

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARAKAYA BARAJ GÖLÜNÜN SU KALİTESİNİN
EKOTOKSİKOLOJİK YAKLAŞIMLA DEĞERLENDİRİLMESİ**

ABBAS GÜNGÖRDÜ

**DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

MALATYA

2007

Tezin Başlığı: **Karakaya Baraj Gölünün Su Kalitesinin Ekotoksikolojik Yaklaşımla Değerlendirilmesi**

Tezi Hazırlayan: **Abbas GÜNGÖRDÜ**

Sınav Tarihi: 12.07.2007

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Biyoloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri

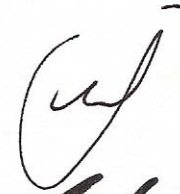
Prof. Dr. Kayahan FIŞKIN

Akdeniz Üniversitesi



Prof. Dr. Murat ÖZMEN

İnönü Üniversitesi



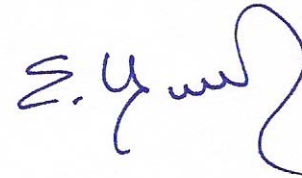
Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

İnönü Üniversitesi



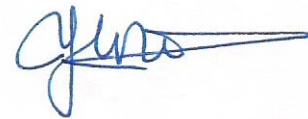
Prof. Dr. Elif YEŞİLADA

İnönü Üniversitesi



Prof. Dr. Muhittin YÜREKLİ

İnönü Üniversitesi



Prof. Dr. Ali ŞAHİN

Enstitü Müdürü

Onur Sözü

Doktora Tezi olarak sunduğum “**Karakaya Baraj Gölünün Su Kalitesinin Ekotoksikolojik Yaklaşım ile Değerlendirilmesi**” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.



Abbas GÜNGÖRDÜ

ÖZET

Doktora Tezi

KARAKAYA BARAJ GÖLÜNÜN SU KALİTESİNİN EKOTOKSİKOLOJİK YAKLAŞIMLA DEĞERLENDİRİLMESİ

Abbas GÜNGÖRDÜ

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

125 + ix sayfa

2007

Danışman: Prof. Dr. Murat ÖZMEN

Bu biyolojik izleme çalışması kapsamında, insan kaynaklı çevre kirliliğinin Karakaya Baraj Gölünde neden olduğu ekotoksikolojik sonuçlar değerlendirildi. Bu amaçla 2004-2006 yılları arasında farklı dönemlerde, farklı istasyonlardan sazan (*Cyprinus carpio*) balıkları ve su örnekleri alınarak çeşitli biyobelirteç değerleri ve suyun fiziko-kimyasal değerleri ölçüldü. Çalışmada karaciğer 7-Etoksirezorufin-O-deetilaz (EROD), glutasyon S-transferaz (GST), glutasyon redüktaz (GR), karboksilesteraz (CaE) aktiviteleri, karaciğer ve plazma aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) aktiviteleri, beyin asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi ve plazma vitellogenin (VTG) düzeyi saptandı. Ayrıca hepatosomatik indeks ve kondisyon faktörü de hesaplandı. Sultansuyu Baraj Gölünden de bir dönemle sınırlı olmak üzere balık ve su örnekleri alınarak, her iki bölge karşılaştırıldı. Laboratuvarda yapılan bir 17 β -östradiol uygulaması ile sazan balıklarında VTG induksiyonu test edilerek, Karakaya örnekleri ile karşılaştırıldı.

Biyobelirteç değerler karşılaştırıldığında ve bu değerler su fiziko-kimyasal parametreleri ile ilişkilendirilerek değerlendirildiğinde, bazı parametrelerin bu biyoizleme çalışması için daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Özellikle EROD, AChE, HSI, KF, VTG gibi değerlerin dönemsel değişimleri yansıttığı ve istasyonlar arasındaki farkın belirlenmesi açısından daha duyarlı biyobelirteçler olduğu ifade edilebilir. ALT, AST, LDH, GST ve GR aktiviteleri özellikle bazı dönemlerde kirlilikle ilgili önemli ipuçları sağlamaktadır. Su fiziko-kimyasal değerleri bulgularına bağlı olarak, Karakaya Baraj Gölünde kimyasal kirliliğin belli bir düzeyde olduğu, özellikle kurşun bakımından ileri derecede bir kirliliğin olduğu ifade edilmektedir. Nitrit, toplam organik karbon, bakır ve fosfat değerleri açısından da bazı istasyonlarda dönemsel bir kirliliğin olduğu görülmektedir. Hem biyobelirteç değerleri hem de suyun fiziko-kimyasal parametreleri özellikle Mart 2006'da kirliliğin önemli düzeye ulaştığına ve en kirli bölgenin Hasırcılar istasyonu olduğuna işaret etmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Karakaya Baraj Gölü, Biyolojik İzleme, *Cyprinus carpio*, Biyobelirteç, Su Kirliliği

ABSTRACT

PhD. Thesis

THE EVALUATION OF WATER QUALITY IN KARAKAYA DAM LAKE: AN ECOTOXICOLOGICAL APPROACH

Abbas GÜNGÖRDÜ

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

145 + ix pages

2007

Supervisor: Prof. Murat ÖZMEN (Ph.D)

Ecotoxicological results of man made environmental pollution in Karakaya Dam Lake were evaluated in this biomonitoring study. The carp (*Cyprinus carpio*) captured from different localities in the lake between 2004 and 2006 were used to determine selected biomarkers. Also, water samples from the same region were collected to determine some of its physico-chemical parameters. Liver 7-ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD), glutathione S-transferase (GST), glutathione reductase (GR), carboxylesterase (CaE) activities; liver and plasma aspartate and alanine aminotransferase (AST and ALT), lactate dehydrogenase (LDH) activities; plasma vitellogenin (VTG) concentration were determined. Furthermore, hepatosomatic index and condition factor were calculated. A similar study was also conducted for one season period in Sultansuyu Dam Lake to compare the results of these two nearby lakes. Some fish samples were exposed to 17 β -estradiol in laboratory conditions for induction of VTG and results were compared to fish samples of Karakaya Dam Lake.

Comparison of the selected biomarker results and physico-chemical analysis of water showed that the selected markers were most suitable for this biomonitoring study. Especially EROD, AChE, HIS, CF and VTG results showed good correlation and more sensitivity with sampling seasons and station differences. ALT, AST, LDH, GST and GR activities were also represented further evidence about water pollution. Depending on the physico-chemical analysis results of water, we assumed that lead being the most contributing pollutant, Karakaya Dam Lake is polluted by a number of pollutants. In this regard, nitrite, total organic carbon level, copper and phosphate values were also determined as seasonal pollutants in some stations. Both biomarker values and physico-chemical parameters of water showed that the dam lake was mostly polluted in March 2006 and the most polluted station was Hasircilar region.

KEY WORDS: Karakaya Dam Lake, Biomonitoring, *Cyprinus carpio*, Biomarker, Water Pollution

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında yardım, öneri ve desteğini esirgemedi beni yönlendiren, çalışma konusunun belirlenmesinde ve çalışma süresince karşılaşılan deneysel ve teorik sorunların çözümünde büyük emeği olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Murat ÖZMEN'e;

Tez çalışması boyunca uyarı ve önerileri ile beni yönlendiren Tez İzleme Komitesi Üyeleri, değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA ve Sayın Prof. Dr. Elif YEŞİLADA'ya

Özellikle arazi çalışmalarında büyük emeği olan Adıyaman Üniversitesi, Eğitim Fakültesi Öğretim Elemanlarından, arkadaşım Öğr. Grv. Ertan YOLOĞLU'na;

Çalışma boyunca bana destek olan Eğitim Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Ayşe BİRHANLI'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca çalışma süresince hayatımı çekilir kılmak için büyük özveride bulunan, istemeyerek de olsa ihmal ettiğim, mutluluğumun kaynağı sevgili eşim ADALET'e ve oğlum ASAF'a teşekkür ederim.

Bu çalışma TÜBİTAK-Çevre, Atmosfer, Yer ve Deniz Bilimleri Araştırma Grubu (TÜBİTAK-ÇAYDAG, Proje No: 104Y220) tarafından önemli oranda, İnönü Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje No: 2004/89) tarafından da kısmi olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Çalışma Alanı.....	2
1.2. Biyolojik İzleme ve Biyobelirteçler.....	3
1.3. Endokrin Bozucu Kimyasallar (EBK'ler).....	6
1.4. Tatlı Su Ekosistemlerinin Biyoindikatörleri Olarak Balıklar.....	8
1.4.1. <i>Cyprinus carpio</i> (Sazan).....	10
1.4.2. Balıklarda üremenin kontrolü.....	12
1.4.2.1. Östrojen.....	13
1.5. Çevresel Risk Değerlendirmelerde Kullanılan Balık Biyobelirteçleri.....	14
1.5.1. Biyotransformasyon enzimleri.....	15
1.5.1.1. Sitokrom P4501A (EROD: 7-Etoksirezorufin- <i>O</i> -deetilaz).....	17
1.5.1.2. Glutasyon S-transferaz.....	18
1.5.1.3. Biyotransformasyon indeksi.....	20
1.5.2. Glutasyon redüktaz.....	20
1.5.3. Esterazlar.....	21
1.5.3.1. Karboksilesteraz.....	22
1.5.3.2. Asetilkolinesteraz.....	24
1.5.4. Laktat dehidrogenaz.....	26
1.5.5. Aminotransferazlar.....	27
1.5.6. Vitellogenin indüksiyonu.....	29
1.5.7. Fizyolojik Parametreler.....	32
1.6. Suyun Fiziko-Kimyasal Değerleri.....	33
2. KAYNAK ÖZETİ.....	34
2.1. Arazi Çalışmaları.....	34
2.2. Laboratuvar Çalışmaları.....	40
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	47
3.1. Balık Örneklerinin Sağlanması.....	47
3.2. Biyolojik Parametrelerin Hesaplanması.....	48
3.3. Karaciğer Doku Homojenatlarının Hazırlanması.....	48
3.4. Beyin Doku Homojenatlarının Hazırlanması.....	49
3.5. Enzimatik Çalışmalar.....	49
3.5.1. Karaciğer GST aktivitesi.....	50
3.5.2. Karaciğer GR aktivitesi.....	50
3.5.3. Karaciğer ve beyin CaE aktivitesi.....	50
3.5.4. Karaciğer ve plazma LDH aktivitesi.....	51
3.5.5. Karaciğer ve plazma AST aktivitesi.....	51
3.5.6. Karaciğer ve plazma ALT aktivitesi.....	51
3.5.7. Karaciğer mikrozomal EROD aktivitesi.....	52
3.5.8. Biyotransformasyon indeksinin hesaplanması.....	52
3.5.9. Beyin AChE aktivitesi.....	52
3.5.10. Karaciğer mikrozom, sitozol ve beyin örneklerinde total protein	

	tayini.....	53
3.6.	Plazma VTG Analizi.....	53
3.7.	Su Örneklerinin Fiziko-Kimyasal Değerleri	56
3.8.	Su Örneklerinin Toksisitesinin FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay- <i>Xenopus</i>) Testi ile Belirlenmesi.....	56
3.9.	Kontrol Çalışması.....	58
3.9.1.	Kontrol amaçlı balık örneklerinin sağlanması.....	58
3.9.2.	17- β östradiol uygulaması.....	59
3.10.	İstatistiksel Analizler.....	59
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	60
4.1.	Balık Örneklerinde Parametrik Bulgular.....	60
4.2.	Enzimatik Biyobelirteç Bulguları.....	63
4.2.1	Beyin AChE ve CaE enzim aktiviteleri.....	63
4.2.2.	Karaciğer GR, GST ve CaE enzim aktiviteleri.....	65
4.2.3.	Karaciğer ve plazma LDH, AST ve ALT enzim aktiviteleri.....	67
4.2.4.	Karaciğer mikrozomal EROD aktivitesi.....	70
4.3.	Plazma VTG Düzeyleri ile İlgili Bulgular.....	72
4.4.	Su Örneklerinde Saptanan Fiziko-Kimyasal Değerler.....	74
4.5.	FETAX Testi ile İlgili Bulgular.....	79
4.6.	Kontrol Çalışmasında Kullanılan Balık Örnekleri.....	80
4.6.1.	Kontrol çalışmasında kullanılan balık örnekleri ile ilgili bulgular.....	80
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	85
5.1.	Su Örneklerinin Fiziko-Kimyasal Değerleri ile İlgili Değerlendirmeler... ..	85
5.2.	Biyolojik Parametre Değerleri ile İlgili Değerlendirmeler.....	89
5.3.	Kontrol Çalışmaları ile İlgili Değerlendirmeler.....	103
6.	KAYNAKLAR.....	109
7.	ÖZGEÇMİŞ.....	123

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Çalışma alanı olan Karakaya Baraj Gölü ve örnek alınan istasyonlar.....	3
Şekil 1.2.	Endokrin bozucu olarak aktivite gösteren kimyasallara bazı örnekler.....	7
Şekil 1.3.	Çevresel kirleticilerin ekosistemi etkileme mekanizması.....	10
Şekil 1.4.	Aynalı sazan (<i>Cyprinus carpio</i>).....	11
Şekil 1.5.	Balıklarda genel üreme ve endokrin sistem.....	12
Şekil 1.6.	Dişi kemikli balıklarda oojenik protein sentezinde hipotalamus-hipofiz-gonad-karaciğer (HPGL) ekseninin şematik gösterimi.....	13
Şekil 1.7.	Karaciğer hücresinde ksenobiyotik bileşiklerin biyotransformasyonu.....	16
Şekil 1.8.	EROD tarafından katalizlenen deetilasyon reaksiyonu.....	18
Şekil 1.9	GST'nin katalizlediği ksenobiyotiklerle glutatyon konjugasyonuna iki örnek.....	19
Şekil 1.10.	Glutatyon Redüktazın GSH metabolizmasındaki yeri.....	21
Şekil 1.11.	CaE'nin pestisit metabolizmasındaki yeri.....	23
Şekil 1.12.	İmpuls iletimi ve AChE'nin impuls iletimini sonlandırma mekanizması.....	24
Şekil 1.13.	AChE enziminin yapısal özellikleri.....	25
Şekil 1.14.	Laktat dehidrogenaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon.....	26
Şekil 1.15.	Aminotransferaz tarafından katalizlenen reaksiyon.....	28
Şekil 1.16.	Oosit gelişimi ve farklılaşmasının hormonal düzenlenmesi ve yumurta olgunlaşması ve ovulasyon.....	30
Şekil 1.17.	Doğal ve çevresel östrojenlerin hücrede VTG üretimini indüklemeye mekanizması.....	31
Şekil 3.1.	Plazma VTG analizinde kullanılan sandviç ELİSA modeli.....	54
Şekil 3.2.	96 çukurlu mikropalakada pipetleme şeması.....	55
Şekil 4.1.	Balık örneklerinin avlanma dönemlerine göre plazma VTG (ng/ml) düzeyleri.....	72
Şekil 4.2.	Erkek balık örneklerinin üreme dönemlerine göre plazma VTG (ng/ml) düzeyleri.....	73
Şekil 4.3.	Dişi balık örneklerinin üreme dönemlerine göre plazma VTG (ng/ml) düzeyleri.....	73
Şekil 4.4.	Kontrol çalışmasına ait balıkların plazma VTG (ng/ml) düzeyleri...	84
Şekil 5.1.	Karakaya Baraj Gölünden alınan su örneklerinin ÇÖ ve sıcaklık değerlerinin istasyon ve dönem ortalamaları.....	86
Şekil 5.2.	Karakaya Baraj Gölünden alınan su örneklerinin Pb değerlerinin istasyon ve dönem ortalamaları.....	87
Şekil 5.3.	Karakaya Baraj Gölünden alınan su örneklerinin nitrit değerlerinin istasyon ve dönem ortalamaları.....	89
Şekil 5.4.	Karakaya Baraj Gölünden alınan sazan balıklarında HSI ve KF değerlerinin istasyon ve dönem ortalamaları.....	91
Şekil 5.5.	Karakaya Baraj Gölünden alınan sazan balıklarında AChE aktivitesinin istasyon ve dönem ortalamaları.....	93
Şekil 5.6.	Karakaya Baraj Gölünden alınan sazan balıklarında karaciğer ve beyin CaE aktivitelerinin istasyon ve dönem ortalamaları.....	95
Şekil 5.7.	Karakaya Baraj Gölünden alınan sazan balıklarında karaciğer mikrozomal EROD aktivitelerinin istasyon ve dönem ortalamaları..	96

Şekil 5.8.	Karakaya Baraj Gölünden alınan erkek sazan balıklarında karaciğer mikrozomal EROD aktivitesi ve plazma VTG değerlerinin istasyon ve dönem ortalamaları.....	98
Şekil 5.9.	Karakaya Baraj Gölünden alınan sazan balıklarında karaciğer GST ve GR aktivitelerinin istasyon ve dönem ortalamaları.....	100
Şekil 5.10.	Sultansuyu Baraj Gölünden alınan balık örneklerinde istatistiksel açıdan önemli olan bazı değerler.....	105
Şekil 5.11.	Her iki barajdan alınan balıklar karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli olan bazı değerler.....	106
Şekil 5.12.	Her iki barajdan alınan ve herhangi bir uygulama yapılmaksızın belli bir süre laboratuvarda yaşatılan balıklar karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli olan bazı değerler.....	107

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Kimyasal stres etkenlerine balıkların yanıtının ölçümü için bazı biyobelirteç örnekleri.....	15
Çizelge 4.1.	Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların dönemlere göre eşey durumları.....	60
Çizelge 4.2.	Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların biyolojik parametre değerleri.....	62
Çizelge 4.3.	Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların beyin AChE ve CaE spesifik aktiviteleri (nmol/dakika/mg protein).....	64
Çizelge 4.4.	Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların karaciğer GR, GST ve CaE enzim aktivite değerleri (nmol/dakika/mg protein).....	66
Çizelge 4.5.	Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların karaciğer LDH, AST ve ALT (nmol/dakika/mg protein) enzim aktivite değerleri.....	68
Çizelge 4.6.	Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların plazma LDH, AST ve ALT (U/L) enzim aktivite değerleri.....	69
Çizelge 4.7.	Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların karaciğer EROD aktivite (pmol/dakika/mg protein) ve Bİ değerleri.....	71
Çizelge 4.8.	Karakaya Baraj Gölünden alınan su örneklerinin fiziko-kimyasal değerleri.....	75
Çizelge 4.9.	Karakaya Barajından alınan su örneklerinin FETAX uygulaması sonuçları.....	79
Çizelge 4.10.	Kontrol çalışmasına ait balıkların eşey durumları.....	80
Çizelge 4.11.	Kontrol çalışmasına ait balıkların biyolojik parametre değerleri.....	81
Çizelge 4.12.	Kontrol çalışmasına ait balıkların beyin AChE ve CaE spesifik aktiviteleri (nmol/dakika/mg protein).....	81
Çizelge 4.13.	Kontrol çalışmasına ait balıkların karaciğer GR, GST ve CaE enzim aktivite değerleri (nmol/dakika/mg protein).....	82
Çizelge 4.14.	Kontrol çalışmasına ait balıkların karaciğer LDH, AST ve ALT enzim aktivite değerleri (nmol/dakika/mg protein).....	82
Çizelge 4.15.	Kontrol çalışmasına ait balıkların plazma LDH, AST ve ALT enzim aktivite değerleri (U/L).....	83
Çizelge 4.16.	Kontrol çalışmasına ait balıkların karaciğer EROD aktivite değerleri (pmol/dakika/mg protein).....	83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
ASTM	Amerikan Standartları Enstitüsü
B(a)P	Benzo(a)piren
Bİ	Biyotransformasyon indeksi
CaE	Karboksilesteraz
CAT	Katalaz
CDNB	1-kloro-2,4-dinitrobenzen
CYP	Sitokrom P450
ÇÖ	Çözünmüş oksijen
DTNB	5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit)
E ₂	17β-östradiol
EBK	Endokrin bozucu kimyasal
EROD	7-Etoksirezorufin- <i>O</i> -deetilaz
FAB	Flüoresan aromatik bileşik
FETAX	Frog Embryo Teratogenesis Assay- <i>Xenopus</i>
GnRH	Gonadotropin-salgılatıcı hormon
GOT	Glutamat oksaloasetat transaminaz
GPT	Glutamat piruvat transaminaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Redükte glutasyon
GST	Glutasyon S-transferaz
GSSG	Okside glutasyon
GtH	Gonadotropin veya gonadotropik hormon
HSİ	Hepatosomatik indeks
KF	Kondisyon faktörü
KOİ	Kimyasal oksijen istemi
LDH	Laktat dehidrogenaz
MFO	Karışık fonksiyonlu oksidaz
NAD ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotid (okside)
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid (redükte)
OC	Organoklorlu
OP	Organofosforlu
PAH	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
PCB	Poliklorlu bifeniller
PCDD	Poliklorlu dibenzo-p-dioksinler
PCDF	Poliklorlu dibenzofuranlar
SH	Standart hata
TOK	Toplam organik karbon
USEPA	Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı
VTG	Vitellogenin
U/L	Unite/litre
OD	Optik densite
mOD	Miliptik densite

1. GİRİŞ

Dünya nüfusu 20. yy. da üç katına ulaşmış iken, su kaynaklarının kullanımı altı kat artmıştır. Gelecek 50 yıl içerisinde, dünya nüfusunun % 40–50 oranında artacağı düşünülmektedir. Bu nüfus artışının endüstrileşme ve kentleşme ile birleşmesi, su isteğinin artması ile sonuçlanacak ve çevre üzerinde çok önemli olumsuz sonuçlara yol açacaktır. Geçmiş zamanlarla kıyaslandığında, günümüzde atık su üretimi ve bunun dağılımı zaten en üst seviyededir. İnsanlar tarafından su kullanımının artışı sadece endüstriyel ve tarımsal gelişim için gerekli olan su miktarını azaltmamakta, ayrıca sucul ekosistemler ve bunların bağımlı türleri için yıkıcı etkilere neden olmaktadır [1].

Çevre, endüstriyel tesisler ve yerleşim birimlerinden kaynaklanan yabancı organik bileşiklerle kirletilmektedir. Poliklorlu bifeniller (PCB), organoklorlu (OC) pestisitler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), poliklorlu dibenzofuranlar (PCDF) ve poliklorlu dibenzo-p-dioksinler (PCDD) gibi kirleticilerin binlercesi üretilmekte ve kısmen çevreye verilmektedir [2, 3]. Özellikle, gelişmekte olan ülkelerde arıtılmamış endüstriyel, evsel ve tarımsal atıklar önemli bir sorundur. Atık arıtım tesislerinden yoksun endüstriyel kuruluşlar, sıklıkla nehir yatakları ya da diğer suyolları üzerinde yer almaktadır. Bu kuruluşlar katı ve sıvı atıklarını doğrudan veya dolaylı olarak su kaynaklarına vermektedir, bu ise nehirler aracılığı ile denizlere ve okyanuslara taşınarak önemli su kirliliğine neden olmaktadır [4].

Kirleticiler doğal sulara ulaştıkları zaman sucul organizmaların organlarında birikerek zararlı etkiler meydana getirirler. Bu nedenle balıklar sudaki çevresel kirleticilere daha duyarlıdır ve kirleticiler önemli doku hasarları ile sonuçlanabilecek belirli fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerde önemli bozukluklara neden olabilir [5]. Son yıllarda çevresel kirliliğe bağlı olarak, populasyonlarda azalmalar olduğu ve özellikle erkek birey sayısının bazı türlerde önemli düzeyde azalış gösterdiği kaydedilmekte ve bunun başlıca nedeninin endokrin bozucu etkiye sahip ya da endokrin taklitçisi olarak rol oynayan maddeler (ksenoöstrojen ya da çevresel östrojen) olduğuna işaret edilmektedir [6–8].

Endokrin bozucu kimyasalların balık üremesi üzerindeki etkileri özellikle dikkat çekicidir[9–12]. Endüstriyel ve evsel sentetik ve doğal bileşiklerin önemli miktarı sucul çevreye verilmektedir. Bu nedenle bu bileşiklere maruz kalmanın biyobelirteçlerinin tanımlanması, çevrenin izlenmesi için kullanışlı araçlar sağlayacaktır. Çevresel östrojen

olarak tanımlanan maddelerin besin zinciri yolu ile insanlara kadar ulaşabildiği ve kanser dahil olmak üzere birçok hastalığa neden olduğu da bilinmektedir [13–18].

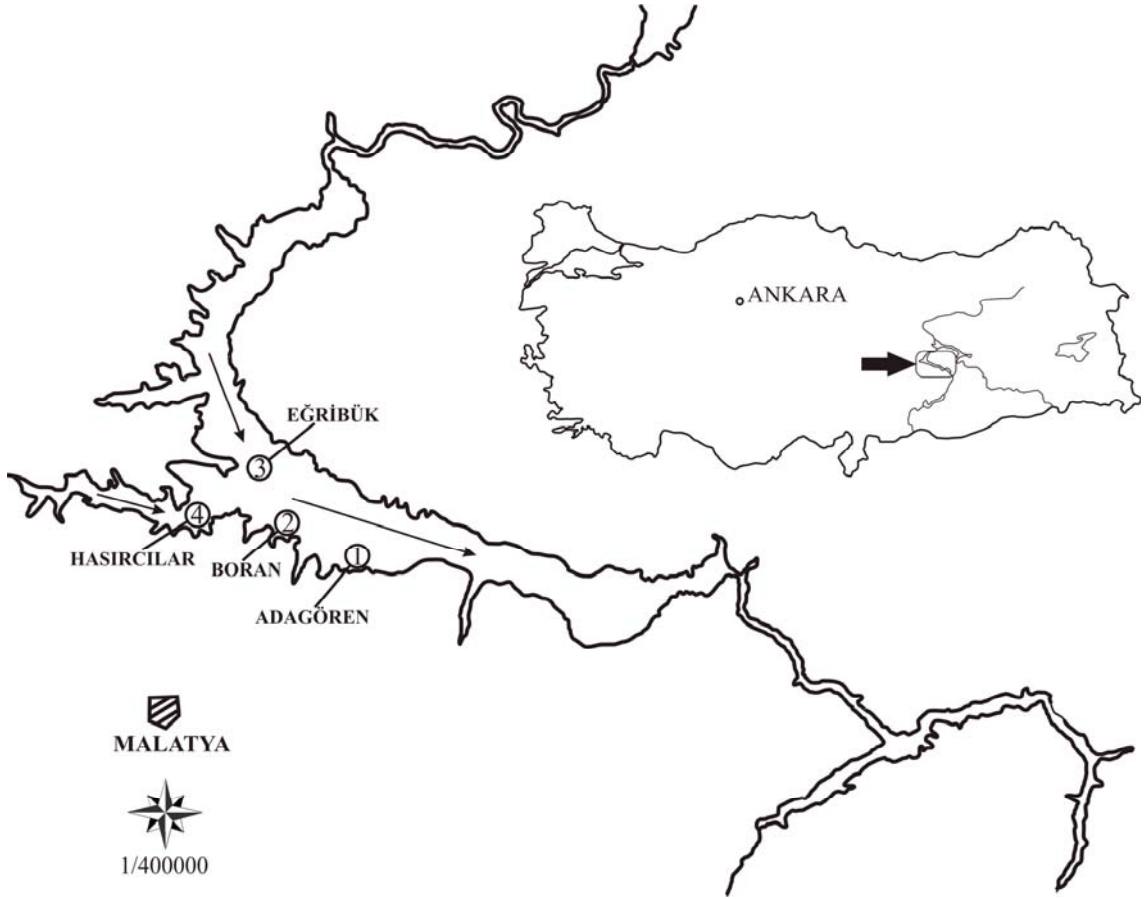
Kimyasalların yabancı türlerin üreme, büyüme ve gelişmesi üzerine etkilerini ve çeşitli metabolizma ve biyotransformasyon yeteneklerindeki değişimleri belirlemek için araştırmacılar önemli düzeyde çaba göstermektedir. Tüm dünyada son yıllarda bu amaçla ekotoksikolojik çalışmalar yürütülmesine ve çevresel kirleticilerin olumsuz etkilerinin ortaya konulmasına karşın, yurdumuzda bugüne kadar su kaynaklarımızın kirlilik düzeyi ile kirleticilerin ekotoksikolojik etkilerini saptamaya yönelik sınırlı sayıda araştırma gerçekleştirilmiş, buna karşın kirleticiler ile östrojenik aktiviteleri arasında ilişkiyi gösterebilecek bir araştırma yapılmamıştır.

Bu çevresel izleme çalışmasında, Karakaya Baraj Gölünde çeşitli biyobelirteç ve kimyasalların düzeylerinin ölçülmesi ile çevresel kirleticilerin dağılımının ve sazan balıkları üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve daha önce yapılan araştırmalar ile karşılaştırılarak ayrıntılı bir durum değerlendirmesinin yapılması amaçlanmıştır. Bulgulara bağlı olarak, yurdumuzda ilk kez bir ekosistemde olası çevresel östrojen etkisi gösteren maddelerin sazan balıkları üzerine etkilerinin de belirlenmesi hedeflenmiştir.

1.1. Çalışma Alanı

1987 yılında faaliyete geçen Karakaya Barajı, Fırat Nehir Havzası üzerinde bulunan önemli su rezervuarlarından biridir (Şekil 1.1). Göl, alanı bakımından Türkiye'nin üçüncü büyük baraj gölü olup, 38° 8'-39° 13' doğu boylamları ile 38° 47'-38° 8' kuzey enlemleri arasında yer almaktadır. Baraj gölünün ana akarsuyunu Fırat nehri teşkil etmekle birlikte, Sultansuyu ve Tohma Çayı da baraja önemli su girdisi sağlamaktadır.

Daha önce yapılan bazı çalışmalar Karakaya Baraj Gölünün önemli düzeyde kirlilik yükü taşıdığını göstermektedir [19–21]. Baraj gölünün yakınında Malatya şehir merkezi ve diğer yerleşim yerlerinin bulunması, kanalizasyon ve tarım alanlarından gelen kirleticilerin doğrudan göle girişi, kirliliğin ana nedenlerini oluşturmaktadır. 2003 yılına kadar özellikle Malatya Organize Sanayi Bölgesinden baraj gölüne önemli düzeyde atık su deşarjı yapılmıştır. Ayrıca 2005 yılına kadar Malatya şehir kanalizasyonu doğrudan baraja verilmiş ve bu da baraj için evsel kirleticilerin kaynağını oluşturmuştur.



Şekil 1.1. Çalışma alanı olan Karakaya Baraj Gölü ve örnek alınan istasyonlar

1.2. Biyolojik İzleme ve Biyobelirteçler

Çevreye herhangi bir materyalin girişi, bu maddenin insan veya doğal kaynaklardan köken almasına bağlı olmaksızın, biyolojik sistemler üzerinde bir etkiye sahiptir. Bu nedenle hem insanların çevreye zarar vermedeki ahlaki sorumlulukları ve hem de çevresel bozulmanın insanın ekosistemi kullanması ile tezat teşkil edebilmesi sebebiyle insan aktivitelerinin doğal ekosistemleri etkileyip etkilemediğinin belirlenmesi gerekir.

Günümüzde çevreye verilen kimyasalların yarattığı veya yaratacağı etkilerin belirlenmesi ve olası çözüm yollarının bulunması amacıyla çeşitli çevresel izleme çalışmaları yapılmaktadır. UNEP (United Nations Environmental Program: Birleşmiş Milletler Çevre Programı) tanımına göre çevresel izleme: karşılaştırılabilir ve standartlaşmış yöntemler kullanılarak, belirli bir zaman ve yer üzerinde önceden planlanmış bir programa göre bir ya da daha çok kimyasalın ya da biyolojik ögenin belirlenen amaçlar için gözlenmesidir [2]. Aşağıda belirtilen beş çevresel izleme

metodu, organizmalar için kirleticilerin yarattığı riskin ve ekosistemlerin çevresel kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılabilir.

Kimyasal İzleme (Kİ): Abiyotik çevresel kompartımanlarda bir dizi iyi bilinen kirleticinin düzeyinin ölçülmesi ile maruz kalmanın değerlendirilmesi.

Biyolojik Birikimin İzlenmesi (BBİ): Kritik bir alanda kritik dozun (biyolojik birikim) belirlenmesi veya biyotada kirletici düzeylerinin ölçülmesi ile maruz kalmanın değerlendirilmesi

Biyolojik Etkinin İzlenmesi (BEİ): Kısmen veya tamamen geri dönüşümlü biyobelirteçlerde erken olumsuz değişimlerin belirlenmesi ile maruz kalma veya etkinin değerlendirilmesi.

Sağlığın İzlenmesi (Sİ): Organizmalarda geri dönüşsüz hastalık ya da hasarların varlığını belirleyerek etkinin değerlendirilmesi.

Ekosistemin İzlenmesi (Eİ): Tür kompozisyonu, yoğunluğu ve çeşitliliği gibi bir envanterin yapılarak bir ekosistemin doğruluk-tamlığının belirlenmesi.

Kimyasal izleme çalışmalarında kimyasalların kabul edilebilir düzeylerinin belirlenmesinin birkaç olası eksikliği söz konusudur: (1) toksik maddelerin çevredeki biyolojik bulunurlukları, askıdaki partiküllere veya humik asitlere bağlanma nedeniyle değişebilir; (2) toksik maddelerin karışımları, belirlenmesi güç sinerjistik veya antagonistik etkilere neden olabilir; (3) maruz kalan organizma kirliliğin varlığına adapte olabilir ya da onun varlığında şiddetli bir şekilde duyarlılaşabilir.

Bu problemlerden sakınmanın olası mekanizmalarından biri, her bir alanda uygun toksik madde düzeyinin belirlenmesi, alana özgü su kalitesinin standardının belirlenmesi ve periyodik olarak bu standart değerlerin doğruluğunun yeniden değerlendirilmesi olabilir. Bu yöntem oldukça masraflı olacağından ikinci olarak biyolojik izleme veya biyoizleme (biomonitoring) önerilmektedir [22]. Çevre veya su kalitesindeki değişimleri değerlendirmede BBİ, BEİ, Sİ ve Eİ çalışmalarında organizmaların düzenli ve sistematik bir şekilde kullanımı biyolojik izleme olarak adlandırılmaktadır [23]. Van Gestel ve Van Brummelen [24], biyolojik izlemede aşağıda belirtilen biyobelirteçler, biyoölçümler, biyoindikatörler ve ekolojik indikatörler kullanılarak dört farklı biyolojik izleme düzeyinden oluşan basamaklı ve bütünlenmiş bir çevresel risk değerlendirme önermişlerdir.

Organizma altı düzeyde (sub-organizmal) (biyobelirteçler):

Biyokimyasal ve fizyolojik süreçler düzeyinde, normal sağlık durumundan sapmalar biyokimyasal teknikler kullanılarak belirlenebilir.

Organizmalar (biyoölçümler): Bireylerin hayatta kalma, gelişme ve üremeleri klasik ekotoksikite testlerinde veri (endpoint) olarak tercih edilir.

Populasyonlar (biyoindikatörler): Bu düzeyde etkiler, bir populasyonun yoğunluğu, yaş durumu veya genetik yapısındaki değişimler olarak belirlenir.

Ekosistemler (ekolojik indikatörler): Bu düzeyde, tür kompozisyonu, yoğunluğu ve çeşitliliğindeki değişimler komüniteler üzerinde kirleticilerin etkilerini gösterebilir.

Biyolojik izleme çalışmalarında kullanılan “biyobelirteç” terimi için birkaç tanım verilebilir, genel olarak kullanılan tanım “bir biyolojik sistemin kimyasal, fiziksel veya biyolojik, potansiyel bir tehlike ile etkileşimini yansıtan herhangi bir ölçüm” şeklindedir. Biyobelirteç, çevresel kimyasallara maruz kalma sonucu canlının verdiği biyolojik yanıtta bir değişim olarak da tanımlanır [2]. Biyolojik izleme çalışmasında kullanılacak biyobelirteçlerde olması gereken özellikler Stegeman vd. [25]’e göre aşağıdaki şekilde belirlenmiştir.

1. Biyobelirtecin ölçüldüğü deney yöntemi hassas, güvenilir ve görece basit olmalıdır;
2. Doğal değişkenlik ve kirleticinin indüklediği stres arasında ayırım yapılabilmesi için biyobelirtecin konsantrasyonu/aktivitesi için temel veri bilinmelidir;
3. Kontrolsüz değişimlerin (büyüme ve gelişme, üreme, besin kaynakları) etkilerinin en alt düzeye indirilmesi için test organizmasının temel biyolojisi/fizyolojisi iyi bilinmelidir;
4. Biyobelirteçleri etkileyen iç ve dış bütün faktörler bilinmelidir;
5. Biyobelirteç konsantrasyonundaki değişimlerin fizyolojik, ortama alışmadan mı yoksa genetik adaptasyondan mı kaynaklandığı bilinmelidir.
6. Biyobelirteç düzeyindeki değişimler, organizmanın “uyum gücü” ve “sağlığı” ile ilişkili olmalıdır.

