. Age-related changes in antioxidant enzyme activities, fatty acid composition and lipid peroxidation in whole body *Gammarus locusta* (Crustacea: Amphipoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 289(1): 83-101.
- Çalta, M.,** 2001. Effects of aqueous cadmium on embryos and larvae of mirror carp. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 71(9).
- De Lange, H.J., Noordoven, W., Murk, A.J., Lürling, M.F.L.L.W., Peeters, E.T.H.M.,** 2006. Behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) to low concentrations of pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 78(3): 209-216.
- De Zwart, L.L., Meerman, J.H.N., Commandeur, J.N.M., Vermeulen, N.P.E.,** 1999. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 202-226.

- Del Valls, T.A., Blasco, J., Sarasquete, M.C., Forja, J.M., Gómez-Parra, A., 1998.** Evaluation of Heavy Metal Sediment toxicity in littoral ecosystems using juveniles of the fish *Sparus aurata*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 41(2): 157-167.
- Demirci, Ö., 2013.** Çeşitli pestisitlerin *Gammarus kischineffensis*'in antioksidan enzim sistemi ve bazı biyobelirteçler üzerine etkisi. *Doktora Tezi*, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 152 s.
- Demirsoy, A., 1999.** Yaşamın Temel Kuralları (Omurgasızlar/Böcekler Dışında). *Cilt II/Kısım I, Metaksan AŞ, Ankara*, 879-890.
- Duffus, J.H., 1981.** Environmental toxicology, *John Wiley*.
- Eaton, R.A., Hale, M.D.C., 1993.** Wood: Decay, pest and protection, *Chapman and Hall*, London 546
- Erdem, M., 2002.** Çeşitli çevresel kirleticilerin *Gammarus pulex*'deki Se-bağımlı ve Se-bağımsız Glutasyon proksidaz enzim aktivitelerine olan etkileri ve enzimin bazı kimyasal özellikleri. *Yüksek Lisans Tezi*, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 51s.
- Felten, V., Charmantier, G., Charmantier-Daures, M., Aujoulat, F., Garric, J., Geffard, O., (2008a).** Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* exposed to acid stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 147(2): 189-197.
- Felten, V., Charmantier, G., Mons, R., Geffard, A., Rousselle, P., Coquery, M., Geffard, O., (2008b).** Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) exposed to cadmium. *Aquatic Toxicology*, 86(3): 413-425.
- Franco, J.L., Trivella, D.B., Trevisan, R., Dinslaken, D.F., Marques, M.R., Bairy, A.C., Dafre, A.L. 2006.** Antioxidant status and stress proteins in the gills of the brown mussel *Perna perna* exposed to zinc. *Chemico-biological interactions*, 160(3): 232-240.
- Franco, L., Romero, D., García-Navarro, J.A., Teles, M., Tvarijonaviciute, A., 2016.** Esterase activity (EA), total oxidant status (TOS) and total antioxidant capacity (TAC) in gills of *Mytilus galloprovincialis* exposed to pollutants: analytical validation and effects evaluation by single and mixed heavy metal exposure. *Marine pollution bulletin*, 102(1): 30-35.
- Funck, J.A., Danger, M., Gismondi, E., Cossu-Leguille, C., Guérol, F., Felten, V., 2013.** Behavioural and physiological responses of *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda) exposed to silver. *Aquatic toxicology*, 142: 73-84.
- Geffard, A., Quéau, H., Dedourge, O., Biagiatti-Risboug, S., Geffard, O., 2007.** Influence of biotic and abiotic factors on metallothionein level in *Gammarus*

pulex. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: *Toxicology & Pharmacology*, 145(4): 632-640.