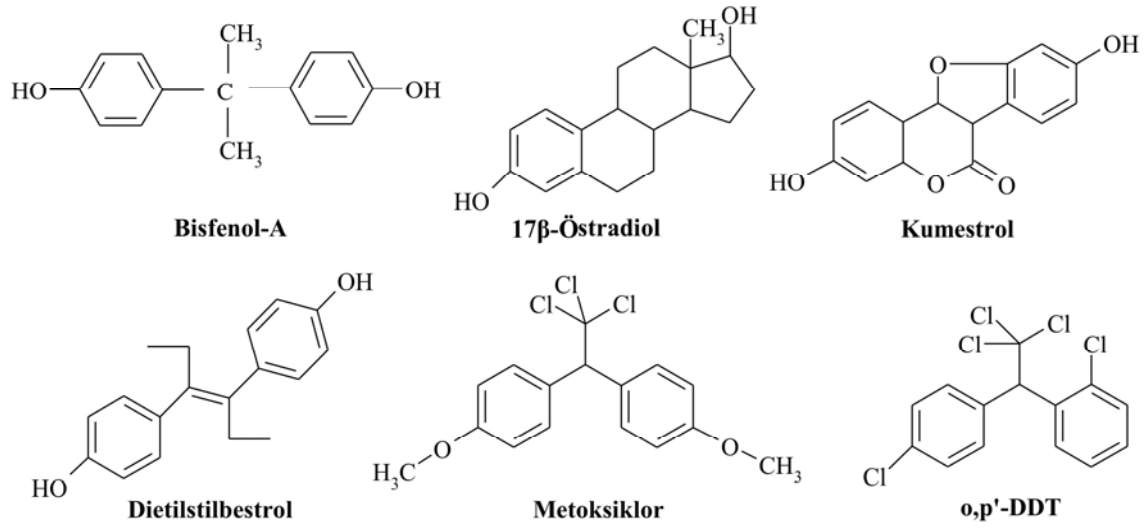
Biyobelirteçler kullanılarak yapılan biyolojik izleme çalışmaları geleneksel kimyasal ölçümlere göre önemli avantajlar sağlamaktadır [26, 27]. Bu avantajlar:

1. Biyobelirteç kullanımı ile çevrede kirleticilerin çevresel kaderi, biyolojik bulunurluğu ve kirleticilerin birbirileri ile etkileşimleri dikkate alınmaktadır. Böylece çevredeki kimyasal kalıntıların düzeylerinin basit ölçümü ile sağlanamayacak aktüel veya potansiyel zararlı etkiler üzerinde bilgi sağlanabilir.
2. Kirleticilerin veya stresin çevresel düzeyinin zamana bağlı değerlendirmesi sağlanabilir. Özellikle de çevrede kirletici düzeylerindeki dalgalanmaların yüksek olduğu göz önünde bulundurulursa, bu sayede sık örnekleme ve analizlere gereksinim azaldığından maliyet de azalır.
3. Kirleticiler ortamda parçalandıklarında veya belirlenemez düzeye azaldıklarında dahi biyobelirteç yanıtlar sıklıkla kalıcı olduklarından, rutin kimyasal izleme yapılamazsa da biyobelirteçler ile bu kimyasallar izlenebilir.
4. Dokularda kirleticilerin konsantrasyonunun daha yüksek oluşu kimyasal analizleri kolaylaştırır.
5. Maruz kalma ve olumsuz etkiler kirletici ile ilişkili olabilir, bu da etkilerin mekanizmalarının anlaşılmasını ve nedensel ilişki kurulmasını sağlar.
6. Biyobelirteçler çevresel kirliliğin neden olduğu olumsuz etkilerin komünite ve populasyonlar zarar görmeden önce, erken biyolojik değişimlerin değerlendirilmesinde iyi bir araç sağlar.
7. Ölçülen biyolojik etkiler çevresel sonuçlar ile ilgili olduklarından, elde edilen veriler çok daha anlamlı olacaktır. Böylece çevresel sorunlar doğrudan ve daha hızlı bir şekilde belirlenebilir.

1.3. Endokrin Bozucu Kimyasallar (EBK'ler)

Endokrin bozucular olarak adlandırılan ksenobiyotikler; alkilfenolik bileşikler, ftalatlar, polikarbonat-türevi ürünler, pestisitler, PCB'ler, dioksinler, organotin bileşikler, sentetik ve doğal östrojenler gibi farklı kimyasal gruplardan oluşmaktadır [28]. EBK'ler çok geniş bir madde grubudur. Bunların çoğu bir östrojen olan 17 β -östradiol (E₂) gibi hormonlardan oldukça farklı kimyasal yapılara sahiptir. Bu nedenle, bir maddenin sadece kimyasal yapısına bakılarak endokrin bozucu olup olmadığını

belirlemek mümkün değildir. E₂'ye yapısal olarak benzememesine rağmen, birçok eksoöstrojen, östrojenik yanıt oluşturabilmektedir (Şekil 1.2) [29].



Şekil 1.2. Endokrin bozucu olarak aktivite gösteren kimyasallara bazı örnekler

EBK'ler Kavlock vd. [30] tarafından kapsamlı bir şekilde tanımlanmıştır. Buna göre EBK'ler vücutta gelişim süreçlerinin düzenlenmesi ve homeostasisin sağlanmasından sorumlu doğal hormonların üretim, salgılanma, taşınma, metabolizma, bağlanma, etki ya da eliminasyonuna engel olan eksojen ajanlardır. Diğer bir tanım olan, Weybridge Workshop tanımına göre ise, EBK'ler, sağlıklı bir organizmada ya da onun ileriki nesillerinde endokrin fonksiyonun değişiminin sonucu olarak olumsuz sağlık etkilerine neden olan eksojen bileşiklerdir” [31]. “Endokrin bozucu” terimi hormon bozucu ile sinonim olarak kullanılmaktadır. Ayrıca endokrin bozucu kavramı, çevresel östrojen kavramını da kapsamaktadır.

EBK'ler ile ilgili verilerin çoğu Avrupa ve ABD'deki çalışmalardan gelmektedir, bununla birlikte balıklarda endokrin bozucular için kanıtlar Japonya ve Avustralya'da da rapor edilmiştir [32, 33].

Yabani tatlı su balıklarında endokrin bozucuların biyolojik etkileri; (1) erkek ve ergin olmayan (juvenil) balıklarda uygun olmayan kan vitellogenin (VTG) düzeyi, (2) inhibe olmuş ovaryum ya da testis gelişimi, (3) anormal kan steroid konsantrasyonları, (4) interseksüalite ve/veya kaslanma veya iç ve dış genital organın dişileşmesi, (5) bozuk üreme verimi, (6) vaktinden önce erkek ve/veya dişi olgunlaşması, (7) artan ovarian atresia (dişi balıklarda ovaryum işlevsizliği), (8) azalan yumurtlama başarısı, (9) yumurtadan çıkma başarısında azalma ve/veya larval hayatta kalmada düşüş, (10)

değişen büyüme ve gelişme (tiroid hormon-benzeri etkiler) ve (11) gelişimin erken dönemlerinde değişimler şeklinde özetlenebilir [34].

Yaşamın kritik periyotlarında maruz kalmanın süresi, doz, vücut ağırlığı, zamanlama bir endokrin bozucunun olumsuz etkilerinin değerlendirilmesi için göz önünde bulundurulması gereken önemli faktörlerdir. EBK'lerin etkileri, geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz, doğrudan doğruya (akut) ya da belirti göstermeyen şekilde olabilir ve bir zaman periyodu için ifade edilmeyebilir [35]. EBK'lerin toksisitesini açıklamak için çok sayıda mekanizma önerilmektedir. Sonnenschein vd. [36] pestisitlerin ve endüstriyel kimyasalların insan ve hayvanlarda endokrin ve üremeye dönük etkilerinin; (1) endojen hormonların taklidi (2) endojen hormonların etkilerini azaltma (antagonize etme) (3) endojen hormonların sentezini ve metabolizmasını bozma ve (4) hormon reseptörlerinin sentezini ve metabolizmasını bozma yeteneklerinden dolayı olduğunu bildirmişlerdir.

1.4. Tatlı Su Ekosistemlerinin Biyoidikatörleri Olarak Balıklar

Balıklar omurgalıların en başarılı guruplarıdır. Fizyoloji, anatomi, davranış ve ekolojilerinde yüksek derecede heterojenlik gösterirler. 3000'in üzerinde kıkırdaklı balık türü (Chondrichthyes), 20000'in üzerinde kemikli balık türü (Osteichthyes) ve birkaç ilkel çenesiz balık türü (lamprey ve hagfish) bulunmaktadır. Balık türlerinin sadece çok az bir bölümü tam olarak araştırılmıştır, özellikle cyprinidler ve salmonidler (her ikisi de kemikli balıklardır) literatürde baskındır [37].

Balıklar oldukça farklı ozmatik özelliklere sahip sucul çevrelerde (tatlı su, acı su ve deniz) yaşamaları nedeniyle, diğer omurgalılara göre sucul ortamın biyotik ve abiyotik faktörlerinin etkilerine özellikle duyarlıdır. Bu duyarlılık, balıkların bu ortamda daimi varlıkları, poikliotermal oluşları ve çok sayıda doğal ve sentetik molekülün çözünebildiği ve çeşitli fizyolojik veya biyolojik kompartımanlarda bunların transforme ve/veya konsantre edilebildiği sucul bir ekosistem ile etkileşimleri (sucul solunum, ozmoregülasyon, beslenme gibi) nedeniyledir [38].

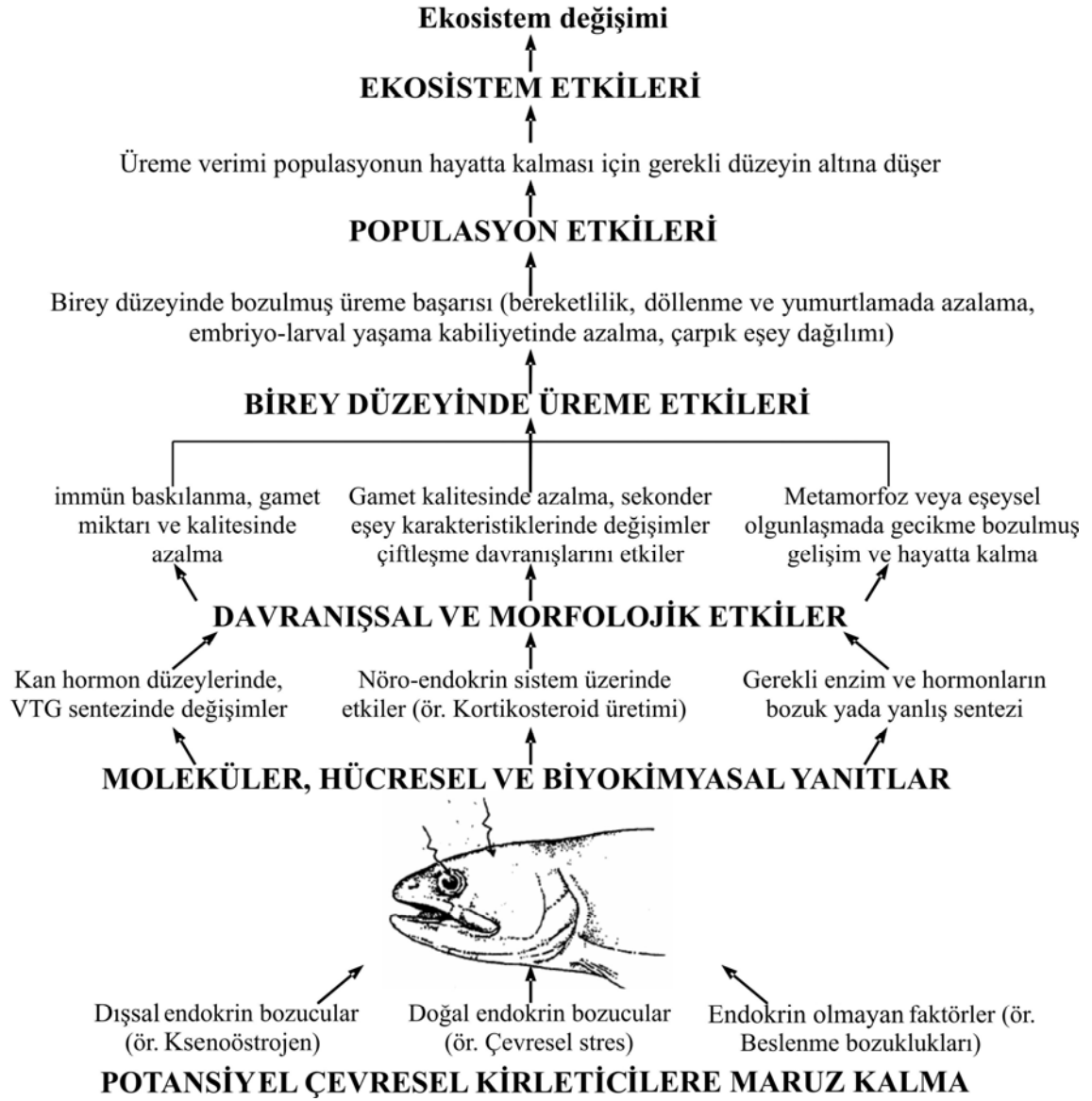
İnsanlarla karşılaştırıldığında, balıkların daha yüksek solunum oranı solungaçlarının solunum yüzeyleri ile su kirliliğine maruz kalmalarını arttırabilmektedir. Ek olarak, balık solungaçlarının diğer özellikleri (solungaçlarda kan ve suyun karşı akım sistemi, ince membranlar ve geniş yüzey alanı) sudan bileşiklerin alınımını ve kan akışına transferini arttırabilir [39]. Deniz kemikli balıkları, hipotonik

doğaları nedeniyle deniz suyu içerler, bu da balıkların sudaki maddelere maruz kalmalarını arttırabilmektedir. Bunun aksine, hiposmatik tatlı su balıkları (bu balıklar su içmezler) suyu vücutları içinde hareket ettirirler, bu nedenle su kirleticilerine maruz kalmanın bir yolu yaratılmış olmaktadır [37].

Balık türleri, büyük çeşitlilikleri ve filogenetik ağaçta özel konumları nedeniyle diğer omurgalılarla çok sayıda benzer fizyolojik özellikleri paylaşırlar. Balıklarda var olan ve türün varlığını devam ettirmek olarak tanımlanan üreme fonksiyonları bütün omurgalılara ait çok genel özelliklerdir. Gametogenetik süreçler, eşeyssel davranışlar, gonadların multipli endokrin, parakrin ve feromonol sinyallerin kaynağı olarak gerekli rolü, balıklarda ve diğer omurgalılarda benzerdir [38]. Bu nedenle balıklar sadece sucul çevrenin kalitesinin hassas indikatörlerini sunmakla kalmaz, diğer omurgalılar için gerekli biyolojik fonksiyonları bozabilecek dış bozulma mekanizmalarının anlaşılması için gerekli olan modelleri de sunar.

Çoğu balık türünde olgunlaşma süreci mevsimseldir. Yumurtlama yıllık üreme döngüsünde yalnız bir kere ortaya çıkar. Balık üremesi kimyasal ve fiziksel stres etkenlerine karşı çok hassastır. Vitellogenik döngünün bozulmasına neden olan herhangi bir faktör, bir bireyin üreme başarısını (yumurtaların sayısı, yumurtadan çıkma oranı ve embriyoların yaşama kabiliyeti) çarpıcı bir şekilde azaltabilme ve organizmanın bütün üreme döngüsünü etkileme potansiyeline sahip olabilmektedir. Bir kirleticinin üreme döneminin herhangi bir basamağı üzerinde subletal etkisi, bir organizmanın bütün üreme döngüsünü etkiler ve sırasıyla, türün popülasyonunda bir azalmaya yol açacak daha düşük üreme başarısı ile sonuçlanabilir (Şekil 1.3) [40, 41].

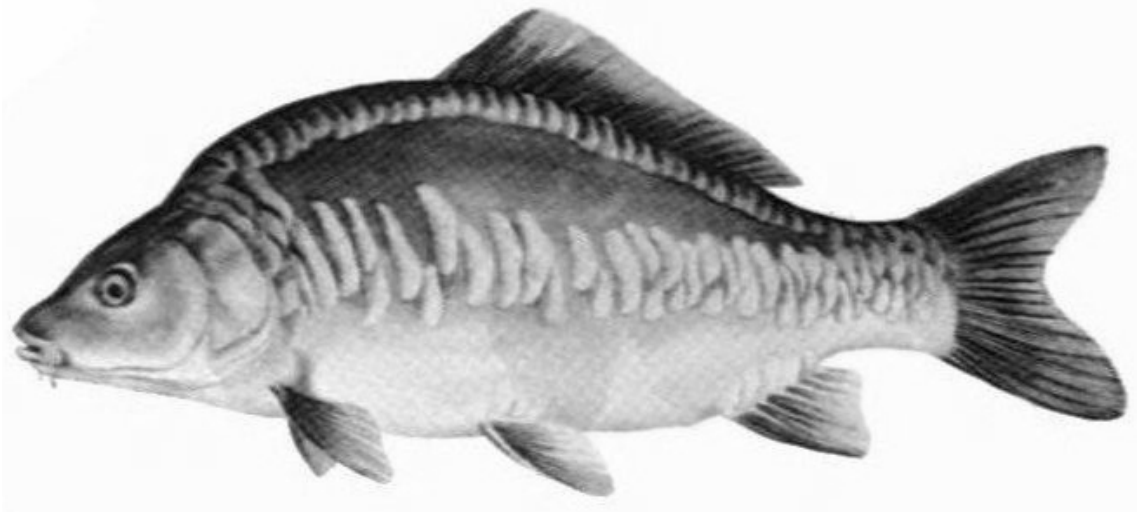
Balıklar sucul çevrenin hemen her yerinde bulunabilirler. Yaşam döngülerinde balıklar algler, rotiferler, mikrokrustaseler, mikroinvertebralar, yüksek bitkiler ve diğer balıklarla beslenebilirler, ayrıca kuşlar, amfibiler ve küçük memeliler tarafından avlanabilirler. Böylece sucul besin zincirinin alt düzeylerinden daha yüksek düzeylerine enerji transferini sağlamada önemli bir rol oynarlar [2]. Balıklarda toksik maddelerin alınması sonucu popülasyon birey sayısında azalma olduğu bilinmektedir [42]. Balık popülasyonlarında görülen değişimler daha ileri derecede ekosistemin bütününe etkileyecek düzeye ulaşabilir. Bu nedenle sucul ekosistemler üzerinde kimyasalların etkilerini öngörmek veya belirlemek amacıyla, balıklarda kirleticilerin indüklediği biyolojik etkilerin belirlenmesi büyük bir önem taşımaktadır.



Şekil 1.3. Çevresel kirleticilerin ekosistemi etkileme mekanizması [41]

1.4.1. *Cyprinus carpio* (Sazan)

Balıklar, çevre izleme programlarında düzenli şekilde kullanılan organizmalardandır. Omnivor bir balık olan sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) özellikle tatlı su ekosistemlerinde besin zincirindeki merkezi pozisyonu nedeniyle önemli, kozmopolit bir türdür (Şekil 1.4). Sazan yaygın, yüksek düzeyde kirlenmiş sulara dirençli, dinç bir balık türüdür [43].



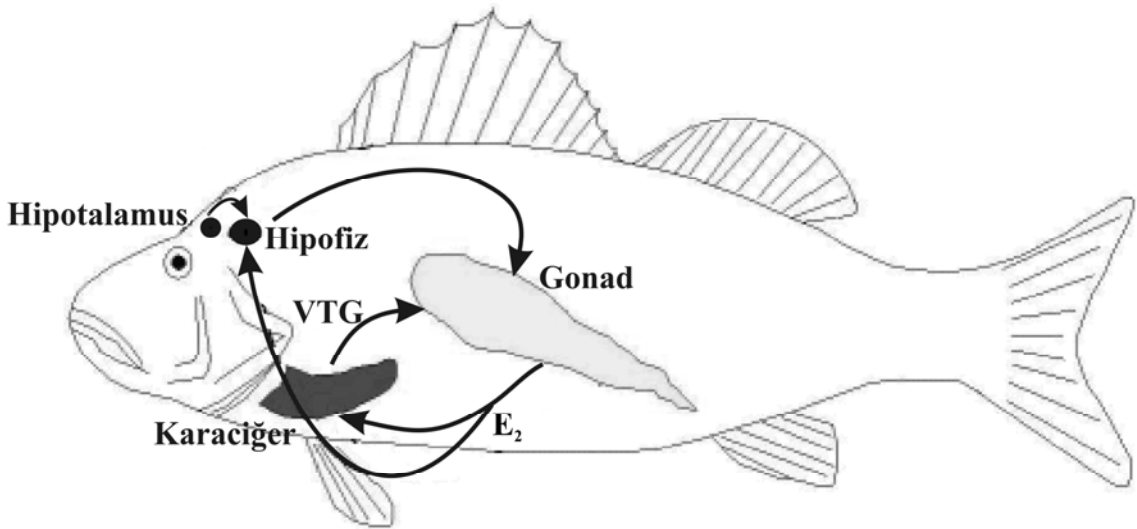
Şekil 1.4. Aynalı sazan (*Cyprinus carpio*)

Sazan Asya ve Güney Avrupa'ya özgü bir balık türü olmasına rağmen, insanlar tarafından taşınması ve başarılı bir istilacı olması nedeniyle dünyanın büyük kısmına yayılmıştır. Hızlı sıcaklık değişimleri ve yazın fotosentetik aktiviteler sonucu ortaya çıkan çözünmüş oksijen düzeyi dalgalanmalarını tolere edebilmeleri, geniş bir sıcaklık bandında yumurtlayabilmeleri (15–28.2 °C), bireylerin yumurtadan çıkma süresinin kısa olması (25 °C'de 2 gün), larval gelişimin çok hızlı olması ve bu nedenle avcı baskısından daha çabuk kurtulabilmeleri nedeniyle çok farklı ekosistemlerde başarılı bir şekilde yaşayabilmektedir. Ayrıca sucul vejetasyonu bozarak, suyun bulanıklılığını artırarak ve omurgasız kompozisyonunu değiştirerek habitat ve ekosistemi değiştirebilme kabiliyetleri nedeniyle saldırgan bir tür olarak kabul edilmektedir [44].

Sazan dış döllenme ile yumurtlayarak çoğalan bir cyprinid türüdür [45]. Tercihen 15-25 °C arasındaki su sıcaklıklarında, zeminde yaşayan omnivor bir balıktır. Üreme, Mayıs-Temmuz ayları arasında olur. Bu dönemde su sıcaklığı ortalama 20 °C'ye ulaşır. Genellikle eşeyssel olgunluğa erkekler 2–3 yaşında, dişiler ise erkeklerden bir yıl sonra ulaşır [46]. Degani vd. [47]'e göre, 150 gr ağırlığındaki sazan balıkları olgun değildir; 300 gr ağırlığındaki balıkların %46'sı olgundur; bu ağırlığın üzerindeki sazan balıkları eşeyssel olarak olgunlaşmıştır. Billard vd. [48] erkek sazan balıklarının gelişimini 4 yıl süre ile izlemiş ve balıkların 10 aylık (73.9 gr) iken tamamının eşeyssel olgunluğa erişmemiş olduğunu, 17 aylık (370.4 gr) iken gonadların belirginleştiğini ve balıkların hepsinin olgunlaştığını (sperm verimi gerçekleşmese de), ancak ilk sperm veriminin (spermiasyon: sperm sayısının en yüksek olduğu ve abdominal basınç ile sperm dışarıda belirlenebildiği aşama) 3 yaşında (752.8 gr) gerçekleştiğini belirlemiştir.

1.4.2. Balıklarda üremenin kontrolü

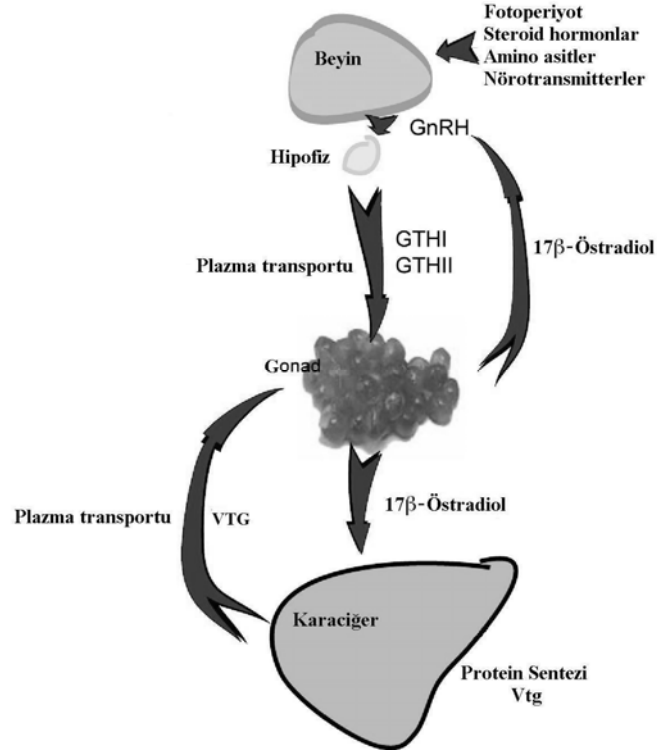
Balıkların ve daha yüksek omurgalıların endokrin sistemleri arasında hormonlar, hormon reseptörleri, hormonların aktivitelerini gerçekleştirdikleri intraselüler sinyalleme yolları ve endokrin sistemin düzenlenişi açısından önemli düzeyde bir homoloji söz konusudur [39, 49]. Omurgalıların üreme fizyolojisi memeli ve memeli olmayanlarda hipotalamus, hipofiz ve gonadları içeren üreme ekseninin geniş yapı ve fonksiyonu ile korunmuş ve benzerdir. Bütün omurgalılarda hipotalamustan bir gonadotropin-salgılatıcı hormonun (GnRH) salgılanması hipofizi, gonadlara steroid hormonların sentezi sinyalini veren, gonadotropik hormonların (GtH) salgılaması için stimüle eder (Şekil 1.5) [45].



Şekil 1.5. Balıklarda genel üreme ve endokrin sistem

En azından bazı balıklar, memelilerde dişi üreme döngüsünü düzenleyen folikül stimüle edici hormon (FSH) ve lüteinize edici hormonun (LH) analogları iki gonadotropine (GtH-I ve GtH-II) sahiptir (Şekil 1.6). GtH-I (FSH), ovaryumun östradiol üretimini stimüle eder ve vitellogenesis ve zonagenesiste yer alır. Östradiol ise karaciğer tarafından bir depo besini proteini olan VTG'nin üretimini indükler. GtH-II daha çok yumurtlama öncesi artar ve o zaman, progesteronun ovaryum tarafından sentezini uyarır. Progesteron ovulasyondan önce oositlerin olgunlaşmasını indükler. Progesteron ayrıca sperm olgunlaşmasında da önemli rol oynar, dişi memelilerde gerekli olan bir hormondur, ancak balıklardaki rolü bilinmemektedir. Ayrıca erkek balıklar, memelilerden farklıdır; testisin temel ürünü 11-ketotestosteron, testosterondan

daha fazla miktarda bulunur. Balıkların gonadları, memelilerde steroid hormonları metabolitlerine dönüştüren karaciğer ile ilişkili bazı özelliklere sahiptir. Bazı balık türlerinde bu metabolitler, karşı eşeyin üyelerine eşeyssel sinyal (feromonlar) olarak işlev görebilir [50].



Şekil 1.6. Dişi kemikli balıklarda oojenik protein sentezinde hipotalamus-hipofiz-gonad-karaciğer (HPGL) ekseninin şematik gösterimi [51]

1.4.2.1. Östrojen

Östradiol dişi kemikli balıklarda başlıca östrojendir. Androjen ve testosteron da ayrıca ovaryum tarafından üretilir [51]. Östrojenler çoğunlukla ovaryumda oositleri çevreleyen follikül hücreleri tarafından salgılanır. Östrojenler fenantren zinciri üzerinde şekillenmiş steroidal moleküllerdir. Omurgalıların bütün sınıflarında doğal olarak bulunan östrojenler E_2 , östron ve östrioldur. Steroid hormonlar lipofilik bir yapıya sahiptir ve hücre membranı boyunca diffüze olduktan sonra nükleusta steroid hormon reseptörleri olarak adlandırılan görece büyük proteinlere bağlanarak bilinen aktivitelerini meydana getirirler. Östrojenlerin temel fonksiyonları eşey belirlenmesi, eşeyssel farklılaşma ve eşeyssel gelişimdir. Balık, amfibi ve kuşlarda, memelilerden farklı olarak, dişi fenotip gelişimi östrojen kontrolü altındadır. Oysaki erkek fenotip östrojen

yokluğunda ortaya çıkar. Balık ve kuşların bütün gruplarında ve amfibilerin bazı gruplarında eşeyssel farklılaşma steroidlerden etkilenebilir ve kararsızdır [52].

Dişilerde östradiolü içeren başlıca steroid hormonlar, kolesterol varlığında ve biyosentetik enzim aktivitelere bağlı bir seri biyosentetik basamak boyunca kolesterolden köken alırlar. Östrojenin sonraki metabolitleri östron, 4-hidroksiöstron, 16 α -hidroksiöstron, östriol ve karaciğerde üretilen çok sayıda konjüge metabolitleri içerir [53].

Plazma östradiol konsantrasyonlarını bir değişken olarak ele alan çeşitli çalışmalar, laboratuvar ve doğal koşullarda organik kirleticilerin varlığında, birkaç istisna dışında sirküle olan östradiol'ün azaldığını göstermektedir. Organik kirleticilerin östradiol düzeylerini etkileme süreçleri tam olarak anlaşılmamıştır. PAH'ların varlığında plazma östradiol düzeyinin azaldığı saptanmıştır. Bu olayın safraya östradiol metabolitlerinin salgılanması ile artış gösterdiği de saptanmıştır. Förlin ve Haux [54]'a göre PAH'lara maruz kalma ile ilişkili olarak Faz I ve/veya Faz II enzim aktivitelerinin induksiyonu, katabolizmayı ve östradiolün safraya salgılanmasını artırır.

1.5. Çevresel Risk Değerlendirmelerde Kullanılan Balık Biyobelirteçleri

Sucul ekosistemlerde, potansiyel olarak zararlı bütün inorganik ve organik kirleticilerin izlenmesi imkânsız olduğundan, çevresel kalitenin güvenilir bir değerlendirmesini yapmak için alternatif izleme yöntemleri geliştirilmektedir. Son yıllarda balıklarda kirliliğin indüklediği yanıtların (biyobelirteç) çalışılması amacıyla çok sayıda araştırma gerçekleştirilmesine rağmen, çoğu, biyolojik izleme programlarında henüz rutin olarak kullanılmamaktadır. Aday biyobelirteçler için en önemli kriterler hassas, güvenilir, ölçümü kolay, organizmanın sağlığı ve uyum gücü ile iyi bir ilişki kurulabilir olmalarıdır [55].

Shugart vd. [56]'e göre biyobelirteç “biyolojik bir sistemde ya da örnekte ölçülebilen hücresel, biyokimyasal, fizyolojik fonksiyon ya da yapılarda ksenobiyotiklerce indüklenen bir değişimdir”. Biyoindikatör ise varlığı, yokluğu ve davranışları ile bulunduğu habitatın çevresel koşulları hakkında bilgi ve ipuçları veren bir organizma olarak tanımlanmaktadır [24]. Böylece sub-organizmal düzeyde etkiler veya yanıtlar biyobelirteç terimi ile populasyon düzeyinde etkiler ise biyoindikatör terimi ile ifade edilmektedir [57].

Biyobelirteçlerin, organizmalara kirleticilerin ve çevresel stresin etkilerinin izlenmesinde önemli araçlar olduğu düşünülmektedir. Ancak çevresel durumun teşhisi

için kullanılan çok sayıda biyobelirteç (Çizelge 1.1) arasında küresel düzeyde görülen varyasyonların değerlendirilmesi ve parametrelerin ilişkilendirilmesi için bir metodolojiye ihtiyaç olduğu da düşünülmektedir [58].

Çizelge 1.1. Kimyasal stres etkenlerine balıkların yanıtının ölçümü için bazı biyobelirteç örnekleri ([57]'den özetle)

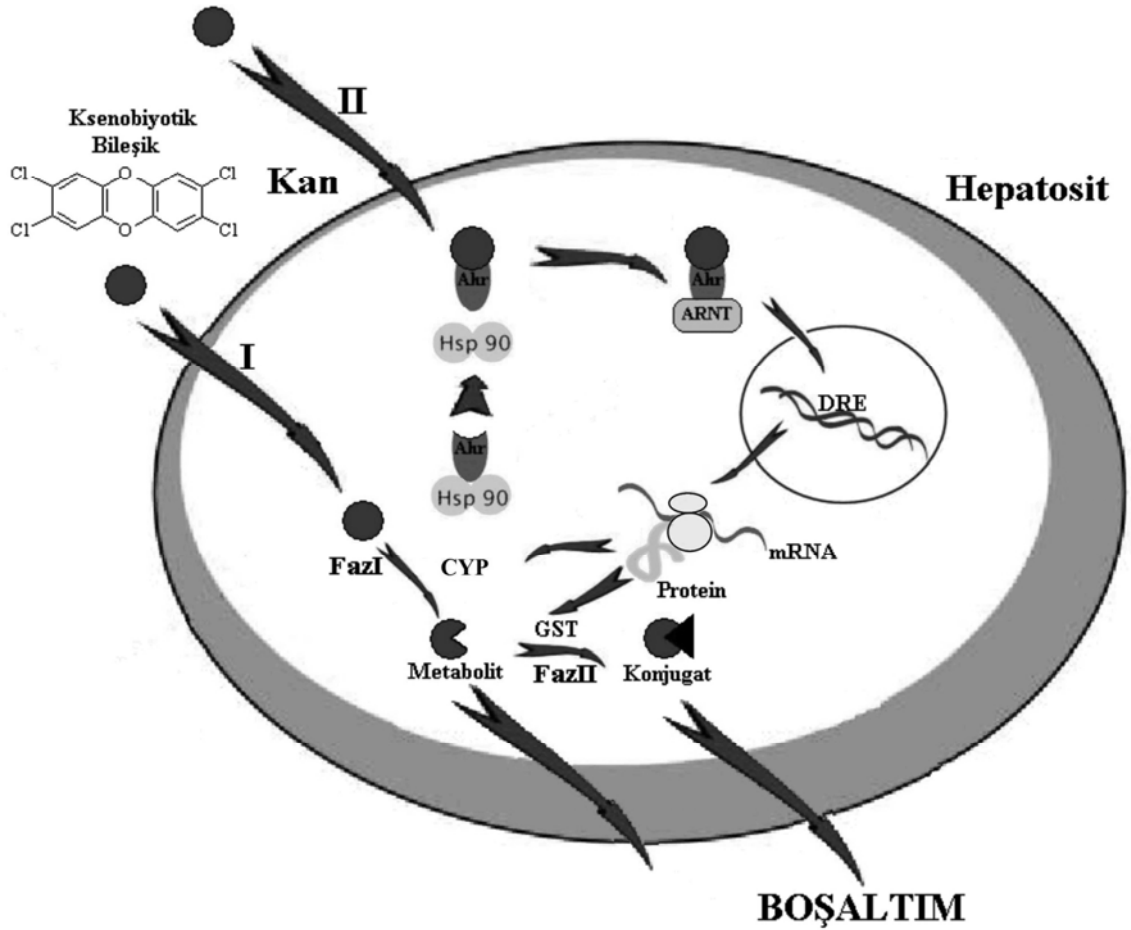
Biyobelirteç	Tip	Ölçüm	Organ	İndükleyici kirleticiler
EROD	Maruz kalma	Enzim aktivitesi	Karaciğer, Böbrek, Solungaç	PAH, PCB, HAH
Safra metabolitleri	Maruz kalma	HPLC, çeşitli diğer analitik teknikler	Safra kesesi	PAH, resin ve yağ asitleri, klorofenolikler
Laktat dehidrogenaz	Maruz kalma	Enzim aktivitesi	Plazma	Enfeksiyon ajanları, toksikantlar
AChE	Maruz kalma/Etki	Enzim aktivitesi	Beyin v.s.	Organofosfat (OP) ve karbamat pestisitler
VTG	Maruz kalma/Etki	ELİSA, RİA v.s.	Plazma	Çevresel östrojenler
Antioksidant sistemler (GST)	Maruz Kalma/Etki	Enzim aktivitesi	Karaciğer, Böbrek, Kas, Solungaç	Redoks döngüsüne giren ksenobiyotikler (ör. HAH'lar PCB'ler)

1.5.1. Biyotransformasyon enzimleri

Bir organizma, vücuttan bir kimyasalı elemine etmede iki temel yola sahiptir: ya bileşik orijinal formunda atılır ya da organizma tarafından biyotransforme edilir. Biyotransformasyon genellikle, atasal bileşikten daha kolay atılan, daha hidrofilik bir bileşiğin oluşumuna yol açar. Yabancı bileşiklerin biyotransformasyonunda en fazla yer alan organ fonksiyonu, pozisyonu ve kan miktarı nedeniyle karaciğerdir. Biyotransformasyon bir bileşiğin toksisitesini organizmaya yararlı ya da zararlı olabilecek şekilde değiştirebilir. Bir detoksifikasyon reaksiyonunun olduğu durumda

bileşiğin atılma oranı artarken, bileşiğin toksisitesi azalır. Biyoaktivasyon durumunda ise, oluşan ürün ana bileşikten daha toksik, reaktif bir metabolite dönüşebilir [59].

Genellikle en etkili “etki biyobelirteçleri”, biyotransformasyon enzimlerinin aktiviteleri ve düzeylerindeki değişikliklerdir. Enzim indüksiyonu enzim aktivitesinin veya miktarının veya her ikisinin artışıdır. İki fazlı enzim indüksiyonunda: ilk evre, enzimlerin aktivasyonundan ibaret bir indüksiyon iken, ikinci evre enzimlerin *de novo* sentezini içerir (Şekil 1.7). Genellikle *de novo* protein sentezinin en önemli enzim indüksiyon süreci olduğu kabul edilmektedir. İnhibisyon ise indüksiyonun tersidir. Bu durumda enzimatik aktivite çoğunlukla enzim ve inhibitörler arasında güçlü bir bağlanma veya kompleks oluşumu nedeniyle bloke edilir. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda yer alan enzimler ikiye ayrılır [2].