- Geffard, A., Sartelet, H., Garric, J., Biagianti-Risbourg, S., Delahaut, L., Geffard, O.,** 2010. Subcellular compartmentalization of cadmium, nickel, and lead in *Gammarus fossarum*: comparison of methods. *Chemosphere*, 78(7): 822-829.
- Gismondi, E., Rigaud, T., Beisel, J.N., Cossu-Leguille, C.,** 2012. Microsporidia parasites disrupt the responses to cadmium exposure in a gammarid. *Environmental pollution*, 160: 17-23.
- Giusto, A., Somma, L.A., Ferrari, L.,** 2012. Cadmium toxicity assessment in juveniles of the Austral South America amphipod *Hyaella curvispina*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 79: 163-169.
- Göktaş, Ö.,** 2007. Kadmiyumun neden olduğu oksidatif stres üzerine resveratrolün koruyucu etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Malatya, 72s.
- Güngördü, A.,** 2007. Karakaya Baraj Gölünün Su Kalitesinin Ekotoksikolojik Yaklaşımla Değerlendirilmesi. *Doktora Tezi*, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Malatya, 135s.
- Hu, H.,** 2000. Exposure to metals. Primary care: clinics in office practice, 27(4): 983-996.
- Issartel, J., Boulo, V., Wallon, S., Geffard, O., Charmantier, G.,** 2010. Cellular and molecular osmoregulatory responses to cadmium exposure in *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Chemosphere*, 81(6): 701-710.
- Kandemir, F., Benzer, F., Erisir, M., Yildirim, N.,** 2011. Malondialdehyde levels and glutathione peroxidase activities in the tissues of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* esch. 1823) in culture condition. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 21(2): 146-150.
- Karataş, M.,** 2005. Balık biyolojisi araştırma yöntemleri. Nobel Yayınları (772 s 498).
- Kayhan, F.E.,** 2006. Su ürünlerinde kadmiyumun biyobirikimi ve toksisitesi. *Su Ürünleri Dergisi* 23, (1-2): 215-220
- Kalaycı, Ş.,** 2010. SPSS uygulamalı çok değişkenli istatistik teknikleri, Asil Yayınları, Ankara.
- Katalay, S., Parlak, H.,** 2002. Su kirliliğinin, *Gobius niger* Linn., 1758 (Pisces: Gobiidae)'in kan parametreleri üzerine etkileri. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 19 (1-2):115-121.
- Kazancı, N., Girgin, S., Dügel, M., Oğuzkurt, D.,** 1997. Akarsuların çevre kalitesi yönünden değerlendirilmesinde ve izlenmesinde biyotik indeks yöntemi. İmaj Yayıncılık, Ankara, 100.

- Kim, B.M., Rhee, J.S., Jeong, C.B., Seo, J.S., Park, G.S., Lee, Y.M., Lee, J.S.,** 2014a. Heavy metals induce oxidative stress and trigger oxidative stress-mediated heat shock protein (hsp) modulation in the intertidal copepod *Tigriopus japonicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 166, 65-74.
- Kim, S.H., Kim, S.J., Lee, J.S., Lee, Y.M.,** 2014b. Acute effects of heavy metals on the expression of glutathione-related antioxidant genes in the marine ciliate *Euplotes crassus*. *Marine pollution bulletin*, 85(2): 455-462.
- Kocaçalışkan, İ. Bingöl, N.A.,** 2008. Biyoistatistik, Nobel Yayınları, Yayın No: 1305, Ankara.
- Köse, E.,** 2007. Enne Barajı'nda yaşayan balıklarda ağır metal birikiminin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya 70s.
- Lawrence, A.J., Poulter, C.,** 1998. Development of a sub-lethal pollution bioassay using the estuarine amphipod *Gammarus duebeni*. *Water Research*, 32(3): 569-578.
- Lowry, O.H., Rosenberough, N.J., Farr, A.L., Randal, R.J.,** 1951. Protein measurement with folinphenol reagent, *Journal of Biochemistry*, 193: 265 – 275.
- Manyin, T., Rowe, C.L.,** 2008. Modeling effects of cadmium on population growth of *Palaemonetes pugio*: Results of a full life cycle exposure. *Aquatic toxicology*, 88(2): 111-120.
- Mavelli, I., Rotilio, G.,** 1984. Oxygen free radicals and tumor cells. *Icosanoids and Cancer*: 1-10.
- Mol, S., Doğruyol, H.,** 2012. İklim değişikliğinin su ürünlerine ve tüketimine etkisi. *Journal of Fisheries Sciences*, 6(4): 341-356.
- Noël, L., Chafey, C., Testu, C., Pinte, J., Velge, P., Guérin, T.,** 2011. Contamination levels of lead, cadmium and mercury in imported and domestic lobsters and large crab species consumed in France: Differences between white and brown meat. *Journal of Food Composition and analysis*, 24(3): 368-375.
- Özbey, E.,** 2009. Radyasyona dirençli *Deinococcus radiodurans* ile *Escherichia coli*'de radyasyonun antioksidan sistem üzerine etkisinin araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya. 106s.
- Özden, S.,** 2006. Bazı pestisidlerin oksidatif stres oluşturma potansiyellerinin ve antioksidan sistemler üzerine etkilerinin sıçanlarda araştırılması, *Doktora Tezi*, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. 174s.