Şekil 1.7. Karaciğer hücresinde ksenobiyotik bileşiklerin biyotransformasyonu. I. yol, detoksifikasyon veya toksifikasyon için olası bir mekanizma, II. yol, enzim indüksiyonu için olası bir mekanizma. Ahr, Aril hidrokarbon reseptörü; Hsp90, 90 kDa heat shock proteini; ARNT, Ah reseptör nüclear translokator; DRE, Dioksin yanıt elementi; CYP, Sitokrom P450 izozimleri; GST, Glutatyon S-transferazlar ([2]’den özetle)

1.5.1.1. Sitokrom P4501A (EROD: 7-Etoksirezorufin-O-deetilaz)

Metabolizmanın I. fazı oksidasyon, redüksiyon ya da hidroliz reaksiyonlarını içeren, reaktif fonksiyonel grupların eklenmesi ve uzaklaştırılmasıdır. Ksenobiyotik bileşiklerin çoğunluğu için Faz I reaksiyonları mikrozomal monooksigenaz (MO) enzimleri veya karışık fonksiyonlu oksidaz (MFO) sistemi olarak bilinen enzimlerce katalizlenir. Bu enzimler çoğunlukla Sitokrom P450, sitokrom b_5 ve NADPH sitokrom P450 redüktaz enzimleridir. Balıklarda en yüksek aktivite gösteren Faz I biyotransformasyon enzimleri sitokrom P450-bağlı MO'lardır [59, 60].

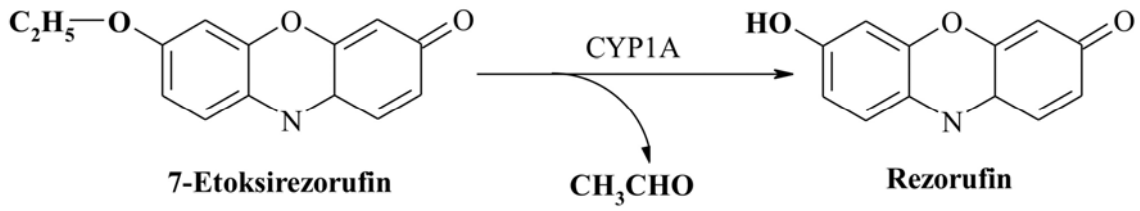
Sitokrom P450 (CYP) süperfamilyasının, yaklaşık 600 izozimden oluştuğu bilinmektedir ve bu enzimlerin bir kısmı yabancı maddeler ve endojen bileşiklerin metabolizmasında yer almaktadır. Yabancı, lipofilik bileşiklerin metabolizmasında yer alan önemli bir CYP subfamilyası CYP1A1'dir. Memelilerde CYP1A1 ve CYP1A2 olmak üzere iki izozim bulunmasına rağmen çoğu balıkta sadece CYP1A1 izozimi bulunur [61]. Bu enzimler karaciğerde (bazı türlerde hepatopankreas) yoğun olarak bulunmaktadır. Ayrıca böbrek, solungaç, gastrointestinal sistemde ve diğer dokularda da vardır [2, 62].

EROD çevre toksikolojisi alanında kabul görmüş ve yoğun olarak kullanılan bir biyobelirteçtir. Balıklar, özellikle PAH'lar ve yapısal olarak benzer bileşiklere maruz kaldıklarında doz ilişkili bir EROD indüksiyonunun gerçekleştiği bilinmektedir. EROD indüksiyonu çok sayıda alan çalışmada genel su kirliliği, kağıt fabrikası atıkları ve petrol sızıntıları gibi kirleticilere maruz kalmanın bir göstergesi olarak kullanılan yaygın bir belirteçtir [62].

EROD, etoksirezorufinin substrat olduğu özgül bir CYP reaksiyonunu katalizler. EROD temelde karaciğer hücrelerinin endoplazmik retikulum membranında lokalize olduğu için karaciğerde ölçülür. Mikrozomal fraksiyonlardaki CYP1A aracılı 7-etoksirezorufinin deetilasyonu, flourometrik olarak, hidroksillenmiş olan rezorufin üretim miktarına bağlı olarak saptanır (Şekil 1.8).

EROD aktivitesi tür içi ve türler arası düzeyde önemli oranda değişkenlik göstermektedir. Örneğin sazan balıklarında bazal EROD aktivitesi 0-4600 pmol/dakika/mg total protein arasından değişirken, *Catostomus commersonii*'de 10 pmol/dakika/mg total protein düzeyinin altında saptanmıştır. Tür içinde görülen büyük aktivite farklılığı gelişim aşamaları, eşey, mevsimsel döngü, diyet ve çalışılan ölçüm

metodu gibi çok sayıda faktörün yanı sıra, çevresel koşullar ve kirleticilerin varlığı ile de ilişkilendirilebilir [62].



Şekil 1.8. EROD tarafından katalizlenen deetilasyon reaksiyonu [62]

1.5.1.2. Glutasyon S-transferaz

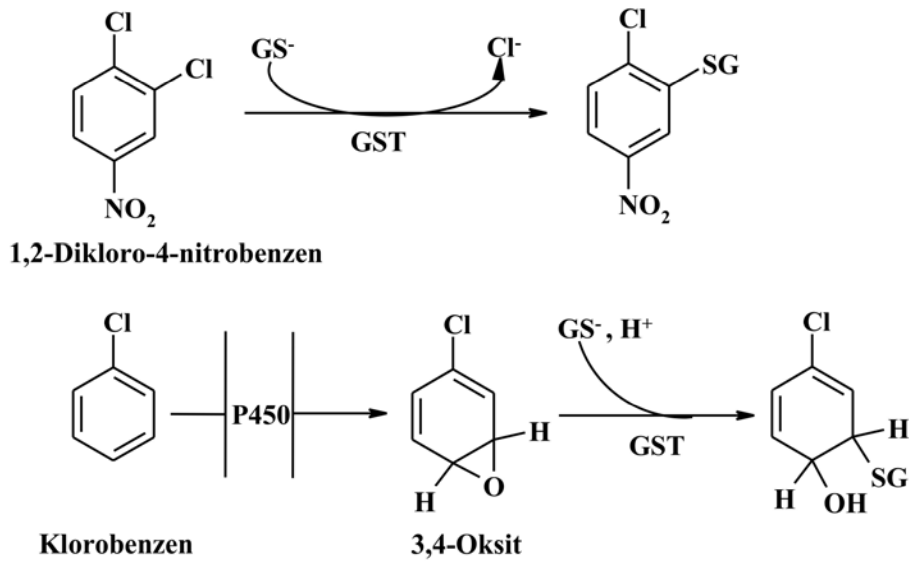
Ksenobiyotik metabolizmasında ikinci basamak reaksiyonları ksenobiyotığın konjugasyonunu içerir. Konjugasyon reaksiyonları, yabancı bileşiğe polar yan grupların eklenmesi olayıdır ve bu reaksiyonlarda sıklıkla polar kimyasal gruplar ya da şekerler veya aminoasitler gibi bileşikler kovalent olarak ilave edilir. Faz II enzimlerinin çoğunluğu konjugasyon reaksiyonlarını katalizlediğinden polar grupların (ör. redükte glutasyon (GSH)) ilavesi sonucu kimyasalların vücuttan atılması kolaylaşır [2].

Faz II enzimlerinden en önemlisi elektrofilik bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu katalizleyen glutasyon S-transferaz (GST, EC 2.5.1.18) dır. GST çok sayıda endojen ve ksenobiyotik bileşiklerin daha hidrofilik hale getirilerek taşınma veya atılması için, bu elektrofilik bileşiklerin ya da grupların tripeptid redükte glutasyon [GSH; N-(N-L-glutamil-L-sisteinil) glisin] ile konjugasyonunu katalizler [63, 64].

GST dimerik, multifonksiyonel bir multigen ailesidir ve hücrede çoğunlukla sitozoliktir. Ancak membran-bağlı ve mitokondriyal GST izoformları da bilinmektedir [59, 65]. GST izozimlerinin konsantrasyonu dokular arasında da değişiklik göstermektedir. Sucul biyolojik izleme çalışmalarında GST aktivitesinin belirlenmesi için çoğunlukla karaciğer kullanılır, ancak solungaç, böbrek ve bağırsakta da yüksek GST konsantrasyonunun varlığı nedeniyle bu organlarda da GST aktivitesi biyobelirteç olarak tercih edilebilir. Çeşitli organik bileşiklere maruz kalma sonrası balıklarda hepatik GST aktivitesinin böbrek ve solungaç gibi organlardan daha fazla indüklendiği bildirilmiştir [66].

GST'nin substratları olan kimyasal maddeler üç genel özelliğe sahiptirler: Hidrofobiktirler, bir elektrofilik atom içerirler ve GSH ile ölçülebilir oranda enzimatik olmayan reaksiyona girerler. Total hepatic GST aktivitesi üzerinde indükleyici ajanların etkileri doğal olmayan bir substrat olan 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) konjugasyonu ölçülerek birçok balık türünde gözlenmektedir [2]. CDNB, bütün GST enzimleri için (Theta sınıfı hariç) genel bir substrattır. Bu nedenle türler arası karşılaştırmanın yapılması için kolaylık sağlamaktadır. Yaygın olmamakla birlikte GST için diğer bir substrat da 1,2-dikloro-4-nitrobenzendir (Şekil 1.9).

GST'ler her organizmada bulunur, ancak bütün organizmalar aynı GST izozimlerine sahip değildir. Bu nedenle çevresel ksenobiyotiklere organizmaların duyarlılığı farklıdır. Örneğin farklı yedi pestiside maruz bırakılan alabalıklarda ve farklı Avustralya balık türlerinde GST aktivitesinde yanıt gerçekleşmemiş ya da az bir induksiyon veya baskılanma görülmüştür [67].



Şekil 1.9. GST'nin katalizlediği ksenobiyotiklerle glutatyon konjugasyonuna iki örnek [59]

GST miktarı, hücre içinde toplam protein miktarının % 10'unu oluşturacak düzeye ulaşabilir. Bu enzimler glutatyon konjugasyonu için substrat olmayan çok sayıda bileşiğin bağlanması, depolanması ve/veya taşınmasında rol alırlar. Ligandin olarak bilinen ve hem, bilirubin, steroid, azo-boyalara ve PAH'lara bağlanan sitoplazmik bileşikler GST'dir [59].

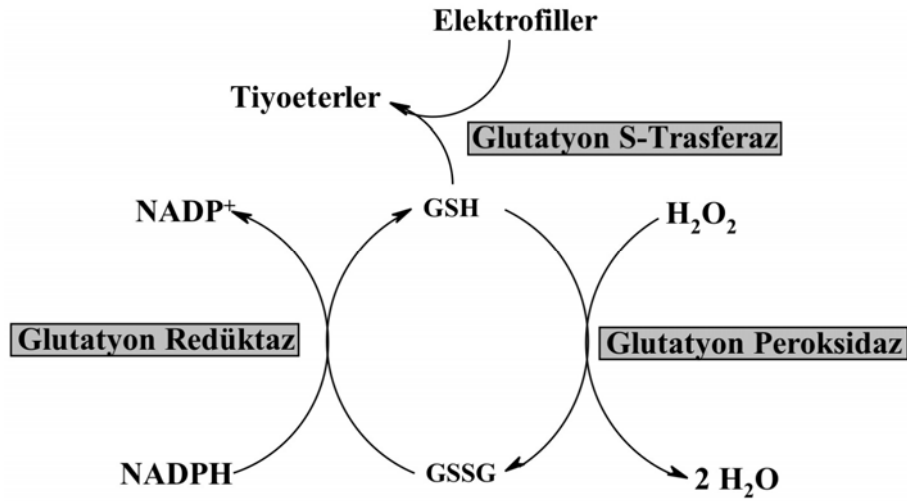
1.5.1.3. Biyotransformasyon indeksi

Biyotransformasyon indeksi (Bİ) Van der Oost vd. [55] tarafından tanımlanmış olan, Faz I (EROD) ve Faz II (GST) enzim aktiviteleri arasında yani biyoaktivasyon ve biyotransformasyon arasındaki dengeyi gösteren yeni bir biyobelirteçtir. Bİ ve EROD aktivitesinde azalma, balıklarda kirleticilerin metabolize edilerek uzaklaştırıldığı şeklinde ifade edilmektedir. Bİ ayrıca organizmaların, kanserojenik özelliklere sahip toksik ksenobiyotiklere duyarlılığını gösterebilmektedir [2].

1.5.2. Glutasyon redüktaz

Glutasyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2) oksidatif stres koşullarında, GSH/GSSG homeostasisinin sağlanmasındaki rolü nedeniyle dikkate değer bir enzimdir. GR, NADPH varlığında glutasyonun okside disülfid formunun (GSSG), redükte forma (GSH) transformasyonunu katalizler (Şekil 1.10) [2]. GR aktivitesinin saptanmasının oksidatif stresin iyi bir belirteci olabileceği düşünülmektedir, ancak bu enzim SOD ve katalaz (CAT) enzimleri gibi antioksidant savunma sisteminde direkt olarak yer almaz [68, 69].

Aerobik hücrelerde, normal metabolizma esnasında özellikle mitokondriyal membranlarda oksidatif metabolizmanın bir sonucu olarak reaktif oksijen türleri (ROS) üretilir. Bu ara ürünler oksidatif strese neden olarak hücreye zarar verebilirler. Hücresel yapılar ve hücre fonksiyonları oksidatif hasarın potansiyel hedefleridir. Bu oksidasyonun en hassas substratları, kolayca peroksidasyona uğrayan hücre membranlarındaki doymamış yağ asitleridir. Bu olay, kas degradasyonuna, sinir sisteminin zayıflamasına, hücresel metabolizmanın genel olarak kötüleşmesine ve sonuçta hücre ölümüne neden olabilir [70]. ROS bileşiklerin detoksifikasyonunda GSH iki şekilde yer alır: (1) GSH süperoksit radikal anyonu, nitrik oksit veya hidroksil radikali gibi serbest radikallerle reaksiyona girer, (2) GSH, GPx (glutasyon peroksidaz) tarafından gerçekleştirilen peroksitlerin redüksiyonuna elektron alıcısı olarak katılır. Bu nedenle GSH miktarında ve GSH/GSSG oranında azalma ve GSSG düzeyinde artış oksidatif stresin belirteci olarak kabul edilir [71].



Şekil 1.10. Glutatyon Redüktazın GSH metabolizmasındaki yeri

Normal metabolizma dışında, çok sayıda çevresel kirlenici balıkları da içeren sucul hayvanlarda oksidatif stresi indüklemeye kapasitesine sahiptir. Organizmalarda, ROS oluşumu ile hücrel bileşenlerin oksidatif hasarı sonucu gerçekleşen oksidatif strese engel olmak için, antioksidant enzimlerin aktiviteleri (GPx, GST, GR, CAT vb.) gibi antioksidant savunma sisteminin aktivitesi artar. Örneğin kirlenmiş sucul alanlarda yaşayan balıklarda daha yüksek oranda peroksidatif bileşiklerin varlığı nedeniyle, yüksek GR aktivitesi belirlenmiştir [72, 73]. Van der Oost vd. [2] tarafından yapılan balıklar ile ilgili derleme çalışmasında, laboratuvar çalışmalarının %55'inde ve alan çalışmalarının %18'inde GR aktivitesinde önemli bir artış gözlenmiştir. Laboratuvar çalışmalarında PCB'ye maruz bırakılmış alabalıklarda GR aktivitesi kontrol ile karşılaştırıldığında çok büyük bir artış gözlemlendiği (>%500) rapor edilmiştir.

1.5.3. Esterazlar

Esterazlar basit bir şekilde üç gruba ayrılarak sınıflandırılabilir [74].

A esterazlar: Paraokson ve diğer nötral OP tioesterleri hidrolizleyen, genellikle memelilerde bulunan, fakat kuş serumlarında bulunmayan esterazlardır. Bu grupta bulunan enzimler hidrolizledikleri substrata göre (paraoksonaz, somanaz) veya kimyasal yapılarına göre (fosfotriesteraz) isimlendirilirler.

B esterazlar: Serin hidrolazların büyük bir grubudur. Paraokson gibi OP bileşikler tarafından inhibe edilirler. Bu bileşiklerin çoğu için hedef olan

asetilkolinesteraz (AChE), butirikolinesteraz (BChE) ve karboksilesteraz (CaE) bu gruptandır.

C esterazlar: OP bileşiklerle etkileşmezler.

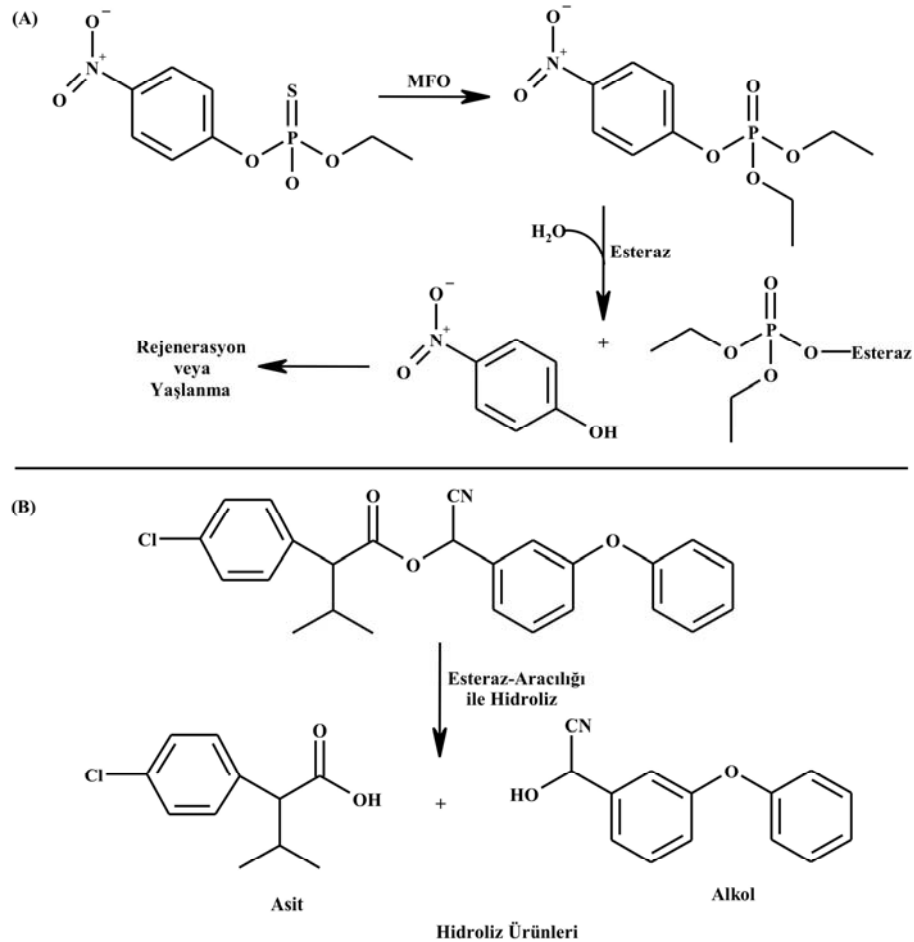
1.5.3.1 Karboksilesteraz

Karboksilesterazlar (CaE, EC 3.1.1.1) çok sayıda ester substrattan bir alkol grubu hidrolizini katalizleyen serin hidrolazların bir sınıfıdır [75]. CaE'ler, esterleri, tiyoesterleri veya karboksilik asitlerin amid gruplarını hidrolizlerler. Bunlar ayrıca literatürde aliesterazlar ve esteraz-D (insanda) olarak da adlandırılmaktadır [76]. CaE'ler lipit ve steroid metabolizmasında önemli role sahiptirler; ayrıca pestisitler (karbofuran, pretroidler, OP, propanidler), akrilatlar, mikrotoksinler (T2 toksin) ve nikotik asidin esterlerinin detoksifikasyonuna katılırlar [77]. Bu enzimler metabolizmada ve çoğu ksenobiyotik ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonunda önemlidirler [78]. Fakat her bir enzim, endojen ve ksenobiyotik esterlere karşı karakteristik bir substrat özgüllüğüne sahiptir [77, 79, 80].

CaE'ler, çoğu memeli dokusunun mikrozomal fraksiyonlarında bulunabilen 47 ve 65 kDa arasında moleküler ağırlıklı proteinlerdir [77]. CaE omurgalı ve omurgasızların birçok dokusunda mevcuttur ve genellikle karaciğerde yüksek düzeyde bulunur [81]. CaE karaciğerde sentezlenir ve plazmaya salgılanır, orada çözünür formda bulunur. Ayrıca akciğer, merkezi sinir sistemi, testis, yağ doku, kalp, kas ve lökositlerde de farklı düzeylerde CaE bulunabilir. Aktif bölgesinde serin bulunan CaE, iki-fazlı bir reaksiyonla karboksilik asidin esterlerini hidrolizler. İlk aşamada karboksilik ester, aktif bölgedeki serinin hidroksil grubunu asiller ve ikinci aşamada serin, suyun varlığında deasillenir. CaE'nin aktif bölgesi **izolösin-fenilalanin-glisin-histidin-serin-methionin-glisin-glisin**'den oluşan bir peptid içermektedir. AChE ve BChE, asetilkolin ve butirikolin gibi pozitif yüklü esterler ile reaksiyona girerler ve karbamatlar tarafından inhibe edilirler oysa ki CaE pozitif yüklü esterler ile reaksiyona girmez ve karbamatlar ile inhibisyon sadece yüksek konsantrasyonlarda ortaya çıkar [77].

Bir organizmanın pretroid, OP ve karbamat bileşiklere karşı duyarlılığı, o canlının endojen CaE aktivitesinden etkilenebilmektedir. Bu nedenle CaE aktivitesinin ölçülmesi tarımsal kimyasalların ekosistem üzerindeki etkilerinin önceden belirlenmesi için kullanışlı bir araç sağlamaktadır. Ancak literatürdeki veri eksikliği nedeniyle bu konunun tam olarak değerlendirilmesi mümkün olamamaktadır [82]. CaE'lerin üç farklı

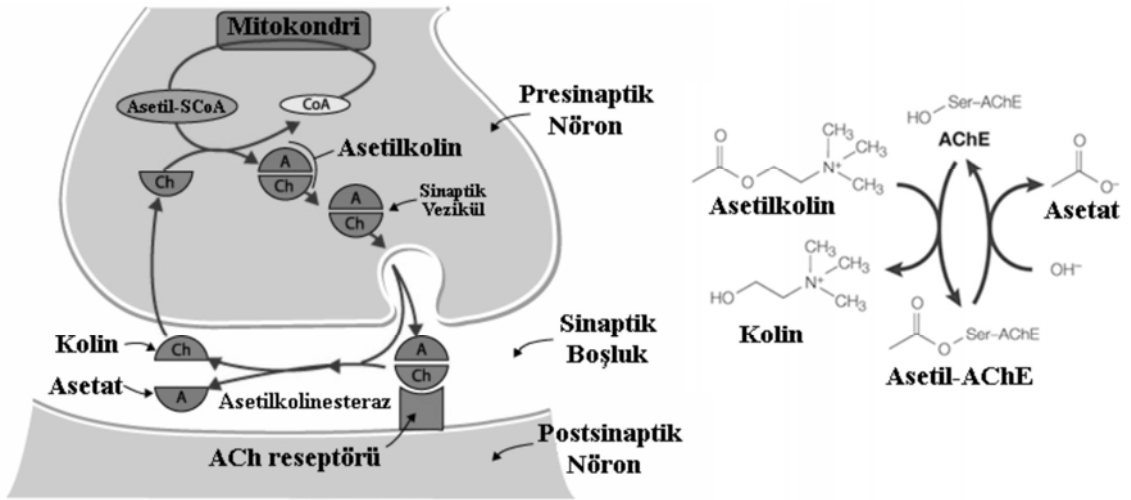
yoldan OP bileşiklerin detoksifikasyonuna katıldığı düşünülmektedir. Birinci yol, malatyon gibi ester bağları içeren OP'den bu bağların CaE tarafında hidrolizidir. İkinci yol, OP'nin CaE ve diğer proteinlere bağlanmasıdır ki bu durumda sirkülasyondaki serbest OP'nin konsantrasyonu azalır, böylece hayati dokularda AChE ile reaksiyona girebilme ihtimali azalabilir (balıklarda OP'lerin karaciğer CaE'yi fosforilleme affinitesi AChE'den daha yüksektir [83]). Üçüncü yol, son zamanlarda keşfedildi ve buna göre bütün OPler, CaE'lerin aktif bölgesindeki serinin hidroksil grubuna bağlanarak enzimleri fosforilleyebilirler (Şekil 1.11). Bu fosforil grubu sudan bir hidroksil grubu olarak kendiliğinden enzimden ayrılmakta ve oluşan OP bileşik (ör. organofosforik asit) ana bileşikten daha az toksik hale gelmektedir [77, 84].



Şekil 1.11. CaE'nin pestisit metabolizmasındaki yeri: (A) CaE'nin paratyon (OP pestisit) tarafından inhibisyon reaksiyonu. Paratyon ilk olarak MFO sistemi tarafından aktif "oxon" bileşiğine metabolize edilmektedir. Paraoxon hidroliz sürecinde esteraza bağlanmakta, su girişi ile *p*-nitrofenol açığa çıkmaktadır. Esteraz enzimi ise kalıcı olarak fosforillendiğinden aktivitesini kaybetmektedir. (B) Esfenvalerat pretroit pestisidinin esteraz tarafından eşit asit ve alkole hidrolizi [78]

1.5.3.2. Asetilkolinesteraz

Asetilkolinesteraz (gerçek kolinesteraz, AChE, EC 3.1.1.7) çoğunlukla sinir dokuda bulunur ve özellikle beyinde lokalize olmuştur. AChE bir nörotransmitter olan asetilkolini (ACh), asetik asit ve koline hidrolizleyen özgül bir esterazdır (Şekil 1.12). ACh omurgalılarda ve balıklarda sinir sisteminde, özellikle nöromusküler sinapslarda, otonomik sinir sisteminde ve beyinde birincil nörotransmitterdir. Sinir impluslarının iletimi sırasında ACh, nikotinik reseptörler veya muskarinik reseptörler gibi bir ya da iki genel reseptöre bağlanır. Nöromusküler sinapslarda ACh'nin nikotinik reseptöre bağlanması uyarma ve kas kasılması ile sonuçlanır. AChE postsinaptik membrana bağlanarak ACh'nin bağlantısını keser ve böylece kolinerjik nöral transmisyon sona erer [85].

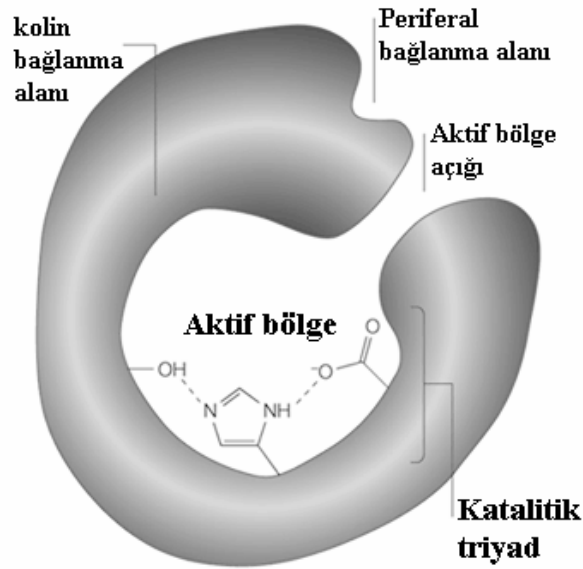


Şekil 1.12. İmpuls iletimi ve AChE'nin implus iletimini sonlandırma mekanizması

AChE inhibisyonunun izlenmesi, sucul ve karasal ekosistemlerde OP insektisitlere maruz kalmanın bir biyobelirteci olarak ve maruz kalan hayvan üzerindeki fizyolojik etkilerin belirlenmesi için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [86]. OP'lerin görece kısa yarı-ömürleri, sucul çevreye girdikten günler veya saatler içinde konsantrasyonlarının analitik kimya teknikleri ile belirlenemeyecek düzeye düşmesi, çevresel örneklerde belirlenebilmelerini zorlaştırmaktadır. Örneğin bir OP bileşik olan kloropirofosun, çevre koşullarında su içerisindeki yarı ömrü 6 saatten daha azdır. Bu nedenle OP'lerin neden olduğu toksisitenin temel mekanizması olan ve çoğu canlı türünde günler veya haftalarca sürebilen geri dönüşümsüz veya uzun süreli AChE

inhibisyonunun ölçümü, sucul organizmaların OP'lere maruz kalmasının belirlenmesi için uygun ve etkili bir biyobelirteç olarak kabul edilir [86, 87].

AChE inhibisyonu, enzimin aktif alanındaki serin ile OP bileşiğinin reaksiyonu sonucu ortaya çıkar (Şekil 1.13). Bu inhibisyon çok düşük konsantrasyonlarda ortaya çıkar ve fosforillenen enzimin yeniden aktivasyonunun sağlanması çok düşük düzeyde gerçekleşir. İnhibe olan enzim oximler gibi bileşiklerce kimyasal olarak yeniden aktive olabilir. Fakat bu hem inhibitöre hem de türe bağlıdır [79]. OP'lere maruz kalma sonrası gerçekleşen inhibisyondan sonra, AChE aktivasyonunun geri-dönüşü büyük oranda enzimin *de novo* sentezine bağlıdır ve bu genellikle balıklarda haftalar almaktadır [88]. Enzimin inhibisyonu, sinir sisteminde asetilkolin miktarının artışına neden olur. Böylece sinir sinyallerinin (implusun) sürekli transmisyonu, tetani ve sıklıkla solunum bozuklukları ve nihayetinde ölümle sonuçlanabilir [80].



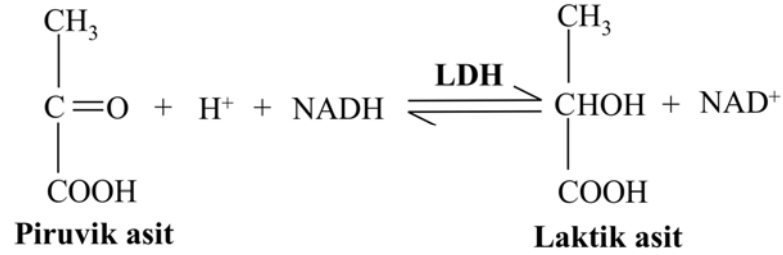
Şekil 1.13. AChE enziminin yapısal özellikleri [89]

OP ve karbamat insektisitlere ek olarak, diğer bazı pestisitler, ağır metaller ve deterjanlar gibi çevresel kirleticilere maruz kalan organizmalarda da AChE aktivitesinin inhibisyona uğradığı rapor edilmiştir [90].

1.5.4. Laktat dehidrogenaz

Laktat dehidrogenaz (LDH, EC 1.1.1.28) sitozolik bir enzimdir ve glikoliz olayında aktif durumda piruvik asidi laktik aside dönüştürür (Şekil 1.14). Glikolizin düzenlenmesinde önemli bir rol oynaması nedeniyle, normal hücrel fonksiyonlar için de çok önemlidir. Hayvan dokularında, glikolizde üretilen NADH ve piruvik asidin aerobik oksidasyonu yeterince oksijen ile desteklenmezse, LDH aktivitesi ile piruvik asidin laktik aside redüksiyonu sonucu NAD⁺ üretimi gerçekleşir [91, 92].

Omurgalılarda beş farklı LDH izozimi bulunmaktadır. Bütün LDH izozimleri iki farklı polipeptidin (M ve H) farklı oranlarda olması koşuluyla dört polipeptid zincirinden oluşurlar. Memelilerde iskelet kasına özgü LDH izozimi 4 M polipeptidinden, kalp kası izozimi ise 4 H polipeptidinden oluşur. Tip C olarak adlandırılan izozim ise balıklarda, özgül olarak karaciğerde bulunmaktadır [92, 93].



Şekil 1.14. Laktat dehidrogenaz tarafından katalizlenen reaksiyon

LDH organizmanın bütün dokularında vardır. Bir hastalıktan ya da toksik bir bileşikten dolayı doku hasarının olduğu çoğu durumda, LDH aktivitesinin önemli düzeyde etkilendiği rapor edilmektedir. Bu gibi hücrel bir enzimin aktivitesindeki değişimin derecesi öncelikle hücrel hasarın şiddetine ve büyüklüğüne bağlıdır [94]. LDH'nin karaciğer, böbrek ve kastaki aktivitesi plazmadakinden önemli düzeyde yüksektir. Bu nedenle plazmadaki LDH aktivitesinde görülen bir artış karaciğer, böbrek ve kas gibi organlarda hücrel hasarın bir göstergesi olarak kabul edilir [91].

Pretroid insektisitler, halojenli benzen ve fenoller, petrol hidrokarbonları ve OC bileşikler gibi kimyasalların balıklarda oksijenli solunumu etkiledikleri bilinmektedir. Oksijenli solunum düzeyindeki artış ve azalışlara bağlı olarak canlının anaerobik solunum kapasitesindeki değişimler, LDH aktivitesine göre değerlendirilebilir. Örneğin, endüstriyel kirlenmenin olmadığı, olası kirliliğin tarımsal aktivitelerden ve evsel atık

sulardan kaynaklanabileceği düşünölen bir haliç sistemindeki *Acanthopagrus butcheri* balık türünün karaciğer ve solungaç LDH aktivitelerindeki artışın, aerobik solunum kapasitesindeki yetersizlik (mitokondriyal membranın bozulması sonucu elektron transfer sisteminin işlevsizliği) nedeniyle ortaya çıkan enerji açığının giderilmesine yönelik olduğu ileri sürölmüştür [95].

Mishra vd. [96] tarafından yapılan, *Clarias batrachus* balık türünün karaciğer LDH aktivitesi üzerinde endosölfan pestisidinin inhibe edici etki mekanizmasının değerlendirildiği çalışmada, LDH aktivitesindeki azalmanın, enzim moleköleri ile endosölfan veya onun metabolitlerinin verimli-olmayan bağlanmalarından ve/veya enzim sentezinin bloke edilmesinden kaynaklandığı belirlenmiştir. Bulgular, endosölfanın enzim ve enzim-substrat kompleksine bağlandığını, enzim ile substratın verimli kompleks yapamadığını ve bunun sonucu olarak endosölfana maruz bırakılmış balığın anaerobik metabolizmasının verimliliğinin azaldığını göstermiştir.

1.5.5. Aminotransferazlar

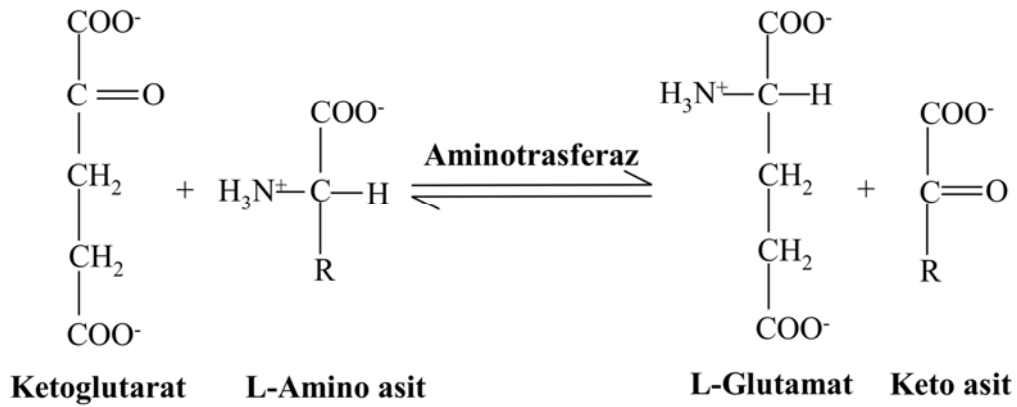
Aminotransferazlar, amino gruplarının transferi ile aminoasitlerin α -ketoasitlere dönüşümünü katalizleyen bir enzim grubudur (Şekil 1.15). Proteinlerde bulunan 20 L-aminoasidin α -amino grupları, aminoasitlerin oksidatif yıkımları gerçekleşirken uzaklaştırılır. Bu transaminasyon reaksiyonlarında α -amino grupları, α -ketoglutaratın α -karbon atomuna transfer edilir, geriye aminoasidin analogu olan uygun α -keto asit kalır. Reaksiyon sonrası oluşan amin grupları, yeni aminoasitlerin ya da azotlu ürünlerin sentezinde kullanılmıyorsa basit boşaltımla sonuçlanan bir ürün halinde atılır. Sucul organizmalar azotu amonyak (NH_4^+) halinde kolayca su ortamına verirler [92].

Alanin aminotrasferaz (ALT, EC 2.6.1.2) ve aspartat aminotransferaz (AST, EC 2.6.1.1) karaciğere özgü enzimlerdir ve hepatotoksisite ve histopatolojik değişimlere çok hassas olan enzimlerdir. ALT, (Glutamat piruvat transaminaz (GPT) olarak da bilinmektedir) alanin aminoasidinden amino grubunu α -ketoglutarata transfer ederek glutamat ve piruvat oluşumunu katalizler.

AST ise L-aspartat ve 2-oksoglutarat ile glutamat ve oksaloasetat arasında geri dönüşlü transaminaz reaksiyonunu katalizler. Glutamat oksaloasetat transaminaz (GOT) olarak da adlandırılmaktadır [97]. Elektroforetik olarak AST iki temel forma ayrılmıştır. Biri çözünür ya da sitozolik form (c-AST) ve diğeri mitokondriyal form (m-AST); ki bu iki form çok sayıda hayvansal çalışmada rapor edilmiştir. Her iki izozim

de aminoasit metabolizmasına üre ve sitrik asit döngüsü arasında bir bağlantı olarak katılmaktadır. Sitozolik izozim özellikle daha yoğun olarak glikoneogenesis sürecinde yer almaktadır [98].

Kalp krizi (miyokardial enfarktüs) sonrası plazma transaminaz aktivitesi artmaktadır. Ancak AST'nin ALT' ye oranla daha fazla arttığı belirlenmiştir. Bu, kalp kası AST miktarının görece fazla oluşu ile ilişkilendirilmektedir. Karaciğer tahribatı sonrası ise plazma AST ve ALT enzimlerinin aktivitesinde artış belirlenmektedir. Ancak, ALT daha çok karaciğere özgül bir enzim olarak düşünülmektedir [2].



Şekil 1.15. Aminotransferaz tarafından katalizlenen reaksiyon

Aminotransferazlar plazmada çok az miktarda bulunan intraselüler enzimlerdir. Ancak karaciğer hücre hasarları, büyük konsantrasyon gradienti nedeniyle enzimlerin plazmaya sızması ile sonuçlanır [99]. Kan plazması aminotransferaz aktivitesinin belirlenmesi, karaciğer hücre hasarının şiddeti hakkında bilgi sağlayabilir. Ayrıca organizmada aminotransferaz aktivitesinin saptanmasının çeşitli toksik ajanlara veya kirlenmiş çevreye maruz kalmış balıklarda biyokimyasal stres indikatörü olarak kullanışlı biyobelirteçler olduğu da rapor edilmiştir [100]. AST ve ALT gibi belirli enzimlerin inhibisyonu ya da aktivasyonunun neden olduğu protein metabolizmasındaki değişimler, toksik maddelerin karaciğerde neden olduğu olumsuz etkiler arasında rapor edilmektedir. Biyokimyasal stres biyobelirteci olarak bu enzimlerin fonksiyonu ve aktivitesindeki değişimler karaciğer gibi farklı organların hasarlarının belirlenmesine izin vermektedir [101].

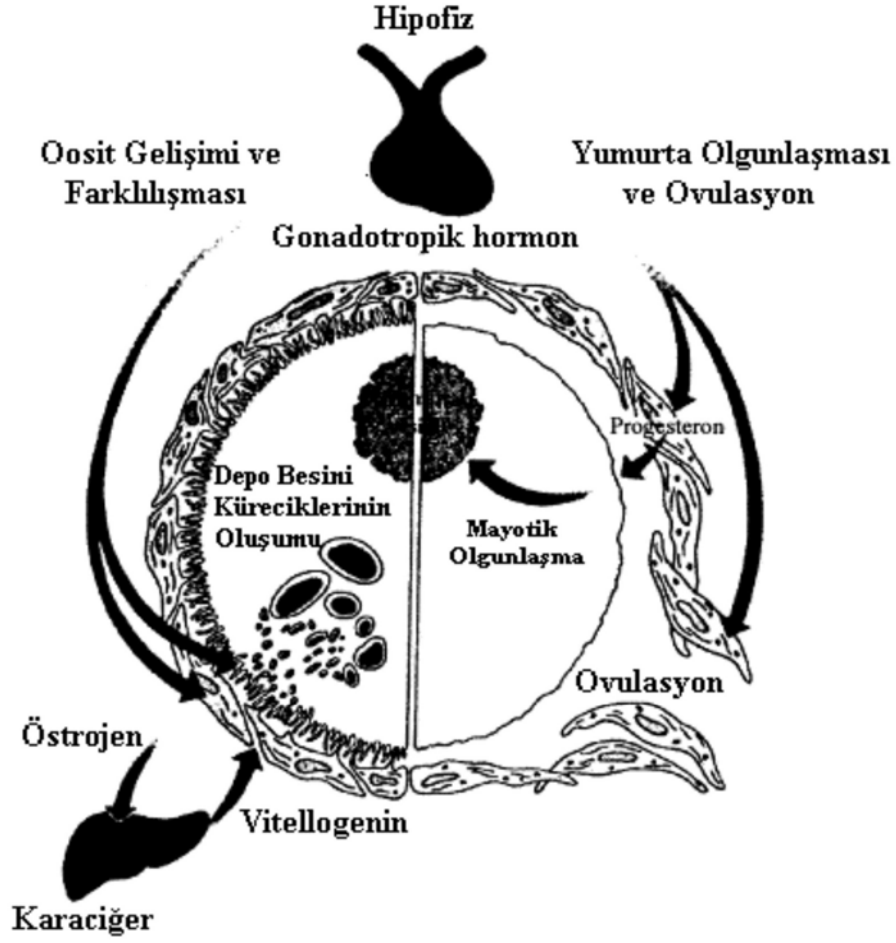
Ağır metallerin sucul organizmalar üzerindeki etkileri aminotransferaz aktivitesindeki değişimlere bakılarak değerlendirilebilir. Örneğin balıklarda

kadmiyumun hedef organlar olan karaciğer ve böbrekte yavaşça biriken bir ağır metal olduğu iyi bilinmektedir. Balıkların bu metalin düşük konsantrasyonuna maruz kalmaları bile doku hasarı, omurga değişimleri, solunum değişimleri ve son olarak ölümü de içeren birçok toksik etkiye neden olabilir. Değişimler karbonhidrat ve protein metabolizması gibi biyokimyasal ve fizyolojik düzeylerde de görülebilir. Metal toksisitesi sonucu protein metabolizması indüklenmekte ve metallothionein üretimi artmaktadır. Bu proteinlere Cd'nin bağlanması diğer hücrel moleküllere metalin yan etkisini önlemektedir. Bu nedenle metal toksisitesine karşı korumayı sağlamaktadır. Bu proteinlerin sentezi ve yıkımı nedeniyle, total protein içeriği ve serbest aminoasit konsantrasyonu artmakta, bununla ilişkili olarak da proteaz ve transaminaz aktivitesinde değişiklikler gözlenmektedir [102].

1.5.6. Vitellogenin indüksiyonu

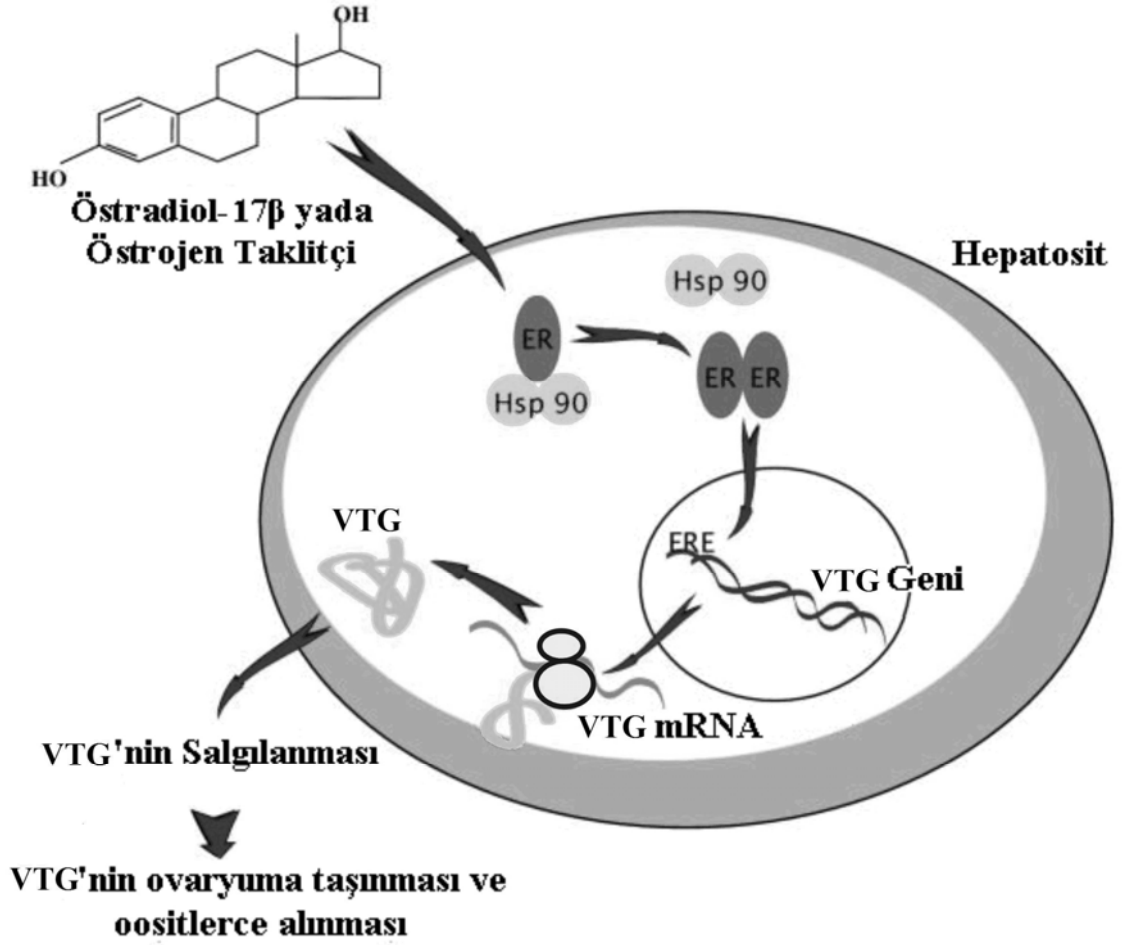
Vitellogenesis oositlerin depo besini biriktirerek ovaryumda olgunlaştığı bir süreçtir (Şekil 1.16). Oogenez'de ilkin olay, depo besini öncül proteini vitellogeninin (VTG) karaciğer tarafından sentezi ve oositlerce alınmasıdır. Oogenez, çevresel faktörler tarafından tetiklenir ve bir seri düzenleyici hormon tarafından kontrol edilir. Fotoperiyot ve/veya sıcaklığın etkisi altında beyin, hipofiz bezini, gonadotropin hormonlarını salgılaması için stimüle eder. Bunlar omurgalılarda gonadal fonksiyonu düzenleyen hormonlardır ve ayrıca mayotik olgunlaşmayı ve ovulasyonu kolaylaştırırlar. Hipofizin salgılama fonksiyonları, hipotalamus tarafından salgılanan GnRH gibi beyin nörohormonlarınca düzenlenir [40].

İlk olarak oogenez tetiklenir, gonadotropinler kana verilir ve ovaryuma taşınır, orada oosit gelişimini ve sonuç olarak ovulasyonu indüklerler. Gonadotropinler ayrıca, folikül hücrelerinde östradiol sentezini uyarır. Östradiol daha sonra plazmaya salıverilir ve orada albuminler ya da steroid-bağlayan proteinlere bağlanır [40].



Şekil 1.16. Balıklarda oosit gelişimi ve farklılaşmasının hormonal düzenlenmesi ve yumurta olgunlaşması ve ovulasyon [40]

Östradiol karaciğer hücrelerine difüzyon ile girer ve bir özgül reseptör proteine (ER: östrojen reseptörü) yüksek affinite ile bağlanmak suretiyle hedef hücrelere alınır. Bu, VTG'nin transkripsiyonunun aktivasyonu ile sonuçlanır (Şekil 1.17). VTG fosfor, lipitler, karbonhidratlar, kalsiyum ve demir içeren özgül bir dişi proteindir ve çoğu ovipar omurgalılarda yumurta depo besini öncülü olarak tanımlanır. Bu dimerik glikolipofosfoprotein, iki depo proteini olan lipovitellin ve fosvitinden oluşmaktadır. Ayrıca yapısında molekül başına bir çinko atomu ve iki kalsiyum atomu bulunmaktadır. Lipovitellin ve fosvitin birlikte VTG olarak taşınır ve kalsiyum iki proteinin stabil formunda yer alır [103, 104].



Şekil 1.17. Doğal ve çevresel östrojenlerin hücrede VTG üretimini indüklemeye mekanizması ([51]'den özetle). ER, östrojen reseptörü; Hsp90, 90 kDa heat shock proteini; ERE, östrojen yanıt elementi

VTG sonradan kana salıverilir ve ovaryumlara taşınır. VTG folikülün teka tabakası içinde yerleşmiş bir kapiller ağı yoluyla foliküle ulaşır. Kapillerlerden çıktıktan sonra, VTG folikül hücreleri arasındaki kanalları geçerek oosit yüzeyine ulaşır. Gonadotropin etkisi altında, VTG reseptör-aracılı endositozis ile depo besini kürecikleri içerisinde birleşir; orada proteolitik olarak hızlıca depo besini proteinlerinden lipovitellin ve fosvitine ayırır [40].

Dişilerde VTG'nin miktarı eşeyssel olgunlaşma ile gittikçe artar. Bazı balık türlerinde olgun dişilerin plazma VTG düzeyleri, olgunlaşmamış dişilerle kıyaslandığında 1 milyon kere (mg/ml plazma) artabilmektedir. Ayrıca erkek balıklarda da VTG geni bulunur, ancak erkek bireylerde sirküle olan plazma östrojen düzeyleri çok düşük olduğundan VTG geni büyük oranda ifade edilmez. Bütün türlerde normal olarak yaşam boyunca erkek bireylerde VTG düzeyleri oldukça düşüktür ve <0.002 ile 2 µg/ml

aralığındadır. Olgunlaşmamış dişilerde VTG düzeyi türe bağlı olarak 0.3 ile 65 µg/ml arasında değişmektedir. Vitellogenesis aşamasında bu oranlar artmakta, maksimum seviyeye ulaşmakta ve ovulasyon aşamasında tekrar azalmaktadır [105].

Vitellogenesis erkek ve ergin olmayan balıklarda inaktiftir ve belirli EBK'lere (ör: alkilfenoller, fitalatlar, bazı pestisitler, PCB'ler, doğal ve sentetik östrojen) maruz kalma sonrası indüklenmektedir [106, 107]. Bu nedenle erkek ve ergin olmayan balıklarda VTG ölçümü EBK'lere maruz kalmanın biyobelirteci olarak kullanılmaktadır [108-111].

1.5.7. Fizyolojik Parametreler

Morfolojik parametreler, alanla ilgili toksikolojik çalışmalarda balıkların genel sağlık durumunu değerlendirmekte sıklıkla kullanılır [101]. Organ ağırlığının vücut ağırlığına oranı; çoğunlukla da karaciğer ağırlığının vücut ağırlığına oranı (hepatosomatik indeks: HSI) stres-ilişkili çalışmalarda kullanılmaktadır. HSI'ye benzer şekilde kondisyon faktörü (KF) de biyotik ve abiyotik faktöre duyarlı, balıkların beslenme durumunu gösteren, genel ve özgül olmayan bir sağlık durumu belirtecidir [112].

Karaciğer ağırlığındaki artışlar (çoğunlukla HSI'de artış), toksik kimyasalların varlığına yanıt olarak artan detoksifikasyon aktiviteleri ile ilişkilendirilmektedir. HSI'de azalmalar da farklı kimyasallarla strese sokulan balık populasyonlarında gösterilmektedir ve bu durum stres koşullarında artan enerji ihtiyacını karşılamak amacıyla karaciğerde depo edilen maddelerin kullanılmasına bağlanmaktadır [112, 113]. Ayrıca HSI değerinin, dişi balıklarda VTG'nin hepatik sentezinin arttığı dönemlerde arttığı da bildirilmiştir [114].

Bazı balık türlerinde (*Platichthys flesus*) KF yaz aylarında balıkların yoğun beslendiği dönemlerde artmakta, vitellogenesisin başlangıç aşamasında maksimuma ulaşmaktadır. Yumurtlama periyodunda vücut enerji kaynaklarının kullanılması ve seyrek beslenme nedeniyle azalmaya başlamaktadır [115]. Diğer bir türde ise (*Micropterus salmoides*) karaciğerin ağırlığının mevsimsel olarak değiştiği, HSI değerinin üreme dönemini de içine alan ilkbahar ve kışın en yüksek noktaya çıktığı, yaz aylarında ise en düşük düzeye indiği rapor edilmiştir [116].

1.6. Suyun Fiziko-Kimyasal Değerleri

Daha önce belirtildiği gibi tek başına suyun fiziko-kimyasal değerlerinin ölümünün vresel kirliliği ve kirliliğin populusyonlar üzerindeki etkisini yansıtması nedeniyle, biyobelirteç değerlerin ölümüne ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak biyobelirteç değerlerde görülen değişimlerin canlıların doğal yaşam döngülerinden mi yoksa kirletici etkenlerden mi kaynaklandığının belirlenmesi açısından, canlıların maruz kaldıkları suda, inorganik ve/veya organik maddelerin düzeylerinin belirlenmesi ve bu değerlerin varsa standart değerlerle karşılaştırılması gerekmektedir. Günümüzde ekotoksikoloji çalışmalarında canlıların yaşamı için hayati önem taşıyan parametrelerden özellikle sıcaklık, znmş oksijen () düzeyi, pH, kimyasal oksijen istemi (KOİ), azotlu bileşiklerin düzeyi (nitrit, amonyum, toplam azot) fosfatlar, sülfatlar ve çeşitli ağır metallerin (Pb, Zn, Cd, Cu) düzeyi rutin olarak lmlenmektedir [101, 117, 118].

2. KAYNAK ÖZETİ

Nüfusun yoğun olduğu yerleşim yerlerinin evsel atık suları ve yoğun endüstriyel ve tarımsal aktivitelerden kaynaklanan kirlenmiş sular çok çeşitli organik ve inorganik maddeler içermektedir. Bu kirleticilerin sucul ekosistemlerdeki organizmalarda neden olduğu toksik etkiler çeşitli biyobelirteçler kullanılarak belirlenmektedir. Birçok arazi ve laboratuvar çalışmasında, çeşitli biyotransformasyon enzimleri (EROD, GST, CaE), üreme ile ilgili endokrin parametreler (VTG), oksidatif stres parametreleri (GR), hematolojik parametreler (AST, ALT, LDH), nörotoksik parametreler (AChE), fizyolojik/morfolojik parametreler (HSİ, KF) biyobelirteç olarak kullanılmaktadır.

2.1. Arazi Çalışmaları

Evsel ve endüstriyel atık suların, doğal ve sentetik östrojenler ve ksenoöstrojenler (östrojen taklitçileri) içerdiği, arıtılarak veya arıtılmadan nehir ve göllere verilen bu suların erkek ve ergin olmayan balıklarda östrojen gibi davranarak östrojenik etki gösterdiği bilinmektedir [52]. Bu konu ile ilgili ilk alan çalışmalarından biri Purdom vd. [119] tarafından İngiltere’de yapılmıştır. 1980’lerde sentetik östrojenlerin (doğum kontrol hapları) belirlendiği bir nehirde her iki eşey karakteristiğine de sahip olan balıklar yakalanmıştır. *Rutilus rutilus* türüne ait hermafroditik balıklar, evsel atık su arıtım tesisinden çıkan suların nehirle karıştığı noktada yakalanmıştır. Araştırmacılar doğum kontrol haplarının yaygın kullanımının ve etinilöstradiol’un (atık arıtım tesisleri yolu ile) sık salınmasının, bu hermafrodit balıkların ortaya çıkışının nedeni olabileceğini ileri sürmüştür. Bu düşünceden hareketle 1986-89 yılları arasında yapılan beş seri alan çalışmasında, atık su arıtım tesislerinin akıntularına yerleştirilmiş kafeslerde yetiştirilen erkek alabalıklardan elde edilen verilere göre (plazma VTG düzeyindeki yükselme), atık arıtım tesislerinin akıntılarının ölçülebilir düzeyde östrojenik maddeler içerdiği belirtilmiştir [35].

Bu konuda öncü çalışmalardan biri de Harries vd. [108] tarafından yine İngiltere’de atık su arıtım tesislerinin çıkış suyunun verildiği beş nehir üzerinde yapılmıştır. Çalışmada erkek alabalıklar nehirlerin atık su verilen noktalarına, bu noktaların üst ve alt kısımlarına kafes içerisinde yerleştirilmiş ve 3 hafta bu nehirlerin suyuna maruz bırakılmıştır. Çalışılan beş nehirden dördünde bulunan balıklarda plazma VTG düzeyi kontrol bölgesi ile kıyaslandığında önemli düzeyde yükselmiştir. Maruz

birakılmadan önce balıklardaki VTG düzeyi 10 ng/L düzeyinde iken, üç haftanın sonunda 1000 veya 10000 kat artış saptanmıştır.

Solé vd. [43] tarafından İspanya’da yapılan bir arazi çalışmasında, atık arıtım tesisi çıkış suyunun verildiği bir nehir sisteminde, arıtım tesislerinden kaynaklanan evsel ve endüstriyel atıkların sazın balıklarında mevsimsel etkisi, plazma ve hepatik VTG düzeyi ve mikrozomal EROD aktivitesi belirlenerek değerlendirilmiştir. Nehirde endüstriyel atık arıtım suyunun verildiği bölgeden 25 km aşağıda (akış yönü bakımından) yüksek oranda nonilfenol belirlenmiştir (suda 15 µg/L; sedimentte 645 µg/L). Bu bölgeden alınan erkek balıklarda kontrol alanından (atık arıtım suyunun verildiği bölgenin 5 km yukarısı) alınan balıklara göre plazma VTG düzeyi bütün dönemlerde (Ocak, Mart, Mayıs, Haziran) yüksek belirlenmiştir. Yine erkek balıklarda Mart ve Haziran aylarında kontrol alanına göre EROD aktivitesi yüksek belirlenmiştir. Enzim aktivitesindeki bu artış belirtilen dönemlerde erkek balıklarda hepatik VTG düzeyinin yüksek oluşu ile ilişkilendirilmiştir.

Haliçler, diğer su sistemleri ile karşılaştırıldığında tatlı ve tuzlu suyun karışım noktası olması nedeniyle, fiziko-kimyasal olarak dinamik, zengin ve farklı ekolojik sistemlerin var olduğu, aynı zamanda insan kaynaklı kirlenme faktörlerinin nehirler aracılığı ile denizlere girdiği bölgelerdir. Kirby vd. [115] tarafından İngiltere’de çeşitli kimyasallarla kirlendiği bilinen yedi haliç üzerinde yapılan bir çalışmada, PAH ve PCB ile kirlenmiş olan bölgelerden yakalanan *Platichthys flesus* balıklarında EROD indüksiyonu, HSI ve KF değerlerinde artış belirlenmiştir. Yine bu bölgelerde, balıklarda VTG indüksiyonunun da belirlenmesi EROD ve VTG parametreleri arasında pozitif bir korelasyona işaret etmektedir. Ancak çeşitli östrojenik bileşiklerin EROD baskılayıcı olarak işlev gördüğü bilindiğinden [120], bu tür ileri derecede kirlenmiş olan bölgelerde, biyobelirteç yanıtların yüksek MFO indükleyici ve östrojenik kirlenme konsantrasyonu nedeniyle belirsizleştiği bildirilmektedir.

ABD’de (Florida) kağıt fabrikası atıklarının 40 günlük biyolojik arıtmadan sonra verildiği çay ve bağlantılı nehir sisteminde yakalanan *Micropterus salmoides* türü balıkların dişi bireylerinde plazma VTG konsantrasyonlarında bir azalmanın olduğu, bu azalmanın su kirliliğinden kaynaklanan gonadlardaki körelme ile bağlantılı olabileceği iddia edilmektedir. Kağıt fabrikası atık suyuna maruz kalan balıklarda EROD aktivitesinin yükseldiği, ancak referans alanların birinde de EROD aktivitesinin arttığı ve bunun da balıkların kirlenmiş alan ve referans alanlar arasında hareket ettiğinin göstergesi olabileceği ifade edilmektedir [116].

Balıkların mevsimsel üreme döngülerinde plazma hormon düzeyleri önemli ölçüde değişimler gösterir. Bu hormonlar CYP aktivitelerinde eşey ilişkili farklılıklara neden olmaktadır. Alabalıklar üzerinde yapılan çalışmalarda bir üreme döngüsü boyunca takip edilmiş olan erkek balıkların hepatik CYP aktivitelerindeki artışın, plazma androjen düzeyleri ile paralellik gösterdiği saptanmıştır. Dişilerde ise geç üreme safhaları boyunca CYP aktiviteleri azalırken, plazma testosteron ve östradiol düzeyleri artmıştır. Dişilerde görülen CYP düzeyleri ve CYP aktivitelerinin azalışının östradiol aracılığı ile olduğu düşünülmektedir [121]. Bu konu ile ilgili olarak Baltık Denizi'nde *Perca fluviatilis*'in sağlık durumunun uzun bir zaman periyodunda değerlendirildiği bir çalışmada, 1988-2000 yılları arasında PAH konsantrasyonunun artışı ile bağlantılı olarak balıkların EROD aktivitesinin sürekli olarak arttığı belirlenmiştir. Diğer taraftan gonadosomatik indeks değerinin EROD'la ters orantılı olarak azaldığı, gonad küçülmesi nedeniyle östradiol üretiminin azaldığı ve bunun EROD aktivitesindeki baskılanmayı azaltmış olabileceği ileri sürülmüştür [122].

İspanya'da Haziran 2004'de bir nehre kaza sonucu 20000 L fuel-oil sızmıştır. Hızlı müdahale edilerek fuel-oil'in yayılması engellense de, çoğu toksik bileşen suda çözünerek ya da sediment partiküllerine bağlanarak sucul çevrede kalıcı olabilmektedir. Bu nedenle petrol sızması sonrası kısa ve uzun-kalıcı biyolojik etkiler ortaya çıkmaktadır. Nitekim yapılan çalışmada sızıntıdan henüz beş ay sonra bölgeden alınan sedimentte yüksek oranda petrol türevi bileşikler tespit edilmiştir. Sızıntının olduğu bölgeden alınan balıklar (*Barbus meridionalis*) ile sızıntının olduğu noktadan 10 km ötedeki bir alandan alınan balıklar ve referans alan olarak tespit edilen bölgeden (başka bir nehir) alınan balıkların EROD aktivitesi açısından önemli düzeyde farklılık tespit edilmiştir (sırasıyla 72-36-19 pmol/ dakika/mg protein) [123].

Ülkemizde, İzmir Körfezi'nde şehirleşme, endüstriyel ve tarımsal aktiviteler ve deniz taşımacılığı nedeniyle gerçekleşen organik kirliliğin (PCB, PAH) balıklar üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, yakalanan kefal (*Liza saliens*) ve dil balığı (*Solea vulgaris*) türlerinde mikrozomal EROD aktivitesi ve CYP1A1 protein düzeyi ölçülmüştür. Körfezin dört ayrı noktasından alınan kefal balıklarının hem EROD aktivitesi hem de CYP1A1 protein düzeyi körfez dışında bir bölgeden alınan balıklara göre önemli düzeyde yüksek belirlenmiştir. Farklı lokasyonlarda olmak koşuluyla, dil balıklarında da kirliliğe bağlı EROD aktivitesinde bir artış belirlenmiştir [124].

Portekiz kuzeybatı sahilindeki haliçlerde *Pomatoschistus microps* balık türü üzerinde çevresel kimyasalların yarattığı etki karaciğer EROD, beyin AChE aktiviteleri

ve diğ er birkaç biyobelirteç kullanılarak değ erlendirilmiştir. Ç alıřmada kontrol grubu ile kıyaslandığında AChE aktivitesinin, çeřitli kirlenici etkenlerle kirlendiđ i dűřünűlen bűtűn lokasyonlarda en az bir mevsimde % 20'den daha fazla inhibe olduđu belirlenmiştir. Bu veri, ortamda antikolinesteraz ajanların varlıđı ile iliřkilendirilmiştir. Seçilen alanlar içinde yüksek oranda arıtılmamıř evsel ve endűstriyel atık alan bir bűlgede ise önemli düzeyde EROD indűksiyonu belirlenmiştir [63].

EROD aktivitesi ve diğ er biyobelirteçler çevresel kirliliđ in balıklar ve sucul ekosistemler üzerindeki etkisini değ erlendirmekte yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak su sıcaklıđı ve diğ er mevsimsel deđ iřimler, űreme dűnemi gibi faktűrlerin bu biyobelirteçleri etkileyebileceđ i de göz önűnde bulundurulmalıdır. Buna göre, kullanılacak indikatűr türűn özelliklerinin ve biyobelirtecin hangi dűnemde kullanımının uygun olacađının bilinmesi önem kazanmaktadır. Bu dođ rultuda Kuzey Denizinde (Almanya) *Limanda limanda* balık türű üzerinde yapılan bir ç alıřmada, türűn karaciđ er EROD aktivitesinin biyolojik izleme ç alıřmalarında biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılmayacađı belirlenmeye ç alıřılmıştır. Arařtırma kapsamında 1995-2003 yılları arasında, farklı mevsimlerde toplam 610 ergin diři balık yakalanmıştır. Arařtırma bulgularına göre EROD aktivitesinde yıllık bir dűngű görűlmektedir. En yüksek EROD aktiviteleri yaz bařlarında (Mayıs-Temmuz aralıđı) en dűřük aktivite ise kışın (Ocak-Mart aralıđı) gözlenmiştir. Arařtırmacılar řayet yılın belirli bir dűneminde izleme yapılacak ise bunun, sıcaklık deđ iřimin eřeyssel dűngűyű tetiklemeyeceđ i, diğ er dűnemlere oranla dűřük ve daha kararlı bir EROD aktivitesinin gözlendiđ i sonbaharda (Ađ ustos-Eylűl) yapılması gerektiđ ini önermişlerdir [125].

Gűneybatı Fransa'da beř nehrin kirlilik düzeyinin izlendiđ i ve kirliliđ in balıklar üzerindeki etkisinin değ erlendirildiđ i bir ç alıřmada EROD, karaciđ er GST ve beyin AChE aktiviteleri ve safra PAH metabolit düzeyi biyobelirteç olarak kullanılmıştır. Biyoindikatűr tür olarak belirlenen *Leuciscus cephalus* balık türűnde AChE aktivitesinin, ađır metal bakımından (űzellikle Cd) kirliliđ i önceden belirlenmiş bir alanda kontrol alanı olarak seçilen gölden önemli düzeyde dűřük olduđu; EROD aktivitesinin ise kontrol alanından yüksek olduđu belirlenmiştir. Yine aynı balık türűnde safra metabolitlerinin yüksek belirlendiđ i, kimya sanayi atık suyunun verildiđ i bir alanda EROD aktivitesinin de önemli düzeyde yüksek olduđu gösterilmiştir. Belirtilen alanlarda, kontrol alanına oranla GST aktivitesi bakımından istatistiksel açından önemli bir fark bulunmamıştır [126].

İsveç'in batı sahilllerinde referans alan olarak seçilen bir bölgeden yakalanan *Zoarces viviparus* balık türünde seçilen biyobelirteçler 1989-2001 aralığında 13 yıl süreyle izlenmiştir. Bu süre içerisinde her yıl aynı dönem ve yerlerde yakalanan dişi balıklarda karaciğer GST, GR ve EROD aktiviteleri ve KF ve HSİ değerleri ve birkaç diğer belirteç ile erkek balıklarda EROD aktivitesi belirlenmiştir. Bu süre içerisinde dişi balıklarda HSİ değeri 1989-2000 arasında değişim göstermezken, 2001'de % 1.8 oranında artmıştır. KF değerinde, GST ve GR aktivitelerinde yıllar arasında önemli dalgalanmalar gerçekleşmemiştir. 1996 ve 2000 yıllarında önemli düzeyde EROD indüksiyonu belirlenmiştir. Bu indüksiyonun açlık, sıcaklık gibi faktörlerden ziyade, bölgede çalışma döneminde gerçekleşen petrol sızıntılarından veya 5 yıllık uzun süreli dönemsel EROD indükleyicisi taşıyan akıntılardan kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Diğer bir iddia ise, belirtilen dönemlerde yoğun alg üremesi sonrası yayılan toksinlerin EROD indüksiyonuna neden olabileceği şeklindedir [127].

İtalya'da bir lagündeki *Anguilla anguilla* ve *Mugil cephalus* balıklarında çeşitli biyobelirteçlerin mevsimsel (Ocak, Mart, Ağustos, Ekim) değişimlerinin incelendiği bir çalışmada, EROD aktivitesi sadece *A. anguilla*'da Ekimde; GST, GPx ve CAT aktivitesi her iki balıkta Ağustos ayında, diğer aylara kıyasla önemli düzeyde yüksek belirlenmiştir. Ekim ayında safra metabolit düzeyinin düşük oluşu (Ocak ayına kıyasla) nedeniyle, EROD aktivitesindeki artış, belirtilen dönemin yumurtlama dönemi olması ve bu dönemde üreme aktivitesindeki artışa bağlanmıştır. Ağustos ayında GST, GPx ve CAT enzimlerin aktivitelerinin yüksek olması, yüksek güneş ışığına bağlı olarak suyun sıg olduğu bölgelerde, suda çözülmüş organik karbonun fotokimyasal olarak reaktif oksijen türlerine (ROS; H₂O₂, •OH) yıkımının artmasına ve antioksidant sistemin pro-oksidant baskısına maruz kalmasına bağlanmıştır [128].

Kuzey Amerika'da kirliliği bilinen üç göldeki *Ameiurus nebulosus* balık türünde hepatik EROD aktivitesi, safra flüoresan aromatik bileşik (FAB) düzeyi ve HSİ değerleri ölçülerek referans iki bölge ile karşılaştırılmıştır. Eşeyler arasında EROD aktivitesi açısından bir farklılık belirlenmemişken, kirli göl alanlarında EROD aktivitesinin referans alandan 2-3 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışmada yüksek miktarda aromatik hidrokarbonlarla kirlenmiş alanlarda HSİ ve EROD aktivitelerinin benzeri artışlar gösterdiği belirtilmektedir. Laboratuvar çalışmalarında hepatik EROD ve safra FAB düzeyi arasında doğrusal bir ilişkinin varlığından bahsedilirken, bu çalışmada böyle bir ilişki bulunamamıştır. Ancak aromatik hidrokarbon kirliliğinin olduğu bölgelerde FAB düzeyi yüksek belirlenmiştir [129].

Bir OP insektisit olan kloropirofos ile kirlendiği bilinen bir gölde *Micropterus salmoides*, *Lepomis macrochirus* ve *Notemigonus crysoleucas* türlerinden balıklarının öldüğü, *Gambusia affinis* türüne ait balıkların ise ölmediği belirlenmiştir. Bu sonuçtan hareketle gölde bulunan değişik balık türlerinin kloropirofos'a karşı duyarlılığının değerlendirildiği çalışmada, maruz kalmadan üç gün sonra dört türün de bireylerinin karaciğerinde analitik kimya teknikleriyle kloropirofos belirlenmiştir. Ancak kontrol bölgesi olarak seçilen bir gölden alınan balıklarla karşılaştırıldığında *G. affinis* balıklarında beyin AChE inhibisyonu sadece %77 oranında gerçekleşirken, diğer türlerde bu oran %87-93 düzeyinde belirlenmiştir. Karaciğer aliesteraz (AliE-CaE) aktivitesi ise *M. salmoides*, *N. crysoleucas* ve *G. affinis*'de %90'dan daha fazla inhibe olurken, *L. macrochirus*'da inhibisyon %77 oranında bulunmuştur. Yine aynı çalışmanın laboratuvar ayağında, maruz kalmış balıklar laboratuvar ortamında yaşatılmış ve enzim aktivitesinin geri dönüşü belirlenmeye çalışılmıştır. 60 gün sonunda *G. affinis*'de beyin AChE aktivitesi tamamen, karaciğer CaE aktivitesi ise %50 oranında geri dönmüştür. Sonuç olarak göl balıklarında görülen akut toksisitenin asıl belirleyicisinin beyin AChE olduğu ve bu enzimin değişik türlerde, kimyasallara farklı duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir. Kloropirofosa maruz kalma sonrası karaciğer CaE'nin inhibisyonunun toksisitede rol oynamadığı, ancak inhibisyonun insektisidin aktif metabolitlerinin hayati dokulardaki metabolik süreçleri bozmasına engel olduğu ileri sürülmektedir [130].

Lopes vd. [131] tarafından Güneybatı Portekiz'de bakır madeni atıkları ile kirlenmiş bir nehirdeki *Leuciscus alburnoides* balık türünde ağır metal kirliliğinin değerlendirildiği bir çalışmada mevsimsel olarak, GST aktivitesi, karaciğer dokusunda çeşitli ağır metallerin düzeyi ve suyun fiziko-kimyasal parametreleri ölçülmüştür. Kontrol alanı ile karşılaştırıldığında suda sülfat (8.1-1136 mg/L), Mg (18-40 mg/L), Mn (0.7-36 nM), Fe (0.5-21 µM) ve Cu (12-110 nM) değerinin ve balıklarda hepatik Cu ve Se düzeyinin yüksek belirlendiği alanda GST aktivitesi kontrol alanından önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. GST aktivitesindeki artış, bu elementlerin yüksek konsantrasyonlarına devamlı maruz kalma sonucu balıkların metabolik adaptasyonu ile ilişkilendirilmiştir.

De la Torre vd. [101] tarafından Arjantin'de yapılan bir çalışmada, yoğun nüfuslu bir şehrin yakınlarında bulunan ve insan kaynaklı kirleticilerle kirlendiği düşünülen bir nehrin, yaz mevsiminde su kimyasal analizleri yapılmıştır. Ayrıca, aynı dönemde nehirden yakalanan *Cnesterodon decemmaculatus* balık türünde beyin AChE, karaciğer

AST ve ALT aktiviteleri ve HSI ve KF değerleri ölçülerek, kontrol alanı olarak belirlenen yapay bir gölden alınan balıklarla bu biyobelirteç değerleri ve su kimyasal değerleri karşılaştırılmıştır. Su kimyasal değerleri açısından kontrol alanı ile önemli bir farklılığın olduğu, özellikle KOİ (81-<10 mg/L), amonyum (13.1-<0.8 mg N-NH₄/L), fosfat (11.2-<0.1 mg PO₄⁻³/L), Cu (3.5-<1 µg/L), Pb (7.5-<5µg/L) ve Cd (2.2-<1µg/L) değerlerinin kontrol alanından önemli düzeyde yüksek, çözünmüş oksijen (0.4-8.2 mg/L) düzeyinin ise düşük olduğu belirlenmiştir. Balık biyobelirteçlerine bakıldığında nehirde alınan balıkların AChE ve ALT aktiviteleri ve HSI değeri kontrol alanından alınan balıklardan önemli düzeyde düşük, AST aktivitesi ise önemli düzeyde yüksek belirlenmiştir. KF değerinde ise bir değişiklik gözlenmemiştir.