- Paller, M.S.**, 1991. Hydrogen peroxide and ischemic renal injury: effect of catalase inhibition. *Free Radical Biology and Medicine*, 10(1): 29-34.
- Palüzar, H.**, 2013. Pestisitlerin vücut savunma sistemi enzimleri üzerine etkilerinin in vitro incelenmesi. *Doktora Tezi*, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 142s.
- Piazza, V., Gambardella, C., Canepa, S., Costa, E., Faimali, M., Garaventa, F.**, 2016. Temperature and salinity effects on cadmium toxicity on lethal and sublethal responses of *Amphibalanus amphitrite nauplii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 123: 8-17.
- Piner, P.**, 2009. Lambda-Cyhalothrinin *Oreochromis niloticus*'da karaciğerde pipeonil bütosit modülatörlüğünde oksidatif stres potansiyelinin belirenmesi, stres proteinleri ve apoptozis üzerine etkileri. *Doktora Tezi*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 102s.
- Placer, Z.A., Cushman, L. Johnson, B.C.**, 1966. Estimation of products of lipid peroxidation (Malonyl dialdehyde) in biological fluids, *Analytical Biochemistry*, 16: 359-364.
- Poyraz, İ.**, 2001. Çeşitli Çevresel Kirleticilerin *Gammarus pulex* Glutatyon Redüktaz Enzimi Üzerindeki Biyokimyasal Etkileri. *Yüksek Lisans Tezi*, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 71s.
- Prato, E., Parlapiano, I., Biandolino, F.**, 2013. Sublethal effects of copper on some biological traits of the amphipod *Gammarus aequicauda* reared under laboratory conditions. *Chemosphere*, 93(6): 1015-1022.
- Prokić, M.D., Borković-Mitić, S.S., Krizmanić, I.I., Mutić, J.J., Vukojević, V., Nasia, M., Despotović S.G., Gavrilović B.R., Radovanović T.B., Pavlović S.Z., Saičić Z.S., Pavlović, S.Z.**, 2016. Antioxidative responses of the tissues of two wild populations of Pelophylax kl. esculentus frogs to heavy metal pollution. *Ecotoxicology and environmental safety*, 128: 21-29.
- Rajeshkumar, S., Mini, J., Munuswamy, N.**, 2013. Effects of heavy metals on antioxidants and expression of HSP70 in different tissues of Milk fish (*Chanos chanos*) of Kaattuppalli Island, Chennai, India. *Ecotoxicology and environmental safety*, 98: 8-18.
- Ritterhoff, J., Zauke, G.P.**, 1997. Influence of body length, life-history status and sex on trace metal concentrations in selected zooplankton collectives from the Greenland Sea. *Marine pollution bulletin*, 34(8): 614-621.
- Rodrigues, A.P., Oliva-Teles, T., Mesquita, S.R., Delerue-Matos, C., Guimarães, L.**, 2014. Integrated biomarker responses of an estuarine invertebrate to high abiotic stress and decreased metal contamination. *Marine environmental research*, 101: 101-114.