Kanada'da (Quebec) madencilik alanından kaynaklanan Cd, Zn ve Cu elementleri ile yüksek oranda kirlenen üç göl üzerinde yapılan bir çalışmada *Perca flavescens* balık türünde böbrek metal birikimi, HSI ve KF değerleri ve karaciğer AST, ALT ve LDH aktiviteleri ölçülmüştür. Yaz ve Sonbahar mevsimlerinde alınan balık örneklerinde, böbrek Cd ve Zn düzeylerinin kontrol alanı olarak seçilen iki göle kıyasla önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Yine su metal düzeyinin yüksek olduğu göllerde balıkların HSI değerinde bir değişim gözlenmezken, KF değerinin kirlenmiş göllerden alınan balıklarda önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Yazın balık enzim aktivitelerinde bir değişimin olmadığı ve sonbaharda maden alanına en yakın ve yüksek oranda kirlenmiş olan gölde balıklarda karaciğer AST aktivitesinin önemli düzeyde arttığı saptanmıştır [132].

2.2. Laboratuvar Çalışmaları

Günümüzde evsel ve endüstriyel atıkların belirli düzeylerde PAH içerdiği ve bu maddelerin sucul biota üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceği düşüncesinden hareketle yapılan bir çalışmada, *Oreochromis mossambicus* balık türü saf fenantrene ve içerisindeki total PAH miktarı (478 µg/L) bilinen yağ rafinerisi çıkış suyuna maruz bırakılmıştır. 6-32 µg/g fenantren enjekte edilen ve 3 gün sonunda biyobelirteç olarak karaciğer EROD ve GST aktiviteleri belirlenen balıklarda, hem EROD hem de GST aktivitelerinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde artış belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında ¼ oranında sulandırılmış rafineri çıkış suyuna iki hafta süreyle maruz bırakılan balıkların safralarında yüksek oranda benzo(a)piren (B(a)P) tipi PAH

metaboliti belirlenmiştir; ayrıca EROD aktivitesinin de önemli düzeyde yükseldiği gözlenmiştir [133].

EROD aktivitesinin ölçümü PCDD'ler, PCDF'ler, PCB'ler ve PAH'ları içeren, CYP1A indükleyici bileşiklere balıkların maruz kalması durumunda biyobelirteç olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Modern fabrikaların atıkları, bu klorlu kalıcı bileşiklerin çoğundan yoksun olmasına rağmen, araştırmacılar bu atıkların balıklarda EROD'u indükleyebildiğini göstermişlerdir. Örneğin klor içermeyen bir kağıt fabrikasının çıkış suyuna maruz kalan alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) EROD, GST ve GR aktivitelerinin arttığı rapor edilmiştir [134].

Çin'de evsel ve endüstriyel atık suların arıtımının yapıldığı büyük ölçekli (1 milyon m³/gün) bir arıtım sistemi çıkış suyunun toksisite ve östrojenitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, *Oryzias latipes* balık türünün erginleri değişik konsantrasyonlarda (% 5, 10, 20, 40, 50) çıkış suyuna, 28 gün süreyle maruz bırakılmıştır. Uygulamanın bütün konsantrasyonlarında erkek bireylerde VTG ve her iki eşeyde EROD indüksiyonu gerçekleşmesine karşın, indüksiyon doz ilişkili değildir. En yüksek indüksiyon her iki parametre için %20 konsantrasyonda gerçekleşmiş, daha yüksek konsantrasyonlarda indüksiyonda bir azalma görülmüştür. HSI değeri dişi ve erkek balıklarda sırasıyla %10 ve %20 konsantrasyonlarda önemli ölçüde artmış, %40 ve %50 konsantrasyonlarda ise düşmüştür. Buna göre %20 ve altı konsantrasyonlarda çevreye verilen çıkış suyunun balıklarda östrojenik olduğu ve %40 ve %50 konsantrasyonlarda ise doğrudan karaciğer bozukluğuna neden olduğu ileri sürülmüştür [135].

Diniz vd. [136] tarafından yapılan bir çalışmada 200 bin nüfuslu bir şehrin büyük oranda evsel atık su ve belirli miktarlarda sanayi atık suyundan oluşan atık suyunun, arıtım sisteminden geçtikten sonraki östrojenitesi belirlenmiştir. Çalışmada günlük 52500 m³ atık arıtımı yapabilen atık arıtım tesisinden farklı dönemlerde alınan (ilkbahar, kış) çıkış suyu çeşitli oranlarda sulandırarak (% 0, 25, 50, 100), sazan balıkları 28 gün süreyle bu suya maruz bırakılmıştır. Alınan atık su arıtım tesisi çıkış suyunun doz ilişkili olarak hem erkek hem de dişi balıklarda VTG üretimini indüklediği ve kış dönemi indüksiyonunun ilkbahar döneminden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzeri diğer bir çalışmada atık arıtım sistemi suyunun değişik konsantrasyonlarına gelişimin erken dönemlerinde (tür için embriyonik gelişim ve eşeyssel farklılaşmanın olduğu dönem) uzun süreli olarak (300 gün) maruz bırakılan *R. rutilus* balık türünde,

uygulamanın yüksek dozlarında dişileşmiş balık yzdesinde ve plazma VTG dzevinde önemli artışlar tespit edilmiştir [137].

Portekiz’de kirlendiđi dűřnűlen bir halięte farklı dűnemlerde yakalanan *Mugil cephalus* balıkları belli bir sűre (1, 4 ve 8 ay) laboratuvar ortamında yařatıldıktan sonra, karaciđer EROD ve GST aktiviteleri ile HSI ve KF deđerleri ۆlçűlmű ve ilk alınan ۆrneklerin deđerleri ile bu deđerler karřılařtırılmıřtır. Laboratuvar kořullarına alınan balıkların EROD aktivitelerinin bir ayın sonunda önemli oranda dűřtűđű belirlenmiřtir. GST aktivitesinde bir deđerim geręekleřmemiřtir. Yakalanan dűnemler arasında HSI deđerini aęısından bir deđerim gűzlenmezken, laboratuvar kořullarında HSI deđerinin bűtűn gruplarda azaldıđı belirlenmiřtir. Bu durumun laboratuvar beslenme kořulları ile veya balıkların kirlenmiř ortamdaki alınıdıktan sonra toksik madde bakısından kurtulması sonucu karaciđer bűyűmesindeki gerileme ile ilgili olabileceđi ileri sűrűlműřtir. KF deđerini aęısından farklı dűnemlerde farklı seyirler gűzlenmiřtir. İki dűnemde zamana bađlı olarak laboratuvar kořullarında KF deđerini önemli oranda dűřerken, űç dűnemde KF deđerini zamanla yűkselmiřtir [138].

EROD aktivitesi űzerinde ۆstrojenin baskılayıcı bir rol oynadıđı ve en azından kısmi olarak mevsimsel deđeriklenliđe neden olduđu bilinmektedir. Fűrlin ve Hansson [139] alabalıklarda hipofizin yokluđunda ۆstradiolűn, hem steroid hem de ksenobiyotik substratları katalizleyen hepatik CYP sistemini inhibe ettiđini gűstermiřlerdir. Ayrıca ۆstrojenik bir kimyasal olan 4-nonilfenol’un *Salmo salar* balık tűrűnde ksenobiyotik ve steroid biyotransformasyon enzimleri űzerindeki etkisinin deđerlendirildiđi bir ęalıřmada, maruz kalma sonrası EROD aktivitesinde doz bađımlı bir azalıřın olduđu belirlenmiřtir. Bunun EROD aktivitesinden ziyade, CYP1A protein dűzeyinin azalmasından kaynaklandıđı rapor edilmiřtir [120].

Ancak her ۆstrojenik maddenin EROD baskılayıcı olduđu sűylenemez. ۆrneđin bir insektisit olan pentaklorofenol’űn *Oryzias latipes* tűrű űzerindeki etkisinin deđerlendirildiđi bir ęalıřmada, 28 gűn boyunca su ortamında 10-200 µg/L konsantrasyonlarında insektiside maruz bırakılan balıklarda doz/yanıt iliřkisi aęısından bir dođrusallık olmasa da, erkek balıkların hem plazma VTG konsantrasyonunda hem de EROD aktivitesinde önemli dűzeyde bir artıř belirlenmiřtir [140].

Bir PCB karışımı olan Aroklor 1254’űn Akdeniz’in farklı bűlgelerinde yakalanan yılan balıklarında (*Anguilla anguilla*) belirlenmesi nedeniyle, bu PCB karışımının kastaki birikim miktarı ve neden olduğu EROD indűksiyonu bir laboratuvar ęalıřması ile değerlendirilmiştir. ęalıřmada, balıklar ęeřitli dozlarda (0-50 mg/kg) Aroklor 1254’e

8 gün süreyle maruz bırakılmışlardır. Kastaki PCB miktarı (0.05-6.15 µg/g) ve mikrozomal EROD aktivitesinin (4.1-91.4 pmol/dakika/mg protein) benzer şekilde doz ilişkili olarak arttığı, ancak karışımın TCDD, B(a)P ve βNF gibi diğer çevresel kirleticilere göre daha zayıf bir EROD indükleyici olduğu belirlenmiştir [141].

PCB'ler ve çeşitli diğer organik bileşiklerin, balıklarda ksenobiyotikleri metabolize eden CYP1A izozimlerini indüklediği ve organik kirleticilerin yanı sıra çeşitli steroid hormonların, çevre sıcaklığı ve besin bulunabilirliğinin EROD aktivitesini etkilediği uzun süredir bilinmektedir. Açlık, yağ doku ve/veya karaciğer yağ damlacıklarından yağın hareket etmesini tetikler, böylece yağ dokuda depo edilen lipofilik toksikantlar da hareket eder. *Oreochromis mossambicus* balık türünde besin yolu ile PCB 126 bileşiğine maruz bırakıldıktan sonra hapsedilerek yaratılan stresin ve açlığın EROD indüksiyonu üzerindeki etkisinin değerlendirildiği çalışmada, açlık öncesi hem 0.5 µg/L hem de 50 µg/L PCB uygulamasının karaciğer ve böbrek EROD aktivitesinin indüklendiği, indüksiyonun hapsedilmiş balıklarda daha da arttığı belirlenmiştir. 3 haftalık açlık periyodu sonrası karaciğer EROD aktivitesinin PCB tarafından indüklendiği, hapsedilmenin indüksiyonu arttırdığı, ancak açlığın indüksiyon üzerinde etkili olmadığı gözlenmiştir. Böbrekte ise açlık periyodu hem PCB hem de hapsedilmeden kaynaklanan EROD indüksiyonunu arttırmıştır [142].

Karbaril (karbamat) ve azinfos metil (organofosfat) pestisitlerinin subletal dozlarının, ergin olmayan *Oncorhynchus mykiss*'in detoksifikasyon enzimleri üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada her iki pestisidin, farklı uygulama sürelerinde (24, 48, 96 saat) karaciğer CaE aktivitesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu sonuçtan hareketle hepatik CaE'nin belirtildiği gibi beyin AChE'i korumak için alternatif bir hedef olarak kullanılamayacağı iddia edilmiştir. 24 saatlik karbaril uygulamasında hem karaciğer ve böbrekte GST aktivitesinin hem de karaciğer CYP1A düzeyinin önemli oranda arttığı tespit edilmiştir. Böylece karbarilin temelde GST tarafından metabolize edilmediği, Faz I reaksiyonları sonrası oluşan metabolitlerin GST indüksiyonuna neden olduğu sonucuna varılmıştır. Azinfos metil, ne GST ne de CYP1A indüksiyonuna neden olmuştur [143].

B(a)P ve sodyum dodesilbenzen sülfonat (SDBS) benzen halkası içeren, tarımsal ve endüstriyel aktivitelerden ve evsel atık sulardan kaynaklanan tipik kirleticilerdir. Bu kimyasalların *Lateolabrax japonicus* balıklarında antioksidant sistem enzimleri ve AChE üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Buna göre 2 ve 20 µg/L B(a)P uygulaması sonrası balıklarda GST aktivitesi 6. günde inhibe olmuş, 18. günde ise

kontrol grubuna göre önemli düzeyde artmıştır. SDBS uygulamasında ise, GST aktivitesi sadece 12. günde 0.1 mg/L uygulamasında artmıştır. B(a)P uygulamasında beyin AChE aktivitesinde bir değişim gözlenmezken; 6, 12 ve 18 günlük SDBS uygulamasında enzim aktivitesi önemli düzeyde artmıştır. AChE aktivitesindeki bu dikkat çekici artışın; SDBS'nin anyonik yapıda olması, enzim ile birleşebilmesi ve enzimin konformasyonunda değişime neden olması sebebiyle olabileceği ileri sürülmüştür [144].

Ru vd. [83] tarafından yapılan bir çalışmada, bir OP pestisit olan monokrotofos'un subletal konsantrasyonlarına (0, 0.5, 1, 1.5 ve 2 mg/L) maruz bırakılan *Sciaenops ocellatus* türünde beyin AChE ve karaciğer CaE aktivitesindeki inhibisyonlar değerlendirilmiştir. Çalışmada 4 gün süreyle 2 mg/L pestiside maruz bırakılan balıklarda AChE aktivitesinin % 85.8 düzeyinde inhibe olduğu, ancak balıkların bu inhibisyonu tolere edebildiği belirlenmiştir (ölüm görülmemiştir). 7 gün süreyle 0.5 mg/L pestiside maruz bırakılan balıklarda AChE aktivitesinde zamana bağlı bir inhibisyon söz konusu iken, CaE aktivitesi en kısa süreli (4 gün, % 89.8) ve en düşük dozda pestisit (0.25 mg/L, %83.2) uygulamalarında bile önemli düzeyde inhibe olmuştur. Bu verilerin ışığında CaE'nin monokrotofos ile etkileşerek geri dönüşümsüz fosforillenmesinin, AChE'yi bu bileşiğin ataklarından koruduğu ileri sürülmüştür.

Kauçuk katkı maddelerinin *Oncorhynchus mykiss* balık türü üzerinde toksik etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, 20 m uzunluğunda kauçuk bir borudan verilen suya (300 ml/dakika) bir hafta maruz bırakılan balıklarda mikrozomal EROD ve karaciğer GR aktivitesinin önemli düzeyde arttığı belirlenmiştir. Yine bu çalışmada maruz bırakılan balıkların safra içeriklerinde ve/veya uygulama suyunda kauçuk katkı maddelerinden 2-merkaptobenzotiazol ve bunun türevi bileşiklerin bulunması nedeniyle, bu maddeden 20 mg/kg'ın enjeksiyonla verildiği balıklarda GST, GR ve GSH düzeylerinin uygulamayı takip eden 2. günde önemli düzeyde arttığı belirlenmiştir [145].

Fenol ve türevleri endüstriyel atık sularda ve spesifik olmayan pestisit, herbisit, bakterisit ve fungusitlerde yaygın olarak bulunan maddelerdir. 2 ppm düzeyinde fenol içeren suya 4 gün süreyle maruz bırakılan *Brycon cephalus* balık türünün ergin olmayan bireylerinde karaciğer ve kas ALT, AST ve LDH aktivitelerinde önemli değişimler gözlenmiştir. LDH aktivitesindeki artış maruz kalma süresince hepatik detoksifikasyon enzimlerinin sentezinde artış sonucu artan enerji ihtiyacı ile ilişkilendirilmiştir. Karaciğer glikojen miktarının düşüşü bunu doğrular niteliktedir. Çalışmada ALT

aktivitesi maruz kalma sonrası artarken, AST aktivitesi önemli düzeyde düşmüştür [146]. Fenole maruz kalma sonrası artan enerji ihtiyacını karşılamak için proteinlerin alternatif enerji kaynaklarına dönüşebildiği ve bununla ilişkili olarak AST ve ALT aktivitesinde artış, protein içeriğinde ise azalma olduğu başka çalışmalarda bildirilmiştir [147, 148].

Bir organo-karbamat pestisit olan karbofuranın periferik ve ayrıca merkezi organlarda, beyinde ve nöromuskular bağlantıların sinapslarında AChE inhibisyonuna neden olduğu bilinmektedir [149]. Karbofuranın düşük konsantrasyonlarına (0.01-0.02 mg/L) maruz bırakılan *Clarias batrachus*'un farklı dokularında (karaciğer, kalp, böbrek, beyin, solungaç ve kas) LDH aktivitesinde ve protein içeriğinde önemli azalmaların olduğu belirlenmiştir. *C. batrachus*'un farklı organlarında LDH aktivitesindeki azalma karbofuran konsantrasyonu ve uygulama süresindeki (4-15 gün) artışla doğrusal bir ilişki göstermiştir. Bulgular pestisidin bu terminal glikolitik enzim üzerindeki inhibe edici etkisinin enzim-inhibitör kompleksinin oluşumundan kaynaklanabileceğini göstermektedir. Bunun sonucu olarak LDH aktivitesindeki azalma *C. batrachus*'un karbonhidrat metabolizmasının bozulmasına neden olmaktadır [94].

Karbofuran insektisidinin *C. batrachus* balık türünde indüklediği biyokimyasal değişimlerin değerlendirildiği diğer bir çalışmada, 6 gün süreyle insektiside maruz bırakılmış, maruz bırakıldıktan sonra 6 gün süreyle temiz suya alınmış ve bir de kontrol grubu olmak üzere üç balık grubu oluşturulmuş, sonuçta karaciğer total protein, aminoasit, amin düzeyleri ve AST ve ALT aktivitesi belirlenmiştir. Bu çalışmada aminoasit, amin düzeyleri ve transaminaz aktiviteleri maruz bırakılan balıklarda kontrol balıklarına oranla artmış ve maruz bırakıldıktan sonra temiz su ortamına alınan balıklarda ise belirtilen parametreler kontrol balıklarındaki düzeylere inmiştir [150].

Dietil fitalat (DEP) plastik sanayinde esnekliği artırıcı madde olarak ve parfümeri sanayinde çeşitli amaçlarla yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu maddenin *Cirrhina mrigala* tatlı su balığındaki toksik etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, 3 gün süreyle 25 ppm DEP'e maruz bırakılan balıklarda, karaciğer ALT ve AST aktivitelerinin önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir. DEP'e maruz kalma sonrası gerçekleşen doku hasarının giderilmesi amacıyla protein yapım ve yıkımı ve solunum hızının artması ve bununla ilişkili olarak transaminaz aktivitesinin de arttığı ileri sürülmüştür. Çalışmada uygulama sonrası beyin AChE aktivitesinin ileri düzeyde azaldığı ve bunun balıklarda uyumsuzluğa neden olduğu görülmüştür [151].

Oreochromis mossambicus ile yapılan bir çalışmada decise (deltamethrin 98%) (0.1 mg/L), potaşa (gübre kaustik potaş, % 45 KOH) (300 mg/L) ve her iki bileşiğe birlikte (0.1 mg/L + 300 mg/L) 28 gün süreyle maruz bırakılan balıklarda plazma ve karaciğer AST ve ALT aktivitesi değerlendirilmiştir. Maruz bırakılan balıklarda değişik önemlilik düzeylerinde plazma AST ve ALT aktivitesi artarken, karaciğer transaminaz aktivitesi önemli düzeyde azalış göstermiştir. Transaminazlar protein sentezi sürecinde serbest aminoasit dengesinin sağlanmasında yer alırlar. Karaciğer dokusunda bu enzimlerdeki değişimlerin, kimyasal stres koşullarında protein metabolizmasındaki olası değişimlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Plazmada transaminaz aktivitelerindeki artışın diğer çalışmalara benzer şekilde dokulardaki olası hücresel bozulmalar ile ilgili olduğu belirtilmiştir [152].

Güney Brezilya'da pirinç tarımında, zararlı otların yok edilmesi için yaygın olarak kullanılan klorazon herbisidinin, pirinç tarımı yapılan arazilerin yakınlarındaki nehirlerde yüksek oranda belirlenmesi nedeniyle, herbisit balıklar üzerindeki olumsuz etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla herbisit *Rhamdia quelen* balık türünde protein parametreleri, hematolojik parametreler ve karbonhidrat metabolizması üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmada, plazma AST ve ALT düzeylerin uygulama periyodu süresince arttığı, balıklar temiz suya alındıklarında ise artışın kalıcı olmadığı belirlenmiştir. Bunun aksine karaciğer AST ve ALT enzimlerinin uygulama periyodu süresince artmış, ancak bu artış sadece AST için geri dönüşüm periyodu boyunca kalıcı olmuştur [153].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Balık Örneklerinin Sağlanması

Araştırma için, diğer balık türleri ile karşılaştırıldığında baraj gölünde yoğun olarak bulunan, ekonomik önemi nedeniyle yoğun olarak avlanan ve beslenme alışkanlıkları nedeniyle çevresel kirleticilerin etkisini iyi temsil eden bir tür olan sazan balığı (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758) kullanıldı. Balıklar farklı istasyonlardan (Adagören, Boran, Eğribük ve Hasırcılar) ve farklı dönemlerde yakalandı. Çalışma alanı olarak seçilen Karakaya Baraj Gölü ve örneklerin toplandığı istasyonlar Şekil 1.1’de gösterilmiştir.

Balık örnekleri farklı dönemlerde, barajdaki olası kirliliği ve değişik kirlilik yüklerini temsil ettiği düşünülen dört istasyondan, her biri 200 metre uzunluğunda olan fanyalı ağlar atılarak (gözenek büyüklüğü 65x65 mm) yakalandı. Kasım, Aralık 2004; Nisan, Mayıs, Temmuz, Eylül, Ekim 2005; Mart, Nisan 2006 dönemlerinde örnekler toplanarak dört mevsimde de kirliliğin balık popülasyonu üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Ayrıca yumurtlama öncesi (Mart, Nisan 2006), yumurtlama (Nisan, Mayıs, Temmuz 2005) ve yumurtlama sonrası (Eylül, Ekim 2005) dönemlerde baraj gölünden alınan balık örneklerinde olası endokrin bozucu etkinin varlığı tespit edilmeye çalışıldı.

Balıklar ağdan canlı olarak alındıktan sonra, içerisinde trikain metansülfonat (MS222, 1 mg/10 L su) bulunan kaba konuldu. Böylece kısa süreli olarak uyuşturulan balık örneklerinden, heparinli enjektörler (2TIU, 2 ml hacimli) kullanılarak kaudal venadan kan örnekleri alındı. Plazma enzim düzeylerinin belirleneceği örnekler için içerisinde sadece heparin bulunan tüpler kullanılırken, VTG analizinin yapılacağı plazma örneklerinin alınacağı tüplere ayrıca fenilmetilsülfonil florid (PMSF, son konsantrasyonu 0.1 M) ilave edildi. Bu sayede proteolitik enzimlerin VTG üzerindeki etkisinin önlenmesi amaçlandı. Alınan kan örnekleri (her bir balık örneğinde 2+2=4 ml) arazi koşullarında bir jeneratör yardımı ile çalıştırılan santrifüj ile 5000 rpm’de 5 dakika süre ile santrifüj edilerek, plazma elde edildi ve eppendorf tüplerine aktarılan örnekler buz içerisinde olabildiğince hızlı (yaklaşık 1-2 saat içinde) bir şekilde laboratuvara taşındı. Kan örneklerinin alınmasından sonra kafalarına sert bir cisimle, şiddetli bir şekilde vurulmak suretiyle öldürülen balık örnekleri de buz içerisinde diğer örneklerle birlikte laboratuvara taşındı.

Laboratuvarında balık örneklerinin ağırlıkları ve boyları ölçüldükten sonra karaciğer ve beyin dokuları alındı. Dokular, her istasyon için örnekleme istasyonu, yakalanış tarihi ve örnek numarası belirtilen bir etiket ile alüminyum folyoya sarıldıktan sonra enzimatik analizler için dokuların homojenize edileceği güne değin $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ derin dondurucuda saklandı.

Balık örneklerinin alındığı dönemlerde ayrıca su örnekleri alınarak kahverengi şişeler içerisinde, buz üzerinde laboratuvara taşındı.

3.2. Biyolojik Parametrelerin Hesaplanması

Yakalanarak laboratuvara getirilen balık örneklerinin baş-kuyruk arası boyları ve ağırlıkları ölçüldü. Kondüsyon faktörü “KF: $100 \times \text{vücut ağırlığı (g)} / [\text{boy (cm)}]^3$ ” formülü kullanılarak hesaplandı. Karaciğer örnekleri, enzimatik çalışmalar için homojenize edilmeden önce tartıldı ve elde edilen ağırlık değerlerine göre hepatosomatik indeks, “HSİ: $100 \times \text{karaciğer ağırlığı (g)} / \text{vücut ağırlığı (g)}$ ” formülü ile hesaplandı.

3.3. Karaciğer Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Homojenizasyon amacı ile dondurucudan alınan dokuların buz üzerinde çözünmesi sağlandı. Karaciğer örneklerinin homojenizasyonu amacıyla tartılan dokular, politron homojenizatörde (Ika Instruments, Germany) 18,000 rpm devirde 2 kez 15'er saniye süre ile parçalandı. Parçalama, doku ağırlığının 4 katı hacimde (w/v) soğutulmuş homojenizasyon tamponu (pH 7.4, 0.1 M potasyum fosfat tamponu içinde: 0.15 M KCl; 1 mM EDTA; 0.05 mM DTT bulunmaktadır) ile bir buz kabında yapıldı. Çalışmaların tüm aşamalarında örnekler buz içerisinde korundu.

Homojenizasyon sonrası homojenatların 1/10'u alınarak sitozolik enzimlerin eldesi amacı ile eppendorf tüplerine aktarıldı. Homojenat $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 16,000 xg devirde 20 dakika süre ile santrifüj edildi. Santrifüj sonrası supernatant kısmı alınarak, beklemeksizin sitozolik enzim aktiviteleri ölçüldü.

Homojenatın geriye kalan kısmı mikrozom eldesi için kullanıldı. Homojenatlar ultrasantrifüj tüplerine alınarak yeterince tampon eklendikten sonra, ilk olarak 10,000 rpm'de $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dakika süre ile santrifüj edildi. Santrifüj sonrası supernatant alınarak ikinci kez 30,000 rpm'de $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 60 dakika santrifüj edildi. Bu santrifüj işleminin

sonunda ise supernatant kısmı atılarak pellet cam-teflon homojenizatörde 8-10 vuruş ile yeniden süspanse edildi ve 30,000 rpm'de 4 °C'de 60 dakika süre ile son kez santrifüj edildi. Elde edilen pellet kısmı 1/1 (w/v) oranında saklama tamponu (20 ml gliserol + 80 ml homojenizasyon tamponu) kullanılarak cam-teflon homojenizatörde 8-10 vuruş ile süspanse hale getirildi ve bekletilmeden mikrozomal EROD aktivitesi ölçümünde kullanıldı.

3.4. Beyin Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Doku homojenizasyonuna başlanırken, örnekler buz üzerinde çözümlerini takiben, alüminyum folyolardan alınarak tartıldı. Her bir doku örneğine, ağırlığının 35 mg'ı için 1 ml trizma tamponu (pH 7.4, 0.1M), (Sigma Corp., USA) olacak şekilde tampon eklendi. Doku örnekleri buz kabı içinde cam-teflon homojenizatör kullanılarak, 12-15 vuruş ile 6,000 rpm'de parçalandı.

Parçalanmış dokular eppendorf tüplerine aktarılarak, 4°C'de 20 dakika süreyle 16,000 xg'de santrifüj (Microcentrifuge 157. mp, Ole Dich Instrumentmakers, Denmark) edildi. Santrifüj sonrası elde edilen supernatant bekletilmeden beyin AChE ve CaE enzim aktivitelerinin ölçümleri için kullanıldı.

3.5. Enzimatik Çalışmalar

Bütün sitozolik ve mikrozomal enzim aktivitesi ve toplam protein miktarı ölçüm işlemleri santrifüj işleminden hemen sonra, örnekler bekletilmeksizin, mikroplaka okuyucu sistemleri (Versamax® ve Gemini XS, Molecular Devices Corp., USA) kullanılarak yapıldı. Enzim aktivitesi ve toplam protein miktarı ölçümlerinde, her bir örnek için dört tekrarlı absorbans okuması yapıldı. Aynı örnek için elde edilen değerler arasında % 10'dan daha büyük korelasyon farkı bulunduğunda, okuma işlemi yinelenirdi. mOD (milioptik densite) cinsinden alınan absorbans değerleri OD'ye (optik densite) çevrilerek hesaplamalar yapıldı. Karaciğer ve beyin dokularında çalışılan bütün enzimlerin aktiviteleri, örneklerdeki toplam protein düzeyleri ölçüldükten sonra spesifik aktivite cinsinden ifade edildi.

3.5.1. Karaciğer GST aktivitesi

Karaciğer dokusu GST aktivitesi, sitozolik fraksiyonlarda, substrat olarak 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) kullanılarak belirlendi. Çalışmada Habig vd. [154]'nin geliştirdiği yöntem, bazı modifikasyonlar yapılarak kullanıldı. Buna göre 1/10 oranında distile su ile dilüe edilmiş örnekten 10 µl alınarak, içerisinde potasyum fosfat tamponu (0.1 M, 100 µl pH 6.5), redükte glutatyon (2 mM, 100 µl GSH) ve CDNB (20 mM, 10 µl) bulunan ortamda reaksiyon başlatıldı ve 2 dakika süreyle 344 nm dalga boyunda okuma yapıldı. GSH reaksiyonda kofaktör olarak kullanıldı.

3.5.2 Karaciğer GR aktivitesi

GR aktivitesi Cribb vd. [155] tarafından kullanılan mikropilaka sistemi ile ölçüm yöntemine göre hepatosit sitozolünde ölçüldü. Reaksiyon solüsyonu 0.1 mM, 150 µl 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB), 12 mM, 20 µl NADPH ve 20 µl örnek içermektedir. 20 µl, 3.25 mM GSSG'nin ilavesi ile reaksiyon başlatıldı. Bütün çözeltiler, 1mM EDTA içeren, 0.1 M potasyum fosfat tamponunda (pH 7.5) hazırlandı. Reaksiyon esnasında GSSG'den GSH oluşumu nedeniyle DTNB miktarı azalmıştır. DTNB azalışı oda sıcaklığında 405 nm'de izlendi ve elde edilen absorbans değerlerinde GR aktivitesi hesaplandı (DTNB için $\epsilon=14,151 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

3.5.3. Karaciğer ve beyin CaE aktivitesi

Karaciğer ve Beyin CaE aktivitesi belirlenirken, Nousiainen ve Torronen [156] tarafından geliştirilen yöntem, Santhoshkumar vd. [157] tarafından belirtilen spektrofotometrik uygulamadan mikropilaka okuyucu sisteme uyarlandı. Enzim aktivitesi ölçümünde p-nitrofenolasetat (PNPA) substrat olarak kullanıldı. Buna göre mikropilakalara 5 µl örnek pipetlendikten sonra ortama 250 µl, 0.05 M trizma 7.4 eklendi. 3 dakikalık inkübasyon sonrasında ortama 5 µl PNPA (karışımdaki konsantrasyonu 0.5 mM olacak şekilde) eklenerek reaksiyon başlatıldı. 405 nm dalga boyunda 2 dakika boyunca okuma yapıldı.

3.5.4. Karaciğer ve plazma LDH aktivitesi

Karaciğer ve plazma LDH enzim aktivitesi ölçümünde, 340 nm dalga boyunda LDH diagnostik kiti (Biolabo cod: 92111, BIOLABO., Fransa) substrat olarak kullanıldı. Karaciğer doku homojenatlarından elde edilen supernatant örnekleri distile su ile 1/10 oranında sulandırıldıktan sonra; plazma örnekleri ise sulandırılmaksızın, toplam reaksiyon karışımında 5 µl olacak şekilde mikrolaka çukurlarına pipetlendi. Üretici firmanın belirttiği protokole göre, içerisinde LDH substratı bulunan çözelti hazırlandı. Bu çözülden 200 µl, örneklerin üzerine seri olarak çok kanallı mikropipet ile pipetlendi. Karışım 15 saniye süreyle mikrolaka okuyucuda çalkalandı ve 25 °C'de 2 dakika süre ile 340 nm'de absorbans değişimi kaydedildi.

3.5.5. Karaciğer ve plazma AST aktivitesi

Karaciğer ve plazma örneklerinde AST aktivitesi ölçülürken, diagnostik kitler (Biolabo cod: 80025, BIOLABO., Fransa) kullanıldı. Öncelikli olarak 20 µl karaciğer supernatant veya plazma örneği mikrolaka çukurlarına pipetlendi. Üretici firmanın belirttiği protokole göre, hazır kite 10 ml distile su eklenerek içerisinde AST substratı bulunan çözelti hazırlandı. Bu çözülden örneklerin üzerine 200 µl eklenerek reaksiyon başlatıldı. Absorbans değişimi, 25 °C'de, 340 nm'de 2 dakika süre ile okundu.

3.5.6. Karaciğer ve plazma ALT aktivitesi

Karaciğer ve plazma örneklerinde ALT aktivitesi ölçülürken, diagnostik kitler (Biolabo cod: 80027, BIOLABO., Fransa) kullanıldı. Öncelikli olarak 20 µl örnek mikrolaka çukurlarına pipetlendi. Üretici firmanın belirttiği protokole göre, hazır kite 10 ml distile su eklenerek içerisinde ALT substratı bulunan çözelti hazırlandı. Bu çözülden örneklerin üzerine 200 µl eklenerek reaksiyon karışımı 1 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 25 °C'de, 340 nm'de 2 dakika süre ile absorbans değişimi belirlendi.

3.5.7. Karaciğer mikrozomal EROD aktivitesi

Karaciğer mikrozomal EROD aktivitesi ölçülürken, örneklerden 20 µl mikropalakalara (Grainer, black flat-bottom) pipetlendi (kör olarak fosfat tamponu kullanıldı). Daha sonra ortama sırasıyla 220 µl potasyum fosfat tamponu (0.1 M, pH 7.7) ve 20 µl etoksirezorufin (50 µM) eklendi. Son olarak 10 µl, NADPH (10 mM; 0.00833 g/ml fosfat tamponu) eklendi. Enzim aktivitesi mikropalaka ölçer spektrofotometre (Gemini XS, Molecular Devices, USA) ile ölçüldü. Bunun için cihaz Ex (excitation): 530, Em (emission): 586 nm dalga boylarına ayarlandı. 30 °C'de 10 dakika süreyle spektrofotometrik ölçüm yapıldı [62].

EROD aktivitesinin belirlenmesi için rezorufin standardı oluşturuldu. Bu amaçla 80 µM stok rezorufin, 0.1 M NaCl içerisinde hazırlandı ve derişik NaOH çözeltisi ile pH 10'a getirildi. Bu stok solüsyondan, 50 mM Tris-Base (pH 7.8; 0.1 M NaCl içeren) kullanılarak mikropalaka içerikleri 270-0.27 pmol, olacak şekilde bir seri dilüsyon yapıldı. Elde edilen absorbans değerleri ile rezorufin standart eğrisi oluşturuldu ve bu eğriye göre mikropalaka çukurlarında bulunan mikrozom örneklerindeki enzim aktivitesine bağlı olarak oluşan rezorufin miktarı pmol/çukur cinsinden hesaplandı. Çukurdaki protein miktarı da mg protein cinsinden hesaplandıktan sonra, zamana bağlı spesifik mikrozomal EROD aktivitesi pmol/dakika/mg protein cinsinden hesaplandı.

3.5.8. Biyotransformasyon indeksinin hesaplanması

Karaciğer mikrozomal EROD ve GST enzimlerinin spesifik aktiviteleri hesaplandıktan sonra, “Biyotransformasyon İndeksi (Bİ): EROD aktivitesi (pmol/dakika/mg protein)/ GST aktivitesi (nmol/dakika/mg protein)” formülü kullanılarak hesaplandı.

3.5.9. Beyin AChE aktivitesi

Beyin dokusu AChE aktivitesi spektrofotometrik yöntemle, mikropalaka okuyucu sisteminde ölçüldü. Bu amaçla Ellman vd. [158] tarafından kullanılan yöntemin, Özmen vd. [159] tarafından modifiye edilmiş ve mikropalaka okuyucu sistemine uyarlanmış şekli kullanıldı. Enzim aktivitesi ölçümünde 412 nm dalga boyunda asetiltiokolin iodid (ACTI)'in substrat olarak kullanılması ve renk değişimine bağlı olarak ürün

oluşumunun saptanması amaçlandı. Beyin doku homojenatlarından elde edilen supernatant toplam reaksiyon karışımında 10 µl olacak şekilde mikrolaka çukurlarına pipetlendi. Supernatantın üzerine son reaksiyon karışımında 0.701 mM ACTI (Sigma Corp., USA) ve 0.136 mM DTNB (Aldrich, USA) olacak şekilde, trizma tamponu içerisinde (0.1 M, pH 8.0) hazırlanmış karışımdan 200 µl ilave edildi. Karışım mikrolaka okuyucuya yerleştirildi ve 10 saniye süreyle çalkalandı. 25 °C’de 1 dakika süre ile absorbans değişimi kaydedildi. Beyin dokusu spesifik AChE aktivitesi nmol/dakika/mg protein cinsinden hesaplandı.

3.5.10. Karaciğer mikrozom, sitozol ve beyin örneklerinde toplam protein tayini

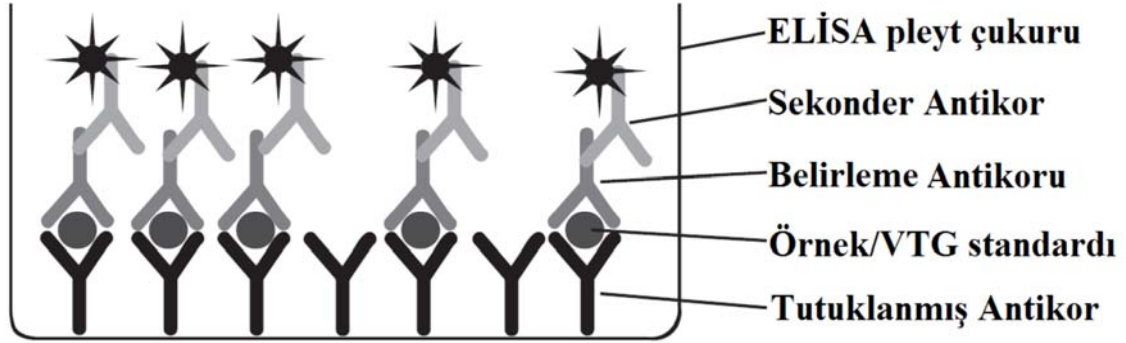
Beyin dokusu homojenatlarında ve karaciğer hücrelerinde toplam protein miktarları Bradford [160] tarafından geliştirilen yöntemle göre, mikrolaka okuyucu sistemi kullanılarak tespit edildi. Supernatant örnekleri 1/20, mikrozom örnekleri ise 1/10 oranında sulandırıldıktan sonra, sulandırılmış örneklerden 5 µl mikrolaka pipetlendi ve üzerine 250 µl Bradford çözeltisi (Sigma B6916) eklendi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında karanlıkta 15 dakika süreyle inkübe edildi. Renk değişimine bağlı olarak, 595 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçüldü. Elde edilen değerler BSA (Bovine Serum Albumin) standart eğrisi değerleri ile karşılaştırılarak, örnekteki toplam protein miktarları saptandı. Tüm örneklerden elde edilen toplam protein değerleri, elde edilen enzim aktivite değerleri ile birlikte, spesifik enzim aktivitesi değerlerinin hesaplanmasında kullanıldı.

3.6. Plazma VTG Analizi

VTG analizi yapılırken, sazan balıklarının plazma örneklerindeki VTG’nin ölçülmesi için özgül bağlanma antikorlarının kullanıldığı sazan balığı VTG-ELİSA kitleri (Biosense Laboratories, Norveç) kullanıldı. VTG analizinde, kitleri üreten firmanın önerdiği protokol bire bir uygulandı.

Kullanılan ELİSA mikrolaka çukurlarında, ilave edilecek VTG standart solüsyonlarında veya örnekte bulunan VTG’yi tutuklayan, özgül bağlı antikorlar bulunmaktadır. Ortama örnekler ve standartlar ilave edildikten sonra diğer bir VTG özgül belirleme antikorunun çukura ilave edilmesi, VTG ve antikorlar arasında sandviç yapısının oluşumuna neden olacaktır. Ortama enzim taşıyan sekonder antikor ilave

edildiğinde, sekonder antikor sandviç yapısına tutunur. Böylece ortama sekonder antikora bağlı enzimin substratı eklendiğinde, spektrofotometrik olarak ölçülebilecek bir renk oluşur ve ölçülen absorbans değerlerinden, standartlara bağlı olarak, örnekteki VTG miktarı saptanır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Plazma VTG analizinde kullanılan sandviç ELİSA modeli

Buna göre deney günü derin dondurucudan alınan, VTG ölçümü için arazide hazırlanmış olan plazma örnekleri buz üzerinde tutularak oda koşullarında çözünmeleri beklendi. Aynı zamanda yine buz üzerinde olmak koşuluyla, taze olarak hazırlanan VTG standart stokundan bir dilüsyon serisi oluşturuldu. Standart seriler 250 ng sazan VTG/ml'den başlayarak 11 dilüsyon basamağı içerir ve 0.24 ng sazan VTG/ml ile sonlanır. Bu dilüsyon serileri her çalışmada tekrar oluşturuldu.

Plazma örneklerinin içeriğinde (matrikste) bulunan bileşikler deneyde non-spesifik olarak bozunabilmektedir. Bu da genellikle düşük örnek dilüsyonlarında VTG'nin belirlenemez bir düzeyde çıkmasına yol açmaktadır. Bu matriks etkisinden sakınmak için tavsiye edilen minimum dilüsyon, plazma için 1/20 dir. Bu nedenle dilüsyon tamponu kullanılarak plazma örnekleri erkek balıklarda 1/20, dişilerde 1/200,000 oranında dilüe edildi.

VTG standardı ve plazma örnekleri için gerekli dilüsyonlar yapıldıktan sonra, belirtilen standart ve örneklerin kittede bulunan 96-çukurlu mikropalakalara pipetleme işlemine başlandı. Bu amaçla Şekil 3.2'de görüldüğü gibi kör amaçlı dilüsyon tamponu, standartlar ve 36 dilüe örnekten ikişerli olmak üzere 100 µl mikropalaka çukurlarına pipetlendi. Mikropalaka, pipetlemeyi takiben plakanın üzerine yapışma özelliği olan bir film ile örtüldü ve 1 saat süreyle 37 °C'de etüvde inkübe edildi.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NSB	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
B	NSB	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
C	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12
D	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12
E	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23	P24
F	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23	P24
G	P25	P26	P27	P28	P29	P30	P31	P32	P33	P34	P35	P36
H	P25	P26	P27	P28	P29	P30	P31	P32	P33	P34	P35	P36

Şekil 3.2. 96 çukurlu mikropalakada pipetleme şeması (NSB: dilüsyon çözeltisi, S1-S11: VTG standart dilüsyonları, P1-P36: dilüe örnekler)

Bu arada belirleme antikorunu 1/500 oranında hazırlamak için; 22 µl belirleme antikoruna 11 ml dilüsyon çözeltisi eklendi (deneydeki her bir plaka için). Etüvden alınan plaka veya plakaların, her bir çukuru 3 kez, her seferinde 300 µl yıkama tamponu ile manuel olarak yıkandı. Yıkamayı takiben her çukura 100 µl dilüe edilmiş belirleme antikorunu eklendi. Mikropalakaların üzeri pipetlemeyi takiben bir film ile örtüldü ve tekrar 1 saat süreyle 37 °C’de etüvde inkübe edildi.

İnkübasyon devam ederken, sekonder antikorunu 1/2000 oranında hazırlamak için; 6 µl sekonder antikora 12 ml dilüsyon çözeltisi eklendi (deneydeki her bir plaka için). Etüvden alınan plaka veya plakaların, her bir çukuru 3 kez, her seferinde 300 µl yıkama tamponu ile tekrar yıkandı. Yıkamayı takiben her çukura 100 µl dilüe edilmiş sekonder antikor eklendi. Mikropalakaların üzeri pipetlemeyi takiben tekrar bir film ile örtüldü ve yeniden 1 saat süreyle 37 °C’de etüvde inkübe edildi.

Son olarak mikropalakalar etüvden alınmadan hemen önce, substrat solüsyonu hazırlandı. Etüvden alınan mikropalaka veya mikropalakaların her birinde çukurlar 5 kez, her seferinde 300 µl yıkama tamponu ile yıkandı. Yıkamayı takiben her çukura 100 µl substrat solüsyonu eklendi. Mikropalakalar alüminyum folyo ile kaplanarak oda sıcaklığında (20-25 °C) karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. Sürenin sonunda her bir çukura 50 µl, 2 M H₂SO₄ eklenerek reaksiyon durduruldu. 5 dakika sonra, mikropalaka okuyucu sistemde 492 nm’de absorban okundu.

Ölçüm sonrası VTG düzeyleri hesaplanırken, kullanılan mikropalaka okuyucu sisteme ait “SoftMax Pro 4.6” programı kullanıldı. Program kullanılarak log-log, 4-

parameter ve linear standart eğriler oluşturuldu. Bu eğrilerden yararlanılarak regresyon analizleri yapıldı ve VTG miktarı ng/ml cinsinden hesaplandı.

3.7. Su Örneklerinin Fiziko-Kimyasal Değerleri

Balık örneklerinin alındığı her çalışma döneminde ve balık örneklerinin alınmadığı Ağustos 2006'da belirlenen istasyonlardan, kıyıdan 200–300 metre uzaklıkta yaklaşık 1 metre derinlikten su örnekleri alındı. Su örneğinin alındığı noktanın su sıcaklığı ve çözülmüş oksijen (ÇÖ) düzeyi 4 metre derinlikte arazi tipi oksijen/pH/kondüktivite metre cihazı (YSI model, USA) kullanılarak belirlendi. Alınan su örnekleri buz içerisinde renkli cam şişelerde laboratuvara taşındı, filtre edilerek ve en çok 48 saat içinde bir su kimyası analiz cihazı (Merck, NOVA60, Almanya) ve bu cihaza uygun analiz kitleri kullanılarak kimyasal parametre değerleri belirlendi. Laboratuvar ortamında pH, kimyasal oksijen istemi (KOİ), toplam organik karbon (TOK), klor (Cl), sodyum (Na), sülfat (SO₄), fosfat (PO₄-P), toplam azot (ΣN), nitrit (NO₂-N), amonyum (NH₄-N), kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), bakır (Cu), mangan (Mn), ferrik demir (Fe⁺²) ve ferrum demir (Fe⁺³) düzeyleri “Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı” (USEPA) standartlarına uygun olarak belirlendi. Belirtilen parametreler, Spectroquant Nova 60 fotometre cihazı kullanılarak, test kitleri (Merck, Almanya) ile, kitleri üreten firmanın yönergesine uygun olarak ölçüldü.

3.8. Su Örneklerinin Toksisitesinin FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay-*Xenopus*) Testi ile Belirlenmesi

FETAX, 96 saat süren ve test materyalinin gelişimsel toksisitesini belirlemede kullanılabilen bir embriyo teratojenite belirleme testidir. FETAX testi Güney Afrika tırnaklı kurbağası *Xenopus laevis*'in embriyolarının kullanımı üzerine dizayn edilmiştir. Çalışmamızda Karakaya Barajından alınan su örneklerinin toksik ve/veya teratojenik olup olmadığı belirlenmeye çalışıldı. Bu maksatla, barajdan 11.09.2005 ve 09.08.2006 olmak üzere iki dönemde, barajın çalışılan her istasyonundan beşer litrelik su örnekleri alındı ve bu örneklerle, Amerikan Standartları Enstitüsü (ASTM) tarafından önerilen standart FETAX testi yapıldı [161].

Çalışma boyunca laboratuvar ortamının sıcaklığı 24±2 °C'de tutuldu. Ayrıca çalışma ortamında 12 saat gündüz/12saat gece döngüsünde foto-periyot uygulandı.

Çalışmada kontrol amaçlı kullanılan FETAX solüsyonunun içeriği, Tip I ASTM suyuna uygun şekilde hazırlandı. Buna göre 1 L deiyonize veya distile suda 625 mg NaCl, 96 mg NaHCO₃, 30 mg KCl, 15 mg CaCl₂, 60 mg CaSO₄.2H₂O ve 75 mg MgSO₄ olacak şekilde pH'sı 7.6 ile 7.9 aralığında olan FETAX solüsyonu hazırlandı [161].

Çalışmada kullanılan *X. laevis* kurbağaları, Üniversitemiz Araştırma Laboratuvarında çoğaltılan koloniden alındı. Çalışmada yumurta elde edilirken ergin dişi (en az üç yaşında) ve erkek (en az iki yaşında) *X. laevis* bireyleri kullanıldı. Uygulama öncesi Erkek ve dişi kurbağalar ayrı akvaryumlara alınarak 48 saat bekletildiler. Yumurtaların elde edilmesi istenen günden 36 saat önce, erkek kurbağaya 200 IU insan koryonik gonadotropin hormonu (hCG) dorsal lenf bezlerinden enjekte edildi. 36 saatin sonunda dişiye 600 IU, önceden hormon uygulanmış erkeğe ise 300 IU hCG enjekte edildi. Bu amaçla Türkiye'de ticari olarak üretilen Pregnyl (5000 IU) (Organon) kullanıldı. Enjeksiyon için 1 ml'lik insülin enjektörleri (0.3x8 mm) (Becton Dickinson) kullanıldı. Enjeksiyon tamamlandıktan sonra erkek ve dişi kurbağalar aynı akvaryuma konup, karartma amacıyla akvaryumun üzeri örtüldü ve sessiz bir ortam sağlandı. Hormon enjeksiyonunu takiben 2 ile 6 saat sonra amplexus başladı ve 10-16 saat yumurta dökme devam etti. Bu süre içerisinde elde edilen yumurtalar derhal ortamdan petri kaplarına alındı, fertilite ve kaliteleri kontrol edildi.

Normal bölünmüş embriyolar testte kullanılmak için seçildi [162]. Hangi embriyoların normal olduklarını belirlemek için embriyolar mikroskop altında kontrol edildi. Normal bölünmüş embriyolar, öncelikle taze FETAX solüsyonu bulunan petrilere ayrıldı. Sonra bölünme devam ederken kısa bir periyotta sadece normal embriyolar seçilecek şekilde, embriyolar tekrar ayrıştırıldı. 8. safhadan önce seçilen embriyolarda sonradan anormal bölünmeler gerçekleştiği, ayrıca safha 11. safhadan sonra ise seçilen embriyolarda organogenesis başladığından, embriyolar orta blastula (8. safha) ile erken gastrula (11. safha) evrelerinde iken teste başlandı. Embriyolar geniş uçlu plastik bir pipet yardımıyla, zedelemeksizin test ortamlarına transfer edildi.

FETAX testinde embriyolar test süresi boyunca test edilen solüsyona maruz kalmaya devam ederler. Her bir baraj istasyonundan alınan su örnekleri için, her birinde 25 ml baraj suyu ve 20 veya 25 embriyo bulunan 5 petri kabı kullanıldı. 96 saatlik test süresi boyunca sıcaklığın 24±2°C olması sağlandı. Embriyolar, test petrilere için tesadüfen seçildi. Ölü embriyolar 96 saatlik test süresi boyunca her 24 saat sonunda, su örnekleri değiştirilirken uzaklaştırıldı. Şayet ölü embriyolar uzaklaştırılmaz ise, mikrobiyal gelişim yaşayan embriyoların ölümüne neden olacaktır. 24. saatte (27.

Safha) ölüm, embriyoların deri pigmentasyonu, yapısal tamamlık ve tahriş ile belirlenebilir. 48. saatte (35. Safha), 72. saatte (42. Safha) ve 96. saatte (46. Safha) kalp atışının eksikliği, ölümün kesin bir işaretidir. Maruz kalmanın 96. saatinde ölü sayısı kaydedildi. Ölü iribaşlar uzaklaştırıldı ve geriye kalan iribaşlar % 3'lük formaldehit içinde fikse edildi. Bu iribaşlar daha sonra bir diseksiyon mikroskobu altında incelenerek, her bir örnekte bulunan malformasyonlar saptandı.

3.9. Kontrol Çalışması

Çoğu biyolojik izleme çalışmasında olduğu gibi, çalışmamızda da Karakaya Baraj Gölünden seçilen bölgelerin organik kirletici yüklerinin (PCB'ler, PAH'lar; OP, karbamat, pretroit insektisitler... vb) durumunun bilinmemesi ve önceden yapılan çalışmalarda barajın çeşitli istasyonlarında belirlenen su parametre değerlerinin benzer oluşu seçilen istasyonlardan birinin kontrol bölgesi olarak değerlendirilmesini zorlaştırmıştır. Hem bir kontrol bölgesi sağlanması, hem de östrojen uygulaması sonucu erkek balıklarda VTG indüksiyonun ve bu indüksiyonun biyobelirteçler üzerindeki etkisinin saptanması için bir kontrol (laboratuvar koşullarında yapılan bir kontrol) çalışması düzenlendi. Bu amaçla, aşağıda belirtildiği şekilde bir çalışma programı düzenlendi.

3.9.1. Kontrol amaçlı balık örneklerinin sağlanması

Kontrol çalışmasında beş grup balık örneği kullanıldı.

I. Grup: Karakaya Barajından Mart 2006'de yakalanan bütün balıklar (KI),

II. Grup: Karakaya Baraj Gölünden yakalandıktan sonra herhangi bir uygulama yapılmaksızın 25 gün süreyle laboratuvarında yaşatılan balıklar (KII),

III. Grup: Mart 2006'da Sultansuyu Barajından yakalanarak, bekletilmeksizin arazide kan örnekleri, aynı gün laboratuvar ortamında dokuları alınan balık örnekleri (SI),

IV. Grup: Belirtilen tarihte Sultansuyu Barajından yakalandıktan sonra, 13 gün süreyle laboratuvarında yaşatılan balıklar (SII),

V. Grup: Belirtilen tarihte Sultansuyu Barajından yakalandıktan sonra 3 gün süreyle laboratuvarında koşullarında bekletilen ve takiben laboratuvarında 10 gün süreyle 17- β östradiol'e (E₂) maruz bırakılan balıklar (SIII).

3.9.2. 17-β östradiol uygulaması

Her iki barajdan yakalanarak laboratuvar ortamında belirli bir süre yaşatılan II. ve IV. Grup balıklar ile E₂ uygulamasının yapıldığı balıklar, her tankta 3-4 balık olacak şekilde, 100 litre hacimli tanklarda bir akvaryum kompresörü ile hava taşı kullanılarak havalandırılan ortamlarda barındırıldı. Bu balık örnekleri laboratuvar koşullarında 20±2 °C’de alabalık yemi ile (ad libitum) beslendi. Akvaryum suları her gün dinlendirilmiş ve havalandırılmış su ile ¾ oranında değiştirildi. E₂ uygulaması yapılan balıkların bulunduğu akvaryumların suyuna her gün DMSO içerisinde çözülmüş 400 ng/L E₂ (Fluka) eklendi. Belirtilen sürelerin sonunda, alan çalışmasına benzer şekilde, bütün balıkların kan ve doku örnekleri alınarak parametrik ölçümleri yapıldı. Alınan doku örneklerinde daha önceki bölümlerde belirtilen şekilde biyobelirteç değerlerin ölçümü yapıldı.

3.10. İstatistiksel Analiz

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

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Karakaya Baraj gölünde daha önceden yapılan çalışmalar dikkate alınarak, örnekleme yapılacak olan istasyonlar Adagören, Boran, Eğribük ve Hasırcılar olarak belirlendi. Yapılan çalışma mevsimsel değişimlerin ve çevre kirliliğinin balıklar üzerinde yarattığı toksik ve endokrin bozucu etkilerin belirlenmesine yönelik olduğu için, baraj istasyonlarından dört mevsimi temsil eden dönemlerde; özellikle de balıkların yumurtlama (üreme) dönemi, yumurtlama sonrası dönem ve bu dönemi takip eden yumurtlama öncesi dönemde balık örnekleri alındı.

Çalışma bulguları Karakaya Baraj Gölü ana çalışması ve kontrol çalışması olarak ayrı ayrı değerlendirildi.

4.1. Balık Örneklerinde Parametrik Bulgular

Kasım, Aralık 2004; Nisan, Mayıs, Temmuz, Eylül, Ekim 2005 ve Mart, Nisan 2006 olmak üzere 9 dönemde barajın Adagören, Boran, Hasırcılar ve Eğribük istasyonlarından sazan (*Cyprinus carpio*) örnekleri alınmıştır (Çizelge 4.1). Belirlenen istasyonlardan 150 erkek ve 136 dişi olmak üzere toplam 286 balık örneği yakalanmıştır.

Çizelge 4.1. Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların dönemlere göre eşey durumları

Dönem	Tarih	Toplam Birey Sayısı	♂ (n)	♀ (n)
1	30-31.10.2004	38	13	25
2	18-19.12.2004	35	16	19
3	23-24.04.2005	34	21	13
4	28-29.05.2005	35	21	14
5	13-14.07.2005	33	17	16
6	10-11.09.2005	35	22	13
7	29-31.10.2005	33	17	16
8	04-05.03.2006	15	8	7
9	15-16.04.2006	28	15	13

Çizelge 4.2’de yakalanan balık örnekleri için ortalama fizyolojik parametre değerleri verilmiştir. Tüm çalışma boyunca yakalanan balıkların boy ve ağırlıkları

sırasıyla ortalama 33.57 ± 0.29 cm ve 685.5 ± 21.6 g'dır. Bu sonuçlara bağılı olarak hesaplanan KF ve HSI değerleri bütün istasyonlarda Mart 2006'da en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. En yüksek ve en düşük KF değerleri sırasıyla Mart 2006'da Adagören (2.160) ve Ekim 2005'de Hasırcılar (1.540) istasyonunda belirlendi. En yüksek HSI değeri Mart 2006'da Boran (0.442) ve en düşük HSI değeri Nisan 2006'da Hasırcılar (0.182) istasyonunda belirlendi.

Dönem ortalamaları dikkate alındığında en yüksek KF ve HSI değerleri Mart 2006'da saptandı (sırasıyla 1.919 ve 0.376); en düşük değerler ise Eylül 2005'de belirlendi (sırasıyla 1,638 ve 0.221). İstasyon ortalamaları dikkate alındığında ise en yüksek KF değeri Adagören istasyonunda (1.761) en düşük değer ise Hasırcılar istasyonunda (1.683) saptandı; yine istasyon ortalamalarına göre en yüksek HSI değeri Boran istasyonunda (0.258) en düşük değer ise Hasırcılar istasyonunda (0.231) belirlenmiştir. Ayrıca Hasırcılar ve Boran istasyonlarının HSI ve KF ortalama değerleri Adagören ve Eğribük istasyonlarından önemli düzeyde yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Çizelge 4.2. Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların biyolojik parametre değerleri

İstasyon	Dönem	n	Boy(cm)±SH	Ağırlık(g)±SH	KF±SH	HSİ(%)±SH
Adagören	1	9	31.22±0.641	496.67±35.82	1.614±0.033	0.210±0.018
	2	6	30.92±1.044	533.33±52.70	1.792±0.109	0.258±0.037
	3	6	35.92±3.534	1037.50±430.70	1.806±0.104	0.311±0.049
	4	7	35.57±1.395	838.00±89.75	1.831±0.056 ^B	0.264±0.032
	5	10	36.70±0.554	868.10±44.16	1.744±0.037 ^B	0.261±0.020
	6	8	29.63±0.420	440.00±16.98	1.690±0.037 ^H	0.204±0.008*
	7	9	29.89±1.169	490.00±65.29	1.785±0.067 ^H	0.276±0.029 ^E
	8	2	33.00±4.000	843.50±378.50	2.160±0.253	0.386±0.042
	9	9	32.67±1.479	614.44±51.65	1.772±0.094	0.246±0.021 ^{B,H}
Boran	1	11	31.64±0.615	518.18±33.83	1.617±0.032 ^H	0.244±0.010
	2	10	29.70±0.351	446.00±17.27	1.698±0.041	0.263±0.018
	3	10	35.20±2.507	909.00±234.96	1.790±0.060 ^H	0.261±0.021
	4	8	40.75±2.169	1187.88±192.38	1.690±0.106 ^A	0.235±0.016*
	5	3	36.83±1.424	778.33±75.85	1.549±0.030 ^A	0.273±0.024
	6	9	34.11±0.551	649.44±34.73	1.624±0.028	0.242±0.020
	7	9	30.39±1.585	526.11±76.81	1.789±0.040 ^{*,H}	0.250±0.019 ^{*,E}
	8	2	31.25±1.750	565.00±85.00	1.839±0.030	0.442±0.106
	9	7	30.57±1.347	530.71±51.44	1.838±0.066 ^H	0.271±0.022 ^{A,H}
Eğribük	1	9	31.94±1.925	605.00±132.57	1.702±0.060	0.242±0.018
	2	9	31.83±0.595	506.11±28.67	1.566±0.067	0.249±0.018
	3	7	36.43±2.183	924.43±193.92	1.787±0.048 ^{*,H}	0.237±0.021
	4	10	38.60±2.418	1102.20±206.81	1.765±0.053	0.249±0.022
	5	10	34.55±1.045	709.50±87.79	1.666±0.079	0.230±0.017
	6	9	35.11±0.247	732.33±22.61	1.692±0.051	0.229±0.014
	7	7	30.57±1.032	471.43±47.95	1.628±0.072	0.198±0.006 ^{A,B}
	8	6	27.67±1.364	418.67±65.57	1.917±0.068*	0.377±0.076*
	9	4	43.00±0.816	1315.00±67.39	1.653±0.051*	0.203±0.026
Hasırcılar	1	9	31.44±0.959	548.89±36.61	1.759±0.068 ^B	0.217±0.015
	2	10	30.85±0.628	484.00±31.70	1.590±0.050	0.247±0.023
	3	11	35.77±0.840	776.27±67.89	1.653±0.033 ^{B,E}	0.233±0.027
	4	10	34.30±1.606	759.10±111.02	1.818±0.114	0.248±0.017
	5	10	38.85±0.734	958.10±37.04	1.634±0.040	0.227±0.021
	6	9	34.39±0.588	632.44±27.89	1.553±0.038 ^A	0.206±0.017
	7	8	34.56±0.477	635.63±21.07	1.540±0.040 ^{A,B}	0.212±0.012
	8	5	29.30±2.217	485.40±102.97	1.858±0.070*	0.345±0.024*
	9	8	33.44±1.447	640.63±42.34	1.823±0.284 ^{*,B}	0.182±0.015 ^{*,A,B}

*Ölçüm değeri bir önceki dönemle kıyaslandığında aradaki fark önemlidir (p<0.05). Çizelgede kullanılan harfler istasyonların baş harfleri olup (A:Adagören, B:Boran, E:Eğribük, H:Hasırcılar), karşılaştırılan istasyonla aralarındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05).

4.2. Enzimatik Biyobelirteç Bulguları

4.2.1 Beyin AChE ve CaE enzim aktiviteleri

Beyin AChE aktivitesi dönemler arasında önemli düzeyde sapmalar göstermektedir. AChE aktivitesi özellikle Nisan, Mayıs 2005 dönemlerinde diğer dönemlere oranla önemli düzeyde yüksek bulundu. Yapılan istatistiksel karşılaştırmalar sonucunda bu dönemler ile diğer dönemler arasında; ayrıca aynı dönemler dikkate alındığında istasyonlar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık bulundu. Mart 2006'da AChE aktivitesi bütün istasyonlarda en düşük düzeyde saptandı.

Dönem ortalamaları dikkate alındığında en yüksek AChE aktivitesi Nisan 2005'de (153.7 nmol/dakika/mg protein) ve en düşük aktivite ise Mart 2006'da (61.5 nmol/dakika/mg protein) belirlendi. İstasyon ortalamasına göre en düşük aktivite Adagören istasyonunda (93.2 nmol/dakika/mg protein) en yüksek aktivite ise Boran istasyonunda saptandı (104.3 nmol/dakika/mg protein).

Beyin CaE aktivitesi bütün istasyonlarda Temmuz, Eylül, Ekim 2005 ve Mart 2006 dönemleri arasında önemli sapmalar göstermektedir (Çizelge 4.3). En yüksek dönem ortalaması Kasım 2004'de 401.0 nmol/dakika/mg protein; en düşük dönem ortalaması ise Ekim 2005'de 124.9 nmol/dakika/mg protein olarak belirlendi. İstasyon ortalamaları ise Hasırcılar<Adagören<Eğribük<Boran (300.6, 279.5, 277.7, 263.0 nmol/dakika/mg protein) şeklindedir.

Çizelge 4.3. Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların beyin AChE ve CaE spesifik aktiviteleri (nmol/dakika/mg protein)

İstasyon	Dönem	n	AChE±SH	CaE ±SH
Adagören	1	9	93.88±5.63 ^E	371.03±46.31
	2	6	88.78±7.91	369.86±50.03
	3	6	144.05±7.40 ^{*,B}	362.55±26.62
	4	7	130.51±4.66 ^H	314.79±24.13
	5	10	79.32±3.69 ^{*,B,H}	249.50±17.47*
	6	8	75.44±3.53 ^H	354.94±10.57*
	7	9	89.00±4.59	118.78±6.61*
	8	2	62.38±4.11	287.22±19.87*
	9	9	74.73±2.14	268.38±10.29
Boran	1	11	104.05±4.11	379.68±20.64 ^E
	2	10	78.51±3.62*	346.84±25.42
	3	10	165.42±3.54 ^{*,A,E}	358.89±21.97
	4	8	143.51±13.72*	324.65±29.03
	5	3	94.88±0.81 ^{*,A,E}	203.56±7.79*
	6	9	77.36±5.33*	345.91±14.25*
	7	9	88.69±2.44 ^H	123.74±6.27*
	8	2	53.85±0.02*	234.33±10.20*
	9	7	82.60±2.64	249.61±10.02
Eğribük	1	9	113.79±5.22 ^A	453.12±30.80 ^B
	2	9	89.57±4.33*	343.25±16.94*
	3	7	145.68±4.87 ^{*,B}	351.36±16.62
	4	10	141.84±4.84	367.83±21.23
	5	10	85.01±1.83 ^{*,B,H}	231.59±9.50*
	6	9	77.81±3.63	325.05±9.05*
	7	7	84.89±6.04	131.69±5.03*
	8	6	62.99±4.56*	265.29±13.55*
	9	4	75.03±1.98	270.83±15.45
Hasırcılar	1	9	110.88±6.38	400.24±17.37
	2	10	83.28±3.61*	372.94±24.32
	3	11	153.38±3.71*	362.87±27.86
	4	10	147.97±4.37 ^A	328.66±24.07
	5	10	94.26±3.01 ^{*,A,E}	233.49±9.11*
	6	9	87.42±2.82 ^A	340.09±16.20*
	7	8	73.88±4.49 ^{*,B}	125.45±9.67*
	8	5	62.30±2.45	285.37±15.59*
	9	8	78.61±1.58*	255.98±7.71

*Ölçüm değeri bir önceki dönemle kıyaslandığında aradaki fark önemlidir (p<0.05). Çizelgede kullanılan harfler istasyonların baş harfleri olup (A:Adagören, B:Boran, E:Eğribük, H:Hasırcılar), karşılaştırılan istasyonla aralarındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05).

4.2.2. Karaciğer GR, GST ve CaE enzim aktiviteleri

Hasırcılar dışındaki istasyonlarda, GST aktivitesi açısından dönemler arasında önemli bir farklılık görülmemektedir. Hasırcılar istasyonunda Mayıs, Temmuz ve Eylül 2005 örneklerinde bir önceki döneme göre istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($p<0.05$). Aynı dönemde istasyonlar karşılaştırıldığında Kasım 2004'de Adagören ve Boran; Nisan 2005'de ise Eğribük ve Hasırcılar istasyonları arasında önemli düzeyde farklılık tespit edildi ($p<0.05$) (Çizelge 4.4).

GR aktivitesi genellikle bahar ve yaz aylarında (Nisan, Mayıs, Temmuz 2005; Mart ve Nisan 2006) sonbahar ve kış aylarına (Kasım, Aralık 2004; Eylül, Ekim 2005) göre daha düşük belirlendi (Çizelge 4.4). Dönemlerin ortalama değerlerine bakıldığında, en düşük değer Mart 2006 (6.69 nmol/dakika/mg protein) döneminde en yüksek değer ise Kasım 2005 (10.92 nmol/dakika/mg protein) döneminde belirlendi. GR aktivitesinde Eylül-Ekim 2005 dönemlerinde tekrar artış kaydedildi. İstasyonların ortalama değerleri dikkate alındığında, en yüksek GR aktivitesi Hasırcılar istasyonunda, en düşük değer ise Adagören istasyonunda (sırasıyla 9.81 ve 8.63 nmol/dakika/mg protein) saptandı.

Temmuz 2005'de bir önceki döneme göre karaciğer CaE aktivitesi istatistiksel açıdan önemli düzeyde artmıştır ($p<0.05$). Aynı dönemler dikkate alınarak istasyonlar kıyaslandığında istatistiksel açıdan bir farklılık belirlenmedi.

Çizelge 4.4. Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların karaciğer GR, GST ve CaE enzim aktivite değerleri (nmol/dakika/mg protein)

İstasyon	Dönem	n	GR±SH	GST±SH	CaE±SH
Adagören	1	9	11.224±0.805	49.35±4.426 ^B	168.37±18.20
	2	6	10.833±1.452	46.60±3.020	159.07±21.07
	3	6	8.816±0.864	46.96±4.353	142.61±14.61
	4	7	6.316±0.785	42.56±2.650	135.91±16.43
	5	10	7.386±0.849	51.03±3.452	192.05±7.31*
	6	8	8.955±1.048	41.28±1.828	171.36±10.78
	7	9	9.761±0.551 ^H	38.12±1.811	234.13±41.71
	8	2	7.482±3.235	40.92±3.376	121.91±38.18
	9	9	6.721±1.366 ^H	48.66±2.613	151.71±12.96
Boran	1	11	11.751±0.609	39.04±3.664 ^A	166.25±12.54
	2	10	12.201±1.475	48.26±3.938	164.23±12.80
	3	10	7.125±1.569	51.88±3.039	146.62±18.63
	4	8	7.346±1.293	49.17±2.862	145.63±9.80
	5	3	5.134±0.809	48.24±4.228 ^{E,H}	169.38±15.72
	6	9	11.899±1.255*	50.83±4.629	189.89±19.03
	7	9	11.091±0.704	43.72±3.290	198.14±19.88
	8	2	5.034±1.667*	32.54±0.658	138.85±28.50
	9	7	8.245±0.649	37.23±4.857 ^H	151.04±11.96
Eğribük	1	9	10.569±0.771	42.16±5.982	172.17±12.84
	2	9	10.196±2.406	48.78±4.115	178.90±13.48
	3	7	10.885±1.649	45.07±4.179 ^H	155.55±13.19
	4	10	7.679±0.614	44.83±2.811	142.53±12.46
	5	10	8.587±0.599	50.30±2.188 ^B	208.22±12.94*
	6	8	9.057±0.629	43.78±4.793	178.54±9.209
	7	7	9.632±0.779	39.63±2.671	157.95±14.86
	8	6	7.301±0.631	41.12±3.265	182.39±27.01
	9	4	10.133±1.685	44.40±7.447	148.18±12.75
Hasırcılar	1	9	9.943±0.958	50.56±4.431	177.91±17.65
	2	10	10.235±1.362	48.39±2.301	194.68±14.57
	3	11	11.303±0.848	62.89±5.604 ^E	154.33±11.52
	4	10	6.650±1.133*	40.12±2.730*	124.84±9.92
	5	10	8.647±0.884	59.59±4.369* ^B	228.06±19.50*
	6	9	10.923±0.853	43.41±3.736*	181.65±21.74
	7	8	10.614±1.338 ^A	47.40±3.829	202.33±21.65
	8	5	6.304±0.768*	40.08±2.909	127.53±16.35
	9	8	12.706±0.382* ^A	51.03±5.617 ^B	156.11±6.64

*Ölçüm değeri bir önceki dönemle kıyaslandığında aradaki fark önemlidir (p<0.05). Çizelgede kullanılan harfler istasyonların baş harfleri olup (A:Adagören, B: Boran, E:Eğribük, H:Hasırcılar), karşılaştırılan istasyonla aralarındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05).

4.2.3. Karaciğer ve plazma LDH, AST ve ALT enzim aktiviteleri

Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6’da karaciğer ve plazma LDH, AST ve ALT aktiviteleri verilmiştir. Dönem ve istasyon ortalamaları dikkate alındığında, en yüksek ve en düşük karaciğer LDH aktiviteleri sırasıyla 437.8-204.7 nmol/dakika/mg protein (Aralık 2004-Mart 2006) ve 311.9-292.9 nmol/dakika/mg protein (Eğribük-Adagören) olarak belirlendi. Yine dönem ve istasyon ortalamalarına göre en yüksek ve en düşük plazma LDH aktiviteleri ise 1162.2-491.1 U/L (Kasım 2004-Mayıs 2005) ve 767.2-608.0 U/L (Eğribük-Hasırcılar) olarak belirlendi. Ortalamalarına benzer şekilde, dört istasyonda da Aralık 2004’de karaciğer LDH aktivitesi en yüksek düzeyde bulundu. Yine en düşük LDH aktiviteleri her dört istasyonda da Mart 2006’da belirlendi.

Karaciğer AST aktivitesi de LDH’ye benzer bir durum sergilemektedir. Dönem ortalamaları dikkate alındığında karaciğer AST aktivitesi Mart 2006’da (33.14 nmol/dakika/mg protein), plazma AST aktivitesi ise Mayıs 2005’de (66.0 U/L) en düşük seviyeye ulaşırken; en yüksek enzim aktiviteleri karaciğer için Aralık 2004’de (56.65 nmol/dakika/mg protein) plazma için Mart 2006’da (175.1 U/L) belirlendi. İstasyon ortalamaları açısından değerlendirildiğinde ise en yüksek ve en düşük AST aktiviteleri karaciğer için sırasıyla 47.14-43.63 nmol/dakika/mg protein (Hasırcılar-Eğribük), plazma için 109.1-89.58 U/L (Hasırcılar-Boran) şeklindedir. Karaciğer AST aktivitesinin Temmuz 2005’de Boran istasyonunda diğer istasyonlara oranla önemli düzeyde düşük olduğu belirlendi ($p<0.05$).