- Saygı, Ş.**, 2003. Deneysel toksikolojide toksisite testleri ve test sonuçlarının önemi. *Gülhane Tıp Dergisi (GTD) Gülhane Medical Journal (GMJ)*, 291.
- Sroda, S., Cossu-Leguile, C.**, 2011. Seasonal variability of antioxidant biomarkers and energy reserves in the freshwater gammarid *Gammarus roeseli*. *Chemosphere*, 83(4): 538-544.
- Sümbüloğlu, K.**, 1998. Biyoistatistik, Hatipoğlu Yayınevi, Yayın No: 53, Ankara.
- Tokatlı, C.**, 2012. Emet Çayı su, sediment ve bazı balık türlerinde ağır metal birikimlerinin araştırılması. *Doktora Tezi, Dumlupınar Üniversitesi*.
- Türkoğlu, M.** 2008. Van Gölünden alınan su, sediment ve İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas, 1811) örneklerinde bazı ağır metal düzeylerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, Van. 59s.
- Uğurlu, P., Ünlü, E., Satar, E.I.**, 2015. The toxicological effects of thiamethoxam on *Gammarus kischineffensis* (Schellenberg 1937) (Crustacea: Amphipoda). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39(2): 720-726.
- URL-1**, 2016 <https://www.google.com.tr/maps/@39.0917745,39.7985657,9.25z?hl=tr> (erişim tarihi 04.04.2016)
- Vellinger, C., Parant, M., Rousselle, P., Immel, F., Wagner, P., Usseglio-Polatera, P.**, 2012. Comparison of arsenate and cadmium toxicity in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*). *Environmental Pollution*, 160: 66-73.
- Vellinger, C., Gismondi, E., Felten, V., Rousselle, P., Mehennaoui, K., Parant, M., Usseglio-Polatera, P.**, 2013. Single and combined effects of cadmium and arsenate in *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda): understanding the links between physiological and behavioural responses. *Aquatic Toxicology*, 140: 106-116.
- Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., Beyersmann, D.**, 2003. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology*, 192(2): 95-117.
- Welton, J.S., Clarke, R.T.**, 1980. Laboratory studies on the reproduction and growth of the amphipod, *Gammarus pulex* (L.). *The Journal of Animal Ecology*, 581-592.
- Wildi, W., Dominik, J., Loizeau, J. L., Thomas, R. L., Favarger, P. Y., Haller, L., Perroud, A., Peytremann, C.**, 2004. River, reservoir and lake sediment contamination by heavy metals downstream from urban areas of Switzerland. *Lakes & Reservoirs: Research & Management*, 9(1): 75-87.
- Xuereb, B., Noury, P., Felten, V., Garric, J., Geffard, O.**, 2007. Cholinesterase activity in *Gammarus pulex* (Crustacea Amphipoda): characterization and effects of chlorpyrifos. *Toxicology*, 236(3): 178-189.

- Yanbeyi, S.**, 1999. Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. *Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun*, 88s.
- Yonar, M.E.**, 2008. *Yersinia ruckeri* ile enfekte edilen gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın tedavisinde propolisin kullanılması, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 201s.
- Zauke, G.P.**, 1982. Cadmium in Gammaridae (Amphipoda: Crustacea) of the rivers Werra and Weser—II: Seasonal variation and correlation to temperature and other environmental variables. *Water Research*, 16(6): 785-792.



ÖZGEÇMİŞ

Rize Merkez Kendirli Beldesinde 1979 yılında doğdu. İlköğretim ve orta öğrenimini tamamladıktan sonra 1999 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Trabzon Meslek Yüksek Okulu Elektronik Programından Elektronik Teknikeri unvanı ile mezun oldu. 2000-2004 Eğitim Öğretim yıllarında KTÜ Rize Su Ürünleri Fakültesinde lisans öğrenimini tamamlayarak Su Ürünleri Mühendisi unvanını aldı. Yüksek lisans eğitimini 2009- 2012 yılları arasında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalında tamamladı. 2010 yılında Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesinde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı ve halen bu görevi yürütmektedir.