Dönem ortalamaları dikkate alındığında karaciğer ve plazma ALT aktivitesi Temmuz 2005’de en düşük seviyeye ulaşırken (2.9 nmol/dakika/mg protein ve 5.1 U/L); en yüksek enzim aktiviteleri karaciğer için Kasım 2004’de (4.69 nmol/dakika/mg protein) plazma için Mart 2006’da (25.83 U/L) belirlendi. İstasyon ortalamaları açısından değerlendirildiğinde ise en yüksek ve en düşük ALT aktiviteleri karaciğer için sırasıyla 3.99-3.35 nmol/dakika/mg protein (Hasırcılar-Adagören), plazma için 12.74-8.92 U/L (Eğribük-Boran) şeklindedir.

Çizelge 4.5. Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların karaciğer LDH, AST ve ALT (nmol/dakika/mg protein) enzim aktivite değerleri

İstasyon	Dönem	n	LDH±SH	AST±SH	ALT±SH
Adagören	1	9	379.5±26.09	55.23±5.653	4.689±0.358
	2	6	440.8±56.89	53.36±6.469	3.739±0.373
	3	6	278.4±18.59*	45.31±2.249	3.529±0.267 ^H
	4	7	269.5±27.87	31.26±2.727*	2.419±0.358 ^H
	5	10	392.9±29.86*	50.16±3.785 ^{*,B}	2.789±0.363
	6	8	297.1±14.15*	47.30±1.933	3.299±0.349
	7	9	283.4±15.72	43.47±2.673	3.390±0.194
	8	2	171.6±23.74*	29.92±5.430*	3.071±0.692
	9	9	289.6±15.47 ^{*,B,E}	45.77±2.470 ^B	3.183±0.371 ^H
Boran	1	11	316.4±16.70	46.43±1.670	5.143±0.212
	2	10	396.0±31.80 ^{*,E}	54.17±4.336*	4.126±0.239*
	3	10	291.1±25.13*	44.03±3.334	4.006±0.312
	4	8	320.9±23.61	39.14±2.728	3.066±0.366
	5	3	239.8±11.63 ^{*,E,H}	33.11±1.493 ^{A,E,H}	1.950±0.257
	6	9	357.1±37.51	56.10±4.646 ^{*,E}	4.800±0.661 ^{*,E,H}
	7	9	326.2±19.20	48.82±2.346	3.856±0.232
	8	2	175.7±33.15*	28.37±3.941*	2.867±0.542
	9	7	236.4±14.31 ^{A,H}	37.31±1.736 ^{A,H}	3.372±0.276
Eğribük	1	9	340.0±18.01	47.65±3.229	4.805±0.306
	2	9	494.0±35.68 ^{*,B}	60.77±3.787*	4.595±0.444
	3	7	283.0±37.04*	42.81±4.881*	3.435±0.503
	4	10	284.1±17.50	32.46±1.074	2.713±0.373 ^H
	5	10	382.7±26.54 ^{*,B}	46.21±3.005 ^{*,B}	2.483±0.347
	6	8	266.8±21.59*	39.74±3.103 ^B	2.899±0.135 ^B
	7	7	275.0±13.34	45.64±3.114	3.795±0.532
	8	6	203.9±16.73*	33.99±2.893*	3.971±0.580
	9	4	228.5±20.56 ^{A,H}	37.36±3.101 ^H	3.137±0.321 ^H
Hasırcılar	1	9	326.9±23.08	48.44±4.664	4.093±0.293
	2	10	426.2±23.46*	57.22±2.441	5.295±0.584
	3	11	347.9±22.55	48.71±2.809*	4.324±0.240 ^A
	4	10	319.5±20.23	34.92±2.093*	3.648±0.286 ^{A,E}
	5	10	428.2±21.64 ^{*,B}	50.01±2.334 ^{*,B}	3.671±0.696
	6	9	299.9±27.48*	46.83±3.031	3.108±0.244 ^B
	7	8	341.6±33.67	50.06±4.888	3.884±0.344
	8	5	230.5±14.90*	35.30±2.971*	2.969±0.241*
	9	8	300.9±12.70 ^{*,B,E}	47.29±2.265 ^{*,B,E}	4.540±0.408 ^{*,A,E}

*Ölçüm değeri bir önceki dönemle kıyaslandığında aradaki fark önemlidir (p<0.05). Çizelgede kullanılan harfler istasyonların baş harfleri olup (A:Adagören, B:Boran, E:Eğribük, H:Hasırcılar), karşılaştırılan istasyonla aralarındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05).

Çizelge 4.6. Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların plazma LDH, AST ve ALT (U/L) enzim aktivite değerleri

İstasyon	Dönem	n	LDH±SH	AST±SH	ALT±SH
Adagören	1	9	989.2±88.61	117.93±18.40	7.456±1.602
	2	6	557.8±54.42 ^{*,B}	63.53±12.81 ^{*,B}	6.867±1.133
	3	6	714.6±110.96 ^H	77.23±11.49	11.405±1.545
	4	7	492.1±27.34 ^H	63.75±6.80	16.562±3.791 ^{B,H}
	5	10	597.6±97.51	61.19±11.85 ^E	3.463±0.463 ^{*,E}
	6	8	607.0±97.27	25.16±4.02 ^{*,H}	9.040±2.822 ^E
	7	9	435.5±41.67	95.74±16.29 [*]	13.555±1.683
	8	2	616.3±50.01	77.63±13.04	15.831±2.371
	9	9	560.1±92.48	241.11±43.29 ^{B,E}	26.119±5.773 ^B
Boran	1	11	1152.2±132.16	116.46±18.96	5.165±1.259
	2	10	739.4±52.05 ^{*,A}	93.53±10.80 ^{*,A}	5.756±0.618
	3	10	626.2±82.08 ^H	70.26±16.24	10.510±0.834
	4	8	704.5±99.47 ^{E,H}	107.86±19.11 ^{E,H}	4.764±1.336 ^{A,E}
	5	3	535.6±128.65	31.49±13.50 ^{E,H}	3.222±0.618 ^{*,E}
	6	9	525.2±66.30	79.63±34.87 [*]	6.597±2.822 ^E
	7	9	933.1±269.09	84.61±30.97 [*]	20.739±5.319
	8	2	719.5±237.12	154.61±24.98	24.755±7.296
	9	7	402.8±56.21	73.70±13.06 ^{A,H}	10.930±1.602 ^{A,H}
Eğribük	1	9	1476.4±242.55	148.67±30.78	9.811±4.648
	2	9	818.5±106.58 [*]	107.88±23.15	5.721±0.598 [*]
	3	7	726.3±67.06 ^H	85.70±20.77	10.214±1.249 [*]
	4	10	432.0±30.17 ^{*,B}	58.85±5.40 ^B	25.050±4.482 ^{*,B,H}
	5	10	746.6±56.27 [*]	99.42±11.14 ^{*,A,B}	5.417±0.401 ^{*,A,B}
	6	8	368.9±62.48 [*]	74.63±33.74 [*]	2.521±0.906 ^{*,A,B}
	7	7	427.6±91.51	74.29±12.66 ^H	12.956±2.031 [*]
	8	6	1404.2±290.6 [*]	242.05±42.74 [*]	38.390±8.859 [*]
	9	4	468.1±41.19 [*]	52.91±12.39 ^{*,A,H}	10.568±1.005 [*]
Hasırcılar	1	9	1033.2±129.22	99.94±19.53	10.778±2.364
	2	10	918.1±139.24	113.55±24.18	6.073±1.027
	3	11	391.0±56.07 ^{*,A,B,E}	59.49±10.39	12.067±3.914
	4	10	378.8±45.65 ^{A,B}	45.32±11.87 ^B	7.125±1.861 ^{A,E}
	5	10	718.4±75.48 [*]	112.84±21.75 ^{*,B}	6.989±1.908
	6	9	551.3±101.44	89.14±27.33 ^A	6.842±2.082
	7	8	453.8±69.09	143.69±22.89 ^E	14.313±1.834
	8	5	594.1±312.57	133.77±107.85	15.178±8.926
	9	8	402.5±54.03	226.48±39.25 ^{B,E}	17.533±1.831 ^B

*Ölçüm değeri bir önceki dönemle kıyaslandığında aradaki fark önemlidir (p<0.05). Çizelgede kullanılan harfler istasyonların baş harfleri olup (A:Adagören, B: Boran, E:Eğribük, H:Hasırcılar), karşılaştırılan istasyonla aralarındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05).

4.2.4. Karaciğer mikrozomal EROD aktivitesi

EROD aktivitesi Nisan-Mayıs 2005 dönemlerinde diğer dönemlerle karşılaştırıldığında en yüksek düzeyde bulundu. Kasım 2004 dönemi sonrasında Aralık 2004 ve Nisan 2005 dönemlerinde gözlenen aktivite artışı bir önceki döneme göre istatistiksel olarak önemli düzeydedir ($p<0.05$). En yüksek EROD aktivitesi Mayıs 2005'te Eğribük'te (3186 pmol/dakika/mg protein) en düşük aktivite ise yine Eğribük istasyonunda Ekim 2005'te (612 pmol/dakika/mg protein) belirlendi. Aralık 2004'de yakalanan balık örneklerinde EROD aktivitesi Adagören'de diğer istasyonlardan yüksek bulundu. Adagören istasyonunda EROD aktivitesindeki yükseklik Boran ve Eğribük istasyonları ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli bulundu ($p<0.05$). Alınan erkek ve dişi balıkların EROD aktivitesi ortalaması 1636.7 ± 87.01 pmol/dakika/mg protein dişilerde 1774.2 ± 91.37 pmol/dakika/mg protein olarak belirlendi.

Çizelge 4.7. Karakaya Baraj Gölünden alınan balıkların karaciğer EROD aktivitesi (pmol/dakika/mg protein) ve Bİ değerleri

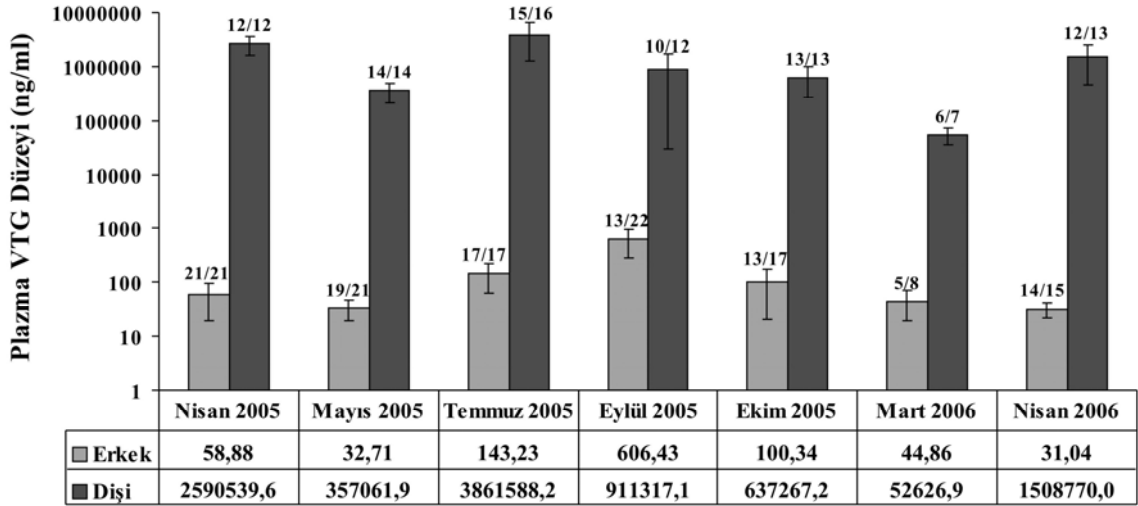
İstasyon	Dönem	n	EROD±SH	Bİ±SH
Adagören	1	9	1144.5±167.1	23.83±4.05
	2	6	2260.0±145.4 ^{*,B,E}	49.88±5.25 [*]
	3	6	2823.1±217.5	63.27±8.89
	4	7	1992.9±466.0	48.39±12.71
	5	10	1242.5±139.1	24.49±2.28
	6	8	1576.1±415.8	39.26±11.44
	7	9	1139.6±226.2	30.14±6.07
	8	2	1670.1±975.4	50.69±19.77
	9	9	1270.2±171.8	27.13±4.09
Boran	1	11	757.1±66.4	22.47±3.99
	2	10	1525.8±315.9 ^{*,A}	37.44±9.68
	3	10	2687.5±152.9 [*]	52.49±3.01
	4	8	2750.7±512.0	59.65±13.16
	5	3	1233.4±439.9	24.57±6.90
	6	9	2702.1±548.3 ^H	52.30±8.85 ^H
	7	9	611.8±140.0 [*]	15.84±4.51 [*]
	8	2	1765.1±395.4	43.43±21.64
	9	7	1891.5±253.7	61.95±14.96
Eğribük	1	9	842.6±59.4	23.42±3.99
	2	9	1517.8±219.3 ^{*,A}	36.94±8.80
	3	7	2432.1±245.8 [*]	55.83±6.26
	4	10	3186.1±463.0	72.58±11.75
	5	10	1485.4±206.5 [*]	29.35±3.47 [*]
	6	8	1516.4±379.8	34.88±8.70
	7	7	901.4±209.3	23.25±5.75
	8	6	1868.7±471.6	45.17±11.11
	9	4	1155.2±142.2	28.39±6.06
Hasırcılar	1	9	977.0±109.2	19.43±1.58
	2	10	1608.1±224.3 [*]	34.54±5.47 [*]
	3	11	2266.6±265.5 [*]	44.88±5.12
	4	10	2261.1±304.5	56.41±6.30
	5	10	2047.0±387.8	34.49±6.36 [*]
	6	9	876.9±204.7 ^{*,B}	19.18±3.14 ^B
	7	8	1101.3±216.4	25.71±6.27
	8	5	1182.6±319.2	32.54±11.13
	9	8	1937.7±364.1	39.40±6.48

*Ölçüm değeri bir önceki dönemle kıyaslandığında aradaki fark önemlidir (p<0.05). Çizelgede kullanılan harfler istasyonların baş harfleri olup (A:Adagören, B: Boran, E:Eğribük, H:Hasırcılar), karşılaştırılan istasyonla aralarındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05).

4.3. Plazma VTG Düzeyleri ile İlgili Bulgular

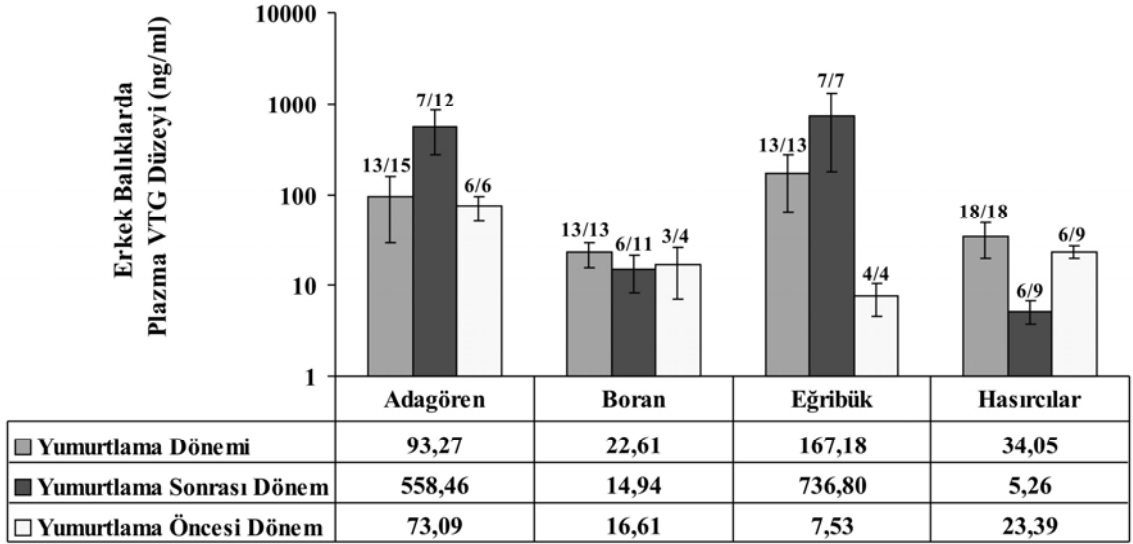
Çalışma kapsamında alınan 213 balık örneğinden 208'inin VTG ölçümü yapılmıştır. Bunlardan 121 erkek balık örneğinden 102'sinin, 87 dişi balık örneğinin ise 82'sinin VTG değeri belirlenebilmiştir. Erkek balıklar için ortalama VTG değeri 138.62 ± 47.83 ng/ml dişi balıklar için ise 1.583 ± 0.536 mg/ml düzeyinde belirlendi.

İstasyonlar dikkate alınmaksızın, dönemlere göre erkek balıklarda VTG düzeyi incelendiğinde, en yüksek VTG düzeyi Eylül 2005'de (606.43 ± 326.84 ng/ml) en düşük VTG ise Nisan 2006'da (31.04 ± 9.36 ng/ml) saptandı (Şekil 4.1). Dişi balıklarda ise en yüksek VTG değeri Temmuz 2005'de (3.862 ± 2.579 mg/ml) ve en düşük değer ise Mart 2006'da (0.052 ± 0.018 mg/ml) belirlendi.



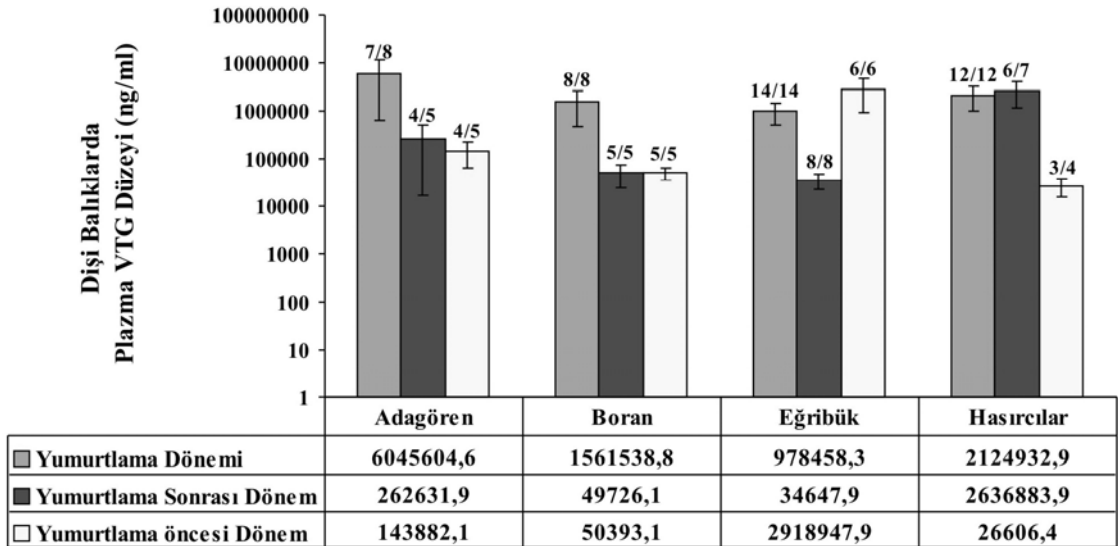
Şekil 4.1. Balık örneklerinin avlanma dönemlerine göre plazma VTG (ng/ml) düzeyleri. Barların üzerindeki sayılar ölçümü yapılan balıklardan VTG değeri belirlenebilen balıkların sayısını göstermektedir

Üreme dönemleri dikkate alınarak her istasyondaki erkek ve dişi balıkların VTG değerleri değerlendirildiğinde, erkek balıklarda VTG düzeyinin yumurtlama sonrası dönemde Adagören ve Eğribük istasyonunda önemli düzeyde yüksek olduğu belirlendi (Şekil 4.2). Özellikle Adagören istasyonundaki yüksek VTG düzeyi dikkat çekicidir.



Şekil 4.2. Erkek balık örneklerinin üreme dönemlerine göre plazma VTG (ng/ml) düzeyleri. Barların üzerindeki sayılar ölçümü yapılan balıklardan VTG değeri belirlenebilen balıkların sayısını göstermektedir

Dişi balıklarda üreme döneminde bütün istasyonlarda VTG yüksek düzeyde belirlendi. Üreme sonrası dönemde Hasırcılar istasyonunda VTG düzeyi diğer istasyonlara oranla yüksek düzeyde belirlendi (Şekil 4.3). Eğribük istasyonunda ise üreme sonrası dönemde VTG değerinin diğer istasyonlara oranla yüksek düzeyde olduğu belirlendi.



Şekil 4.3. Dişi balık örneklerinin üreme dönemlerine göre plazma VTG (ng/ml) düzeyleri. Barların üzerindeki sayılar ölçümü yapılan balıklardan VTG değeri belirlenebilen balıkların sayısını göstermektedir

4.4. Su Örneklerinde Saptanan Fiziko-Kimyasal Değerler

Baraj suyunun fiziko-kimyasal özelliğinin değerlendirilmesi için her dönem ve istasyonda (Ağustos 2006 dahil) barajın 4 metre derinliğinde su sıcaklığı ve çözülmüş oksijen (ÇÖ) düzeyi belirlendi. Aynı zamanda, balık örneği alınan her dönem, dört istasyondan yaklaşık 1 metre derinlikten su örnekleri alınarak 16 parametre ölçüldü (Çizelge 4.8). Parametre değerleri, Türk Çevre Mevzuatının, Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğinde yer alan “Kıtaçi Su Kaynaklarının Sınıflarına Göre Kalite Kriterleri” ile karşılaştırılmıştır. Belirtilen yönetmeliğe göre içme suyu temin edilecek olan 1. sınıf sularda dezenfeksiyon yeterli görülmekte; 2. sınıf sularda ise ileri veya uygun bir arıtma öngörülmektedir. 3. ve 4. sınıf sular ise içme suyu teminine uygun görülmemektedir. İçme suyu elde edilebilirlik durumu dikkate alınarak I. ve II. sınıf su kimyasal değerleri uygun, bu değerlerin dışındaki değerler yüksek kabul edilebilir. Buna göre barajın bütün dönem ve istasyonlarında ÇÖ, KOİ, Cl, Na, Cd, Mn, Fe, Sülfat ve amonyum değerlerinin I. veya II. sınıf su kalitesinde olduğu belirlendi. Pb düzeyleri bakımından ise bütün istasyon ve dönemlerde su kalitesinin IV. sınıf su niteliğinde olduğu saptandı. TOK, Cu, fosfat ve nitrit değerleri bazı dönem ve istasyonlarda III ve IV. sınıf su seviyesinde belirlendi. Baraj suyunun, nitrit değerleri bakımından 9. dönemde istasyonların tümünde, 1., 3. ve 8. dönemlerde Hasırcılar istasyonunda, 3. ve 7. dönemlerde Boran istasyonunda III. veya IV. sınıf su kalitesinde olduğu belirlendi. Fosfat değerinin sadece 6. dönemde Hasırcılar istasyonunda, bakır değerinin ise sadece 9. dönemde Eğribük istasyonunda II. sınıf su düzeyinin üzerinde olduğu saptandı.

Baraj suyunun ortalama pH düzeyi 8.5 olarak belirlendi ve Aralık 2004 dönemi dışında önemli sapmalar görülmedi. Ancak barajda en yüksek pH değerinin belirlendiği Ağustos 2006’da, Hasırcılar istasyonunda pH, III. sınıf su kalitesi düzeyindedir. Barajda en yüksek su sıcaklığı Ağustos 2006’da (27.75 °C), en yüksek ÇÖ düzeyi ise Temmuz 2005’de (14.16 mg/L) belirlendi. Genelde baraj gölünde seçilen istasyonlarda saptanan ÇÖ değeri yüksek seviyededir.

Çizelge 4.8. Karakaya Baraj Gölünden alınan su örneklerinin fiziko-kimyasal değerleri. a, değerin belirlendiğini, ancak ölçüm aralığının dışında olduğunu göstermektedir

	pH	Sıcaklık (°C)	ÇÖ (mg/L)	KOİ (mg/L)	TOK (mg/L)	Cl (mg/L)	Na (mg/L)	Pb (mg/L)	Cd (mg/L)	Cu (mg/L)	Mn (mg/L)	Fe ⁺² (mg/L)	Fe ⁺³ (mg/L)	SO ₂ (mg/L)	PO ₄ -P (mg/L)	ΣN (mg/L)	NO ₂ -N (mg/L)	NH ₄ -N (mg/L)
Ölçüm Aralığı			4.0- 40.0	5.0- 80.0	5-125	10-300	0.010- 1.000	0.010- 0.300	0.02- 1.20	0.010- 2.000	0.010- 1.000	0.010- 1.000	25-300	0.010- 1.000	0.5- 15.0	0.005- 0.200	0.010- 0.500	
I. sınıf	6.5-8.5	25	8	25	5	25	125	0.010	0.003	0.02	0.10	0.30		200	0.02		0.002	0.2
II. sınıf	6.5-8.5	25	6	50	8	200	125	0.020	0.005	0.05	0.50	1.00		200	0.16		0.010	1
III. sınıf	6.0-9.0	30	3	70	12	400	250	0.050	0.010	0.20	3.00	5.00		400	0.65		0.050	2
IV. sınıf Su Kal. dışında	6.0-9.0 dışında	>30	<3	>70	>12	>400	>250	>0.050	>0.010	>0.20	>3.00	>5.00		>400	>0.65		>0.050	>2
1. Dönem																		
Adagören	8.6	17.8	8.30	8.45	8.15	18	11	0.062	<0.025	0.03	0.012	0.027	0.024	79	<0.01	0.30 ^{<a}	0.004 ^{<a}	0.032
Boran	8.7	18.1	9.25	9.5	9.30	18	14	0.066	<0.025	0.02	0.040	0.038	0.010	75	<0.01	1.30	0.004 ^{<a}	0.053
Eğribük	8.7	18.5	8.50	12.50	6.20	18	11.83	0.056	<0.025	0.05	0.021	0.038	0.003	81	<0.01	0.57	0.003 ^{<a}	0.023
Hasırcılar	8.7	17.9	9.50	12.23	11.20	22	14.5	0.072	<0.025	0.04	0.024	0.052	0.012	104	<0.01	0.95	0.011	0.053
2. Dönem																		
Adagören	7.01	10.7	7.87	13.5	9.1	16	9.00 ^{<a}	0.088	<0.025	0.02	0.013	0.019	0.042	73	0.008 ^{<a}	<0.5	0.004 ^{<a}	0.021
Boran	7.26	10.0	8.85	8.20	8.3	16	10	0.069	<0.025	0.03	0.011	0.024	0.001	62	<0.01	<0.5	0.006	0.032
Eğribük	7.03	10.8	7.20	8.70	10.5	17	12	0.060	<0.025	0.02	0.011	0.030	0.002	64	0.012	<0.5	0.006	0.034
Hasırcılar	6.86	10.3	9.05	12.3	12.3	20	17	0.067	<0.025	0.03	0.020	0.024	0.019	83	0.035	<0.5	0.006	0.090

Çizelge 4.8. (devamı)

	pH	Sıcaklık (°C)	ÇÖ (mg/L)	KOİ (mg/L)	TOK (mg/L)	Cl (mg/L)	Na (mg/L)	Pb (mg/L)	Cd (mg/L)	Cu (mg/L)	Mn (mg/L)	Fe ⁺² (mg/L)	Fe ⁺³ (mg/L)	SO ₂ (mg/L)	PO ₄ -P (mg/L)	ΣN (mg/L)	NO ₂ -N (mg/L)	NH ₄ -N (mg/L)
Ölçüm				4.0-	5.0-			0.010-	0.010-	0.02-	0.010-	0.010-	0.010-		0.010-	0.5-	0.005-	0.010-
Aralığı				40.0	80.0	5-125	10-300	1.000	0.300	1.20	2.000	1.000	1.000	25-300	1.000	15.0	0.200	0.500
3. Dönem																		
Adagören	8.60	14.5	11.70	38	13.3	21	12	0.092	<0.025	0.03	0.020	0.034	0.023	63	<0.01	<0.5	0.009	0.014
Boran	8.57	16.6	12.47	9.1	7.0	19	11	0.109	<0.025	0.04	0.033	0.040	0.003	89	<0.01	<0.5	0.011	0.042
Eğribük	8.60	14.6	11.14	8.8	6.9	17	13	0.086	<0.025	0.03	0.023	0.039	0.008	65	<0.01	<0.5	0.008	0.017
Hasırcılar	8.47	15.6	11.61	15.9	7.1	21	10	0.106	<0.025	0.04	0.032	0.037	0.011	91	<0.01	<0.5	0.012	0.052
4. Dönem																		
Adagören	8.76	21.2	9.93	11.2	<5.0	19	14	0.080	<0.025	0.04	0.018	0.031	0.005	61	<0.01	<0.5	0.002 ^{<a}	0.018
Boran	8.73	21.3	10.54	22.0	0.9 ^{<a}	20	16	0.077	<0.025	0.03	0.024	0.032	0.008	77	<0.01	<0.5	0.006	0.034
Eğribük	8.75	20.2	10.51	14.3	0.8 ^{<a}	19	15	0.072	<0.025	0.03	0.024	0.033	0.015	65	<0.01	<0.5	0.003 ^{<a}	0.048
Hasırcılar	8.71	21.7	12.40	16.7	1.8 ^{<a}	21	16	0.080	<0.025	0.02	0.015	0.024	0.014	81	<0.01	<0.5	0.008	0.036
5. Dönem																		
Adagören	8.68	25.5	12.33	18.3	6.1	20	14	0.087	<0.025	0.02	0.026	0.034	0.003	68	<0.01	2.5	0.002 ^{<a}	0.059
Boran	8.77	25.8	12.72	18.4	7.5	22	15	0.075	<0.025	0.03	0.014	0.024	0.012	112	<0.01	0.7	0.003 ^{<a}	0.057
Eğribük	8.72	25.0	12.60	19.0	6.9	21	13	0.073	<0.025	0.03	0.007 ^{<a}	0.020	0.009	78	<0.01	0.6	0.003 ^{<a}	0.046
Hasırcılar	8.96	25.0	18.98	15.6	17.9	21	15	0.080	<0.025	0.02	0.018	0.021	0.008	90	<0.01	1.7	0.004 ^{<a}	0.040

Çizelge 4.8. (devamı)

	pH	Sıcaklık (°C)	ÇÖ (mg/L)	KOI (mg/L)	TOK (mg/L)	Cl (mg/L)	Na (mg/L)	Pb (mg/L)	Cd (mg/L)	Cu (mg/L)	Mn (mg/L)	Fe ⁺² (mg/L)	Fe ⁺³ (mg/L)	SO ₂ (mg/L)	PO ₄ -P (mg/L)	ΣN (mg/L)	NO ₂ -N (mg/L)	NH ₄ -N (mg/L)
Ölçüm				4.0-	5.0-			0.010-	0.010-	0.02-	0.010-	0.010-	0.010-		0.010-	0.5-	0.005-	0.010-
Aralığı				40.0	80.0	5-125	10-300	1.000	0.300	1.20	2.000	1.000	1.000	25-300	1.000	15.0	0.200	0.500
6. Dönem																		
Adagören	8.74	23.3	11.79	15.8	10.9	20	14	0.090	<0.025	0.03	0.016	0.020	0.026	65	<0.010	0.7	0.003 ^{<a}	0.008 ^{<a}
Boran	8.81	23.8	11.85	14.8	7.9	20	13	0.086	<0.025	0.02	0.013	0.022	0.009	68	0.009 ^{<a}	0.6	0.003 ^{<a}	0.038
Eğribük	8.79	23.5	10.66	21.3	10.6	20	12	0.072	<0.025	0.03	0.021	0.021	0.010	69	<0.010	0.5	0.003 ^{<a}	0.042
Hasırcılar	8.69	23.3	10.65	16.7	7.6	24	18	0.100	<0.025	0.03	0.019	0.024	0.009	105	0.024	1.1	0.003 ^{<a}	0.065
7. Dönem																		
Adagören	8.31	16.1	7.95	20.2	9.1	20	14	0.078	<0.025	0.02	0.015	0.014	0.031	81	<0.010	0.9	0.005	0.063
Boran	8.41	15.2	9.85	12.6	8.9	24	15	0.101	<0.025	0.02	0.015	0.016	0.013	84	0.003 ^{<a}	2.7	0.013	0.105
Eğribük	8.29	15.2	8.32	15.8	9.4	20	14	0.075	<0.025	0.03	0.020	0.011	0.016	80	<0.010	0.9	0.005	0.057
Hasırcılar	8.35	15.6	9.02	16.0	10.2	22	14	0.097	<0.025	0.02	0.017	0.018	0.009	97	<0.010	1.1	0.006	0.077
8. Dönem																		
Adagören	8.41	10.0	12.51	14.8	7.4	13	7 ^{<a}	0.108	<0.025	0.03	0.015	0.021	0.006	57	0.003 ^{<a}	1.5	0.010	0.084
Boran	8.53	9.9	13.10	6.7	7.3	12	12	0.110	<0.025	0.03	0.012	0.018	0.008	61	<0.010	0.6	0.008	0.074
Eğribük	8.66	9.8	10.89	14.9	17.7	18	9 ^{<a}	0.104	<0.025	0.02	0.011	0.022	0.013	58	<0.010	0.8	0.008	0.031
Hasırcılar	8.70	10.0	13.23	21.4	41.6	19	5 ^{<a}	0.140	<0.025	0.03	0.015	0.049	0.009	68	<0.010	0.8	0.011	0.142
Sultansuyu	8.57	10.07	11.02	17.0	13.8	3 ^{<a}	5 ^{<a}	0.118	<0.025	0.01 ^{<a}	0.002 ^{<a}	0.026	0.005	39	0.018	1.6	0.026	0.004 ^{<a}

Çizelge 4.8. (devamı)

	pH	Sıcaklık (°C)	ÇÖ (mg/L)	KOİ (mg/L)	TOK (mg/L)	Cl (mg/L)	Na (mg/L)	Pb (mg/L)	Cd (mg/L)	Cu (mg/L)	Mn (mg/L)	Fe ⁺² (mg/L)	Fe ⁺³ (mg/L)	SO ₂ (mg/L)	PO ₄ -P (mg/L)	ΣN (mg/L)	NO ₂ -N (mg/L)	NH ₄ -N (mg/L)
Ölçüm				4.0-	5.0-			0.010-	0.010-	0.02-	0.010-	0.010-	0.010-		0.010-	0.5-	0.005-	0.010-
Aralığı				40.0	80.0	5-125	10-300	1.000	0.300	1.20	2.000	1.000	1.000	25-300	1.000	15.0	0.200	0.500
9. Dönem																		
Adagören	8.84	15.5	13.51	20.7	10.3	19	13	0.159	<0.025	0.05	0.055	0.101	0.018	65	0.004 ^{<a}	0.7	0.021	0.023
Boran	8.52	16.2	13.72	14.4	15.7	22	15	0.162	<0.025	0.05	0.051	0.070	0.018	84	0.003 ^{<a}	0.5	0.016	0.046
Eğribük	8.77	14.7	9.70	21.9	9.0	19	13	0.121	<0.025	0.06	0.071	0.053	0.017	69	0.001 ^{<a}	0.4 ^{<a}	0.013	0.022
Hasırcılar	8.71	15.9	9.11	21.9	14.3	22	15	0.158	<0.025	0.04	0.052	0.064	0.022	88	<0.010	1.3	0.020	0.067
10. Dönem (09.08.2006)																		
Adagören	8.81	27.2	9.54	13.2	12.8	23	18	0.095	<0.025	0.03	0.002 ^{<a}	0.021	0.010	65	<0.010	1.2	0.003 ^{<a}	0.033
Boran	9.00	28.7	12.46	22.1	12.5	22	16	0.086	<0.025	0.03	0.019	0.024	0.014	75	<0.010	1.2	0.003 ^{<a}	0.041
Eğribük	8.84	27.8	9.73	17.4	11.8	23	15	0.092	<0.025	0.04	0.012	0.032	0.003	80	<0.010	1.1	0.003 ^{<a}	0.041
Hasırcılar	8.81	27.3	11.84	16.6	7.6	24	16	0.095	<0.025	0.03	<0.010	0.012	0.016	74	<0.010	1.6	0.003 ^{<a}	0.057

4.5. FETAX Testi ile İlgili Bulgular

Farklı iki dönemde, baraj suyu kullanılarak yapılan FETAX deneylerine göre (Tablo 4.9) baraj suyu toksik ve/veya teratojenik değildir. Yapılan çalışmalarda FETAX kontrol suyunda % ölüm düzeyi 10'un altında belirlenmiştir. Bu da yapılan çalışmanın doğru seyrettiğine işaret etmektedir. Ağustos 2006'da alınan su örneklerinin toksisitesinde, önceki döneme göre göreceli bir azalma gözlenmektedir. Ancak Ekim 2005 döneminde de baraj suyunun toksik olmadığı görülmektedir. Yaşayan birey sayıları karşılaştırıldığında Hasırcılar istasyonunda, Eylül 2005 döneminde alınan suların öldürücülüğünün görece yüksek olduğu görülmektedir, ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli bir fark belirlenmemiştir.

Tablo 4.9. Karakaya Barajından alınan su örneklerinin FETAX uygulaması sonuçları

İstasyon	n	ny	nm	Malformasyon Türleri						
				bö	yö	go	mf	ms	dp	ke
10.09.2005										
FETAX-Kontrol	100	95	3	-	3	-	-	-	-	-
Adagören	100	93	0	-	-	-	-	-	-	-
Boran	100	93	2	1	-	1	-	1	-	1
Eğribük	100	93	2	-	1	-	-	-	-	1
Hasırcılar	100	87	1	-	-	1	-	1	-	-
09.08.2006										
FETAX-Kontrol	125	122	3	1	2	-	-	-	-	-
Adagören	125	122	3	-	2	-	-	-	-	1
Boran	125	120	1	1	-	-	-	-	-	-
Eğribük	125	123	4	-	-	1	-	1	-	2
Hasırcılar	125	122	3	1	1	-	-	1	-	1

n: testte kullanılan birey sayısı, ny: test sonunda yaşayan birey sayısı, nm: malforme birey sayısı, FETAX testi sonrası görülen ve görülmesi muhtemel malformasyon türleri; bö: başta ödem, yö: yolta ödem, go: göz ortada, mf: mikroftalmi (küçük gözlülük), ms: mikrosefali (küçük başlılık), ke: kuyruk eğriliği ve dp: depigmentasyon şeklinde ifade edilmiştir.

4.6. Kontrol Çalışmasında Kullanılan Balık Örnekleri

Tez kapsamında yapılan alan çalışmasının yanı sıra, Karakaya Baraj Gölü ve Sultansuyu Baraj Gölünden örnekler alınarak bir kontrol çalışması yapıldı. Bu çalışmada balık örnekleri 5 grup olarak değerlendirildi ve kıyaslamalar bu 5 grup arasında yapıldı (Çizelge 4.10). Kontrol amaçlı yapılan bu çalışmada Mart 2006'da Karakaya Baraj Gölüne su girdisi sağlayan Sultansuyu Çayı üzerinde kurulu Sultansuyu Barajından 22 balık örneği alındı. Bunların 9'unun kan ve doku örnekleri hemen alındı (SI). 6 örnek laboratuvar kontrolü için (SII), 7'si ise 17 β -östradiol (E_2) uygulaması için kullanıldı (SIII). Mart 2006'da Karakaya Baraj Gölünden alınan 15 balık örneği Karakaya Baraj Gölünü temsil ederken (KI), Karakaya Baraj gölünden alınarak 25 gün süreyle laboratuvar koşullarında yaşatılan 8 örnek, laboratuvar koşullarını temsil amaçlı kullanıldı (KII).

Çizelge 4.10. Kontrol çalışmasına ait balıkların eşey durumları

Grup	Tanım	Toplam Birey Sayısı	♂(n)	♀(n)
KI	Mart 2006'da Karakaya Barajından yakalanan balıklar	15	8	7
KII	Karakaya Baraj Gölünden yakalandıktan sonra herhangi bir uygulama yapılmaksızın 25 gün süreyle laboratuvarında yaşatılan balıklar	8	6	2
SI	Mart 2006'da Sultansuyu Barajından yakalanan balıklar	9	5	4
SII	Mart 2006'da Sultansuyu Barajından yakalanan ve 13 gün süreyle laboratuvarında yaşatılan balıklar	6	5	1
SIII	Mart 2006'da Sultansuyu Barajından yakalanan ve 3 gün laboratuvar koşullarında bekletildikten sonra, 10 gün süreyle laboratuvarında 400 ng/L, 17- β -östradiol uygulanan balıklar	7	4	3

4.6.1. Kontrol çalışmasında kullanılan balık örnekleri ile ilgili bulgular

Kontrol çalışmasında kullanılan balıklardan sağlanan fizyolojik değerler Çizelge 4.11'de verilmiştir. SI ve SII grupları arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmezken, SIII (E_2 uygulaması yapılan) balık örneklerinin KF değerinin SII'ye göre istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı ($p<0.05$), HSI değerinin ise SII'ye göre azaldığı ($p<0.05$)

belirlendi. KI örnekleri ile SI örnekleri arasında hem KF hem de HSI değeri açısından istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık saptandı ($p<0.05$). Yine KI ve KII grupları arasında da KF ve HSI değerleri açısından farklılık belirlendi ($p<0.05$).

Çizelge 4.11. Kontrol çalışmasına ait balıkların biyolojik parametre değerleri

Grup	n	Boy(cm) \pm SH	Ağırlık(g) \pm SH	KF \pm SH	HSİ(%) \pm SH
KI	15	29.40 \pm 1.076	517.07 \pm 66.29	1.919 \pm 0.049	0.376 \pm 0.033
KII	8	34.44 \pm 0.586	580.00 \pm 29.40	1.414 \pm 0.081 ^c	0.246 \pm 0.026 ^c
SI	9	34.89 \pm 0.696	556.11 \pm 30.89	1.300 \pm 0.024 ^a	0.139 \pm 0.013 ^a
SII	6	32.58 \pm 1.012	485.83 \pm 45.47	1.389 \pm 0.045	0.191 \pm 0.018
SIII	7	33.21 \pm 0.987	548.57 \pm 70.77	1.479 \pm 0.060 ^e	0.131 \pm 0.014 ^f

a:KI ve SI, c: KI ve KII, e: SI ve SIII, f: SII ve SIII grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

Kontrol çalışmasında kullanılan balıklara ait beyin AChE ve CaE aktiviteleri incelendiğinde östrojen uygulaması sonrası (SIII) AChE aktivitesinin önemli düzeyde arttığı ($p<0.05$), CaE aktivitesinin E₂ uygulamasından etkilenmediği görülmektedir (Çizelge 4.12). Yine SI ve KI; SII ve KII grupları arasında AChE aktivitesi açısından istatistiksel olarak önemli düzeyde bir farklılık belirlendi ($p<0.05$).

Çizelge 4.12.Kontrol çalışmasına ait balıkların beyin AChE ve CaE spesifik aktiviteleri (nmol/dakika/mg protein)

Grup	n	AChE \pm SH	CaE \pm SH
KI	15	61.46 \pm 2.08	270.8 \pm 8.68
KII	8	64.52 \pm 2.98	226.5 \pm 9.50 ^c
SI	9	68.04 \pm 3.02 ^a	244.2 \pm 11.60
SII	6	78.35 \pm 1.91 ^b	259.4 \pm 16.31
SIII	7	85.04 \pm 4.88 ^{e,f}	255.2 \pm 8.14

a:KI ve SI, b: KII ve SII, c: KI ve KII, e: SI ve SIII, f: SII ve SIII grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

Kontrol çalışmasında kullanılan balıklara ait karaciğer GR, GST ve CaE aktiviteleri incelendiğinde, SIII balık örneklerinde SI ve SII gruplarına oranla enzim

aktivitelerinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik belirlenmedi (Çizelge 4.13). Ancak GST aktivitesine bakıldığında KI ve SI; KII ve SII arasında farklılık önemli düzeyde bulundu ($p<0.05$).

Çizelge 4.13. Kontrol çalışmasına ait balıkların karaciğer GR, GST ve CaE enzim aktivite değerleri (nmol/dakika/mg protein)

Grup	n	GR±SH	GST±SH	CaE±SH
KI	15	6.691±0.534	39.61±1.733	150.2±14.21
KII	8	7.288±1.341	40.41±3.184	129.9±11.67
SI	9	8.478±1.471	56.13±4.154 ^a	174.1±12.73
SII	6	9.022±0.754	55.82±1.972 ^b	165.8±25.93
SIII	7	7.504±1.190	52.11±3.240	180.7±27.54

a:KI ve SI, b: KII ve SII grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

Kontrol çalışmasında kullanılan balıkların karaciğer LDH, AST ve ALT aktiviteleri incelendiğinde, SIII balık örneklerinde belirtilen enzimlerin aktivitelerinde SI ve SII gruplarına göre bir değişim gözlenmedi (Çizelge 4.14). KI ve SI, KI ve KII grupları için LDH enzim aktivitesi açısından istatistiksel olarak önemli düzeyde bir farklılık bulundu ($p<0.05$).

Çizelge 4.14. Kontrol çalışmasına ait balıkların karaciğer LDH, AST ve ALT enzim aktivite değerleri (nmol/dakika/mg protein).

Grup	n	LDH±SH	AST±SH	ALT±SH
KI	15	204.7±10.55	33.13±1.707	3.370±0.280
KII	8	355.5±40.80 ^c	44.01±4.026	3.022±0.426
SI	9	316.8±15.84 ^a	50.59±2.751	4.001±0.765
SII	6	299.6±30.88	43.95±4.952	4.334±0.460
SIII	7	289.7±28.93	41.74±3.442	6.228±1.423

a:KI ve SI, c: KI ve KII grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

Kontrol çalışmasında kullanılan balıklarda plazma LDH, AST ve ALT aktiviteleri incelendiğinde, SI grubuna göre SII ve SIII balık örneklerinde belirtilen enzimlerin aktiviteleri için önemli düzeyde farklılık gözlemlendi ($p<0.05$). SII grubundaki azalma SIII grubuna göre daha fazla gerçekleşti (Çizelge 4.15). KI ve KII grupları arasında LDH ve AST, KI ve SI grupları arasında ise sadece AST enzimi için istatistiksel olarak önemli düzeyde bir farklılık belirlendi ($p<0.05$).

Çizelge 4.15. Kontrol çalışmasına ait balıkların plazma LDH, AST ve ALT enzim aktivite değerleri (U/L)

Grup	n	LDH±SH	AST±SH	ALT±SH
KI	15	937.79±179.97	175.13±37.03	25.827±5.247
KII	8	249.55±39.59 ^c	122.19±12.82 ^c	13.884±3.263
SI	9	970.10±69.05	227.82±37.73 ^a	19.970±3.233
SII	6	578.46±109.87 ^{b,d}	50.15±14.95 ^{b,d}	6.387±0.224 ^{b,d}
SIII	7	345.00±77.01 ^e	54.60±10.61 ^e	9.503±2.445 ^e

a:KI ve SI, b: KII ve SII, c: KI ve KII, d: SI ve SII e: SI ve SIII grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

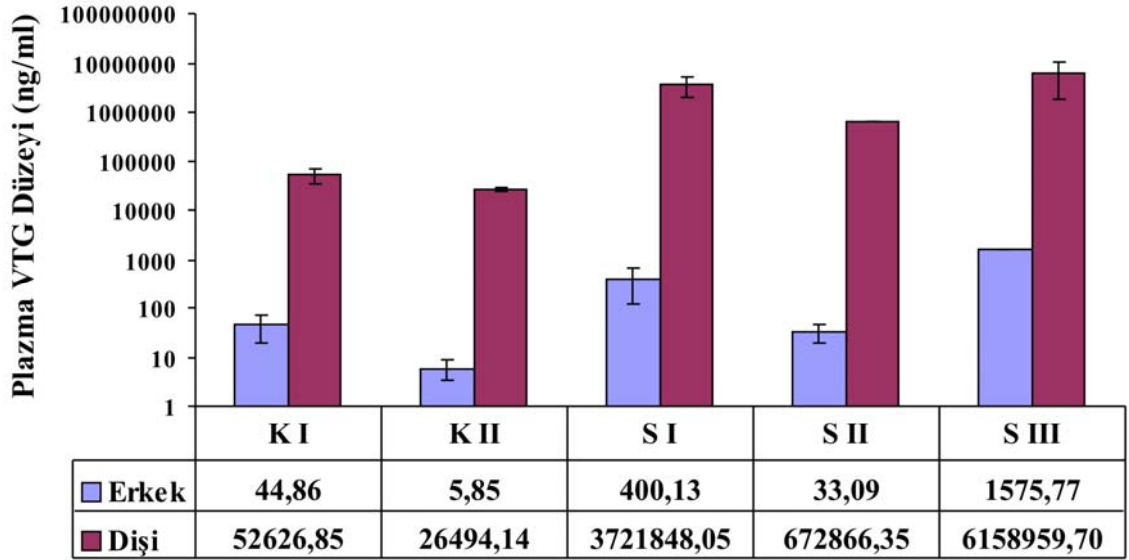
Kontrol çalışmasında kullanılan balıklara ait karaciğer mikrozomal EROD ve Bİ değerlerinin E₂ uygulaması sonrasında kısmen arttığı saptandı, ancak bu artışlar istatistiksel açıdan önemli düzeyde bulunmadı ($p>0.05$) (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Kontrol çalışmasına ait balıkların karaciğer EROD aktivite değerleri (pmol/dakika/mg protein)

İstasyon	n	EROD ±SH	Bİ±SH
KI	15	1599.7±242.0	24.72±6.38
KII	8	1667.5±371.1	39.20±13.86
SI	9	1612.3±185.9	31.84±6.04
SII	6	1685.2±345.7	29.80±5.67
SIII	7	1906.1±253.5	38.49±6.82

Kontrol çalışmasında kullanılan balıklara ait plazma VTG değerleri incelendiğinde, E₂ uygulaması sonrası erkek balıklarda VTG düzeyinin hem alan hem

de laboratuvar kontrol balıklarına göre istatistiksel açıdan önemli düzeyde arttığı gözlemlendi ($p < 0.05$). Benzer şekilde dişi balıklarda da VTG konsantrasyonunun önemli düzeyde arttığı belirlendi (Şekil 4.4.). SI grubuna ait erkek balıklarda VTG düzeyi uygulama grubu haricindeki diğer gruplardan yüksek belirlendi.



Şekil 4.4. Kontrol çalışmasına ait balıkların VTG plazma (ng/ml) düzeyleri

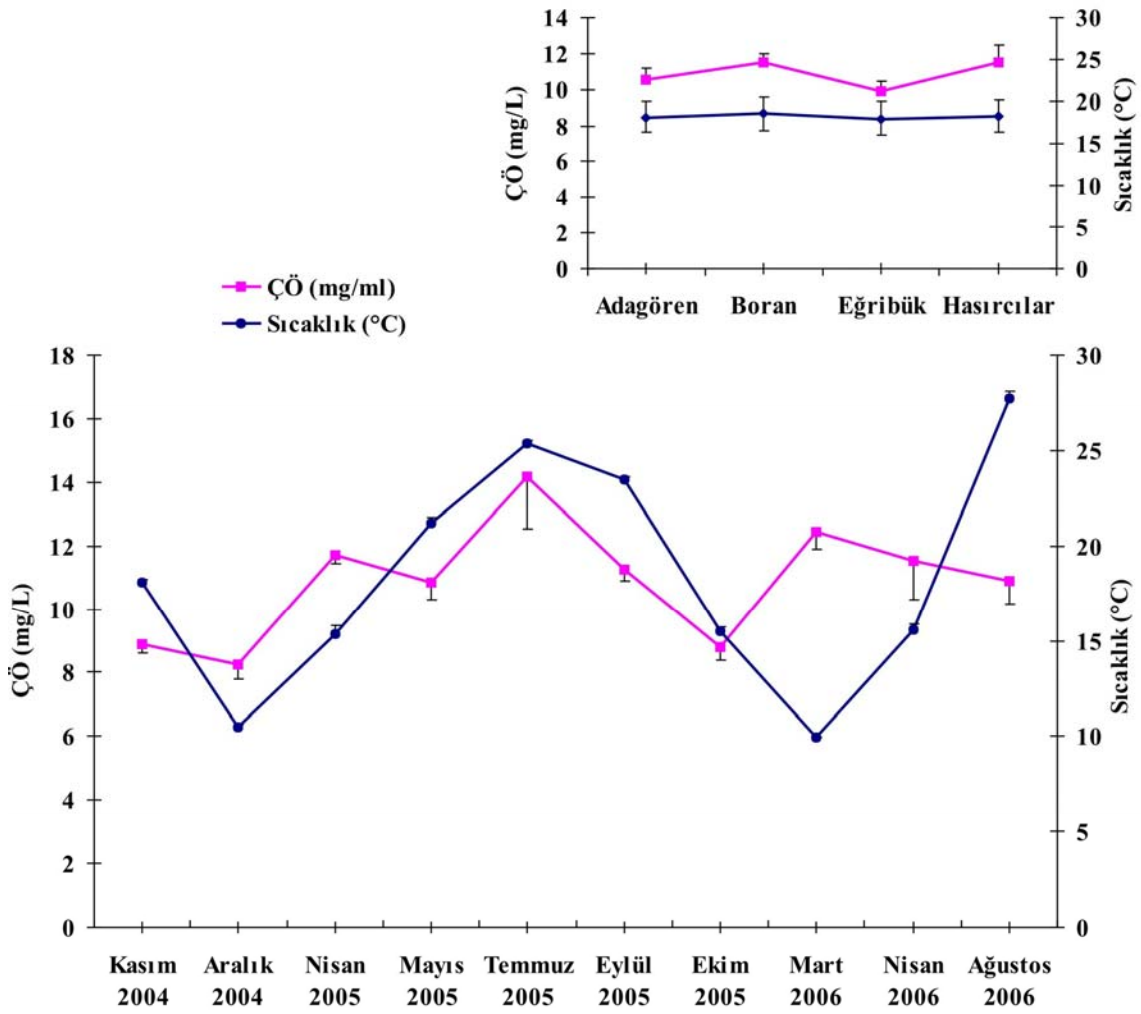
5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Su Örneklerinin Fiziko-Kimyasal Değerleri ile İlgili Değerlendirmeler

Çalışmamız ile ilgili değerlendirmeler yapılırken, suda ölçülen fiziko-kimyasal değerlerden hareketle biyobelirteç değerlerdeki değişimler yorumlanmıştır. Baraj gölünde ölçülen parametreler genellikle balık popülasyonu için sorun yaratacak düzeyde değildir. Ancak bazı parametreler için dönemsel, bazıları için ise istasyonlar arasında bir farklılık söz konusudur. Ayrıca sudaki organik madde düzeyi (pestisitler, endüstriyel kimyasallar gibi) belirlenemediği için sadece ölçülen fiziko-kimyasal parametrelerden yola çıkarak baraj suyunun temiz olduğunu söylemek mümkün değildir.

Vidal vd. [163] yaptıkları çalışmada uzun süreli izlenen su sisteminde su sıcaklığı ve ÇÖ düzeyi arasında bir paralellik tespit etmişlerdir. Çalışmamızda bu yönde bir paralellik olmasa da iki parametre arasında yakın bir ilişki belirlenmiştir (Şekil 5.1). Mart 2006'da su sıcaklığının düşmesine rağmen ÇÖ düzeyinin yükselmesi, ilkbahar dönemindeki yağışlar ve su miktarının değişken olması ile ilişkilendirilebilir. Barajda en yüksek su sıcaklık Ağustos 2006'da (27.75 °C), en yüksek ÇÖ düzeyi ise Temmuz 2005'de (14.16 mg/L) belirlendi. Su ÇÖ düzeyleri, hem Türk Çevre Mevzuatının, Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğinde yer alan "Kıta içi Su Kaynaklarının Sınıflarına Göre Kalite Kriterleri"ne göre (8 mg/L) hem de USEPA'nın (USEPA, Goldbook) tatlı su balıklarının yaşamı için gerekli gördüğü değere (5 mg/L) kıyasla oldukça yüksek düzeyde bulundu [164,165]. ÇÖ miktarının yüksek oluşu suda bulunan alg miktarının yüksek düzeyde olması ile de ilişkili olabilir. Bu durumda gölde ötrifikasyon riskinden söz edilebilir.

Türk Çevre Mevzuatına göre, bütün istasyon ve dönemlerde ÇÖ, KOİ, Cl, Na, Cd, Mn, Fe, sülfat ve amonyum değerleri I. veya II. sınıf su kalitesinde belirlenmiştir. Pb düzeyleri ise bütün istasyon ve dönemlerde IV. sınıf su kalitesi seviyesindedir. TOK, Cu, fosfat ve nitrit değerleri bazı istasyon ve dönemlerde III. veya IV. sınıf su kalitesi seviyesinde belirlenmiştir. Fosfat değeri sadece 6. dönemde Hasırcılar istasyonunda, bakır değeri ise sadece 9. dönemde Eğribük'de II. sınıf su kalitesi seviyesinin üzerinde belirlenmiştir.

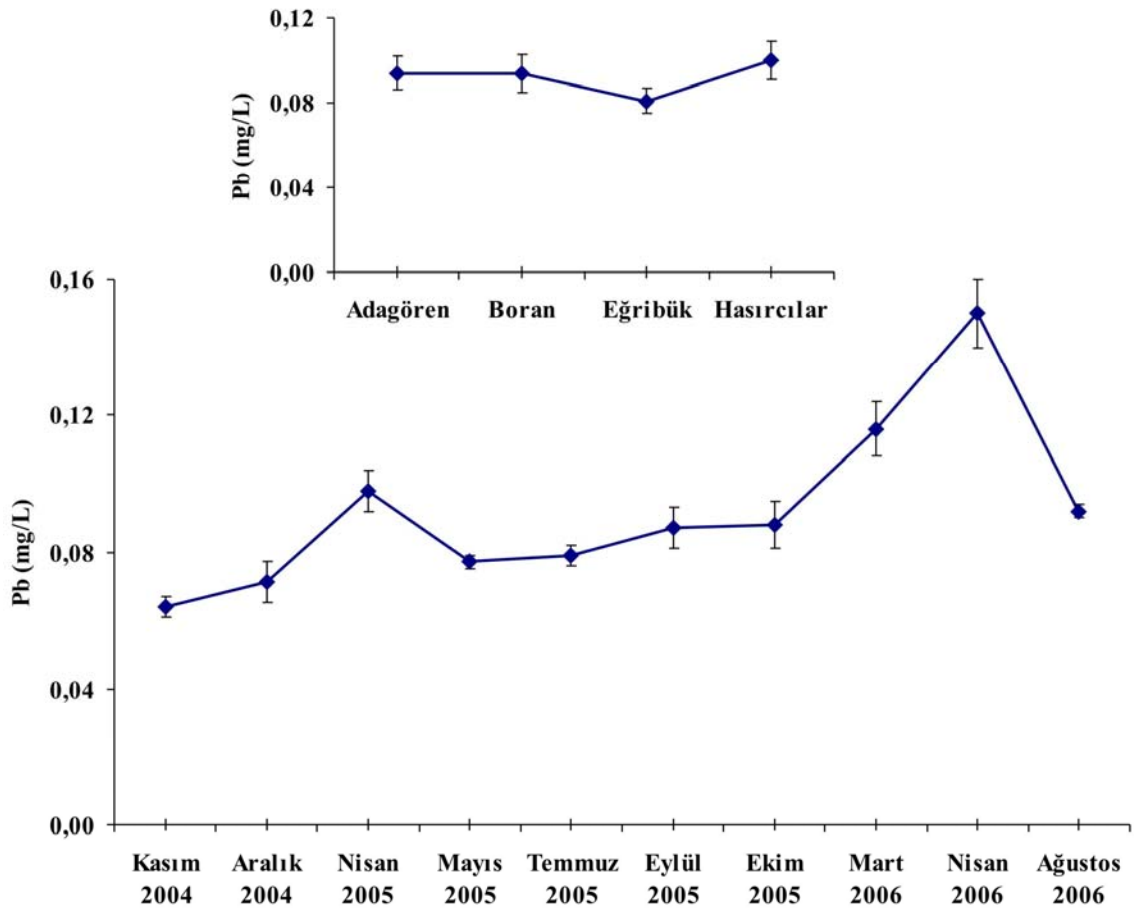


Şekil 5.1. Karakaya Baraj Gölünden alınan su örneklerinin ÇÖ ve sıcaklık değerlerinin istasyon ve dönem ortalamaları

Baraj suyunun ortalama pH düzeyi 8.5 olarak belirlenmiştir ve Aralık 2004 dönemi (7.04) dışında önemli sapmalar görülmemektedir. pH açısından istasyon ortalamaları dikkate alındığında, önemli bir fark belirlenmemiştir. pH değeri organizmalar üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olmasının yanı sıra, sudaki belirli kimyasalların toksisitesi üzerinde dolaylı etkiye sahiptir. USEPA, Redbook'a [166] göre, tatlı su ekosistemlerinde pH 6.5-9 aralığında olmalıdır. Çalışma periyodu boyunca alınan değerler belirtilen aralığın dışına çıkmamıştır.

Barajın bütün istasyon ve dönemlerinde Mn, Fe, değerleri bakımından su kalitesi I. veya II. sınıf su niteliğindedir. Fe, Mn ve Pb değerlerinin dönemlere göre izlediği seyrin benzerliği de dikkat çekicidir. Her üç metalin sudaki miktarları Nisan 2006 da en üst düzeye ulaşmıştır, ancak Fe ve Mn miktarı sudaki organizmaların sağlığını etkileyecek düzeyde değildir. Bütün istasyon ve dönemlerde ölçülen Pb değerinin

yüksekliği, bu element açısından ağır metal kirliliğinin yüksek derecede olduğunu göstermektedir (Şekil 5.2). Daha önce Karakaya Baraj Gölünde tarafımızca yapılan bir çalışmada [21] Pb düzeyi bu çalışmada elde edilen değerlere göre oldukça düşük düzeyde belirlenmiştir. USEPA, Goldbook'a göre [165] Pb için insan içme suyunda kabul edilebilir üst sınır 50 µg/L'dir. Baraj suyunda bütün dönemlerde Pb düzeyi insan sağlığı için gerekli üst sınırın üzerindedir. Hatta Nisan 2006'da 140 µg/L düzeyine ulaşmaktadır. Bu durum, baraj gölünün içme suyu olarak kullanılmasının riskinin yanında, baraj gölündeki balıklarda ayrıntılı şekilde ağır metal birikiminin ölçülmesi gerektiğini göstermektedir. Baraj gölünde Pb kirliliğine yol açan unsurların saptanması ve gerekli önlemlerin alınması da büyük önem taşımaktadır.



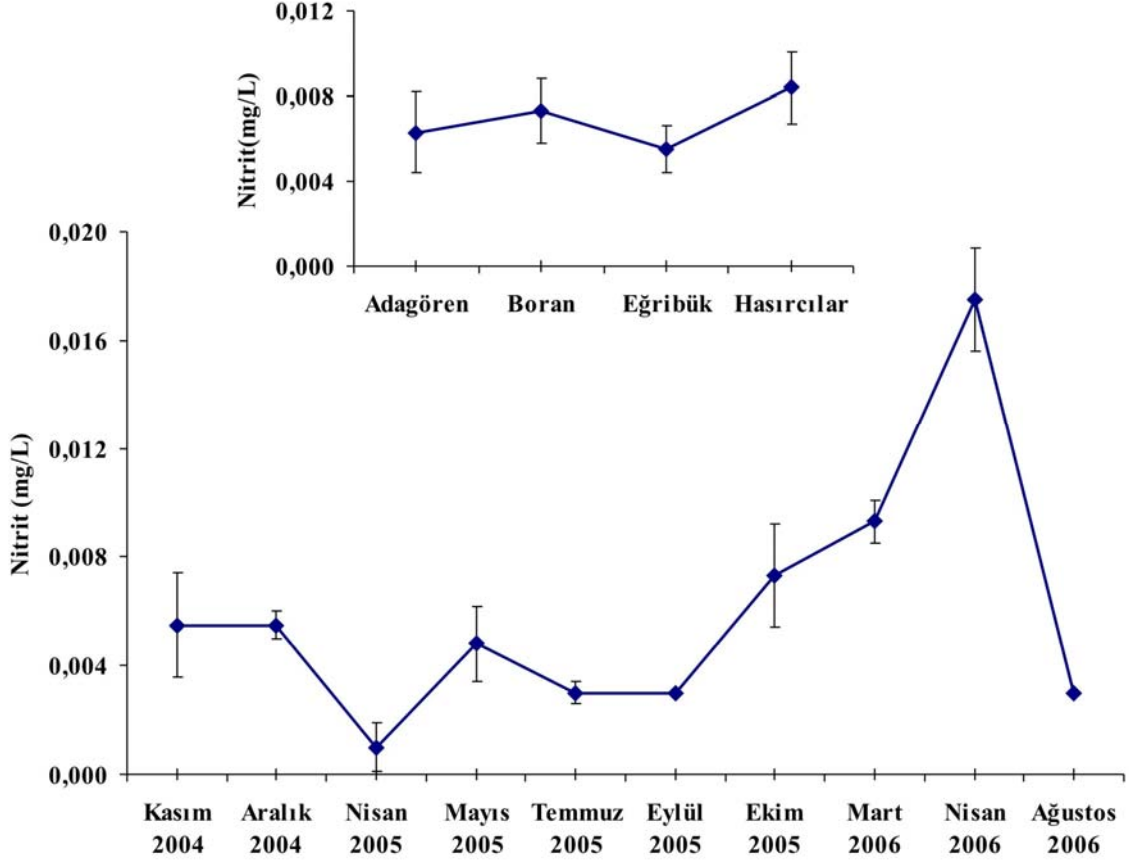
Şekil 5.2. Karakaya Baraj Gölünden alınan su örneklerinin Pb değerlerinin istasyon ve dönem ortalamaları

Barajın Hasırcılar istasyonunda beş dönemde alınan suların TOK düzeyi, suyun IV. sınıf su kalitesinde olduğu görülmektedir. Çoğu biyobelirteç ve su parametresi açısından diğer dönemlerden önemli düzeyde farklı olan Mart 2006'da, Hasırcılar

istasyonunda TOK değeri (41.6 mg/L) diğer istasyonlara ve dönemlere oranla oldukça yüksek belirlenmiştir. Bu değer bölgenin organik karbon bakımından ileri derecede kirli olduğunun bir göstergesidir. İstasyon ortalamalarına göre Hasırcılar istasyonunda TOK düzeyi 13.16 mg/L değeri ile diğer istasyonlardan oldukça yüksektir. Baraj suyunda bütün istasyon ve dönemler içinde belirlenebilen en yüksek fosfat değeri (lm aralığında belirlenebilen tek değer) yine Hasırcılar istasyonunda Eylül 2005’de belirlenmiştir. Bu değer II. sınıf su seviyesinin üzerinde bir değerdir. Bütün bu değerler bu bölgede ötrifikasyon riskinin diğer istasyonlardan daha yüksek olduğu fikrini destekler niteliktedir. Daha önce yapılan çalışma sonuçlarına benzer bulguların elde edilmiş olması, kirlilik düzeyinde önemli bir azalma olmadığını göstermektedir [21]. Bu bulgular baraj gölüne organize sanayi kaynaklı kirleticilerin verilmeye devam ettiğini düşündürmektedir.

Baraj suyunun nitrit değerleri 9. dönemde bütün istasyonlarda, 1., 3. ve 8. dönemlerde Hasırcılar istasyonunda, 3. ve 7. dönemlerde Boran istasyonunda III. veya IV. sınıf su kalitesinde belirlenmiştir. Dönem ortalamalarına göre ise en yüksek nitrit düzeyi Nisan 2006’da belirlenmiştir (şekil 5.3). Nitrit, azotlu atıklar ve/veya nitrifikasyon ve denitrifikasyon gibi bakteriyel süreçlerindeki dengesizliğin bir sonucu olarak kıyı sularında biriken yüksek oranda reaktif bir kimyasaldır. Shailaja vd. [167] tarafından yapılan bir çalışmada PAH içeren atık ortamına nitrit eklendiğinde *Oreochromis mossambicus* balık türünde EROD aktivitesi ve safra metabolit düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. Hasırcılar istasyonunda nitrit düzeyinin yüksek oluşu baraj gölüne halen sanayi kaynaklı atıkların gizli olarak deşarj edilmeye devam ettiğini akla getirmektedir. Diğer kirleticiler ve özellikle Pb değerinin yüksek düzeyde oluşu ile birlikte değerlendirildiğinde, bu iddianın göz ardı edilmemesi gerektiği düşünülebilir.

Baraj suyunun toksik ve/veya teratojenik olup olmadığını belirlemek için yapılan FETAX alışması sonuçlarına göre, su örneklerinin toksik ve teratojenik olmadığı söylenebilir. Bu alışma kapsamında yapılması dşnlen ve su örneklerinin toksisitesinin biyoluminesent bakteriler kullanılarak belirlenmesini amaçlayan çalışma doğrudan *in vivo* etkiyi belirlemeye yönelik FETAX çalışmasında yeterli bulgu elde edilmesi ve duyarlı FETAX testinin sonuçları ile suyun teratojenik etkisinin saptanmadığı düşüncesinden hareketle yapılmamıştır.



Şekil 5.3. Karakaya Baraj Gölünden alınan su örneklerinin nitrit değerlerinin istasyon ve dönem ortalamaları

5.2. Biyobelirteç Değerleri ile İlgili Değerlendirmeler

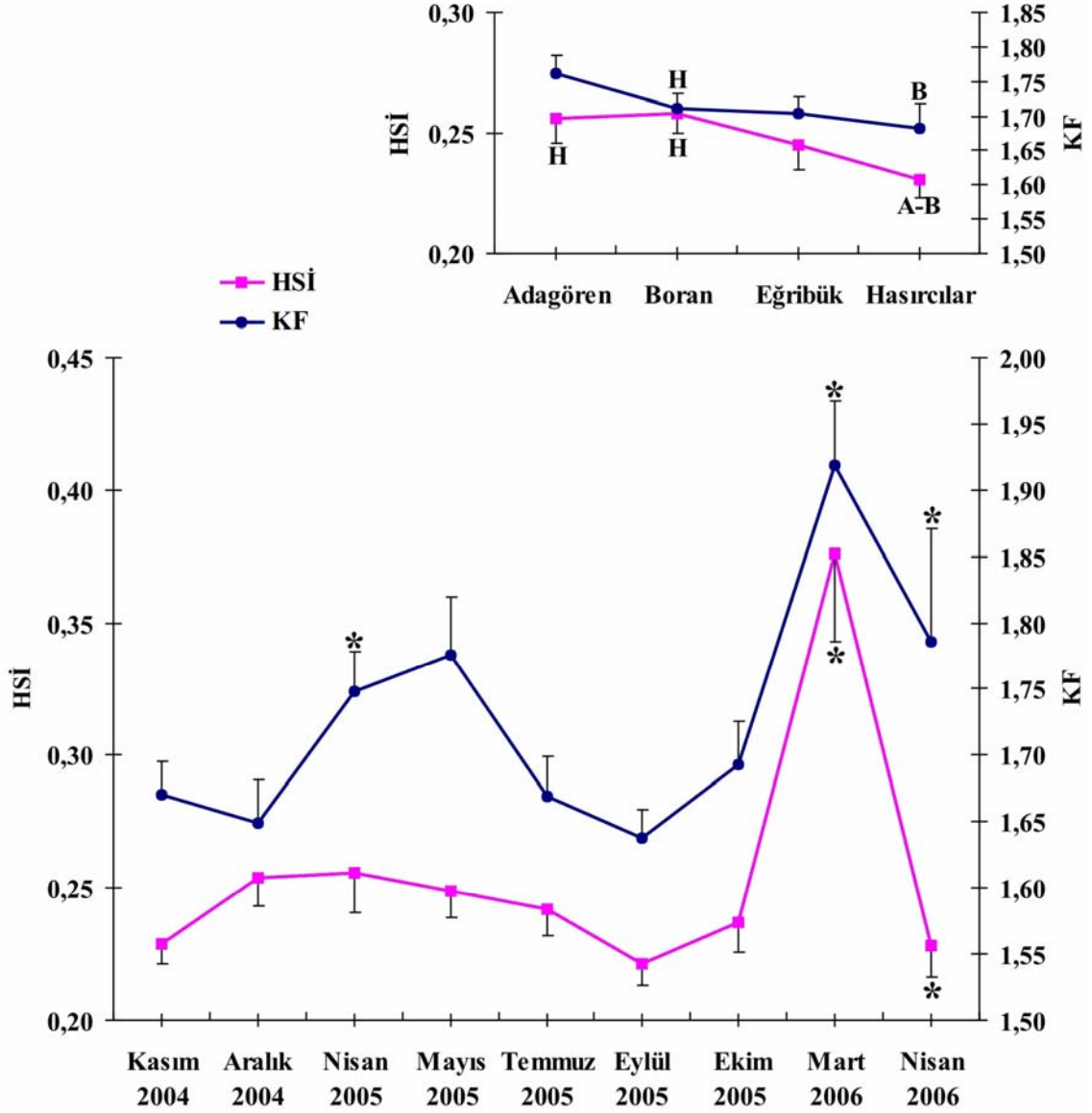
Biyobelirteç bulguları değerlendirilirken örnek toplanan istasyon ve dönem sayısının fazlalığı nedeniyle, tek tek dönemlerin ve istasyonların karşılaştırılmasında yaşanacak karmaşıklığın giderilmesi için bazı değerlendirmeler dönem ve istasyon ortalamaları dikkate alınarak yapılmıştır. Bu çalışmada yaş ve büyüklükten kaynaklanacak farklılıkların yaratacağı sorunların giderilmesi için, eşeyssel olgunluğa erişmiş (2 + yaş) balıklar tercih edilmiştir. Ancak, bazı dönem ve istasyonlarda örnekleme sayısının azlığı nedeniyle, fizyolojik parametreler ve diğer biyobelirteçler (VTG hariç) eşey ayırımı yapılmaksızın değerlendirilmiştir.

Ülkemizde yürütülen çeşitli çalışmalar incelendiğinde, sazan balıklarında üreme döneminin bölgesel olarak farklılık gösterdiği görülmektedir. Örneğin Eğirdir, Akşehir ve Çavuşlu Göllerinde üreme döneminin Mayıs ayının ikinci yarısı ile Temmuz ayını, Tödürge Gölünde (Sivas) Haziran ayından Ağustos ayına kadar olan zaman aralığını,

Hirfanlı Baraj Gölü'nde (Kırşehir) Mayıs ayının sonlarından Temmuz ayının ikinci yarısına kadar olan dönemi, Çıldır Gölünde (Kars) ise Haziran başı ile Temmuz ayının sonuna kadar olan dönemi kapsadığı rapor edilmiştir [168-170]. Karakaya Baraj Gölünde üreme (yumurtlama) döneminin Nisan sonu ile Temmuz ayının ortaları arasında olduğu düşünülmektedir [171]. Ancak balıklarda iklim koşullarına bağlı olarak üreme dönemlerinde yıllara göre sapmalar görülebilmektedir.

Balıklarda HSI değeri yumurtlama döneminin başlaması ile birlikte azalmaktadır [172]. Kokokiris vd. [173] tarafından *Pagrus pagrus* balık türünde uzun süreli olarak, mevsimsel döngüde VTG düzeyi izlenmiş ve maksimum VTG düzeyinin yumurtlama döneminin başlangıcında veya yumurtlama döneminde ve en düşük VTG düzeyinin yumurtlama döneminin sonunda olduğu belirlenmiştir. Vitellogenesisin gerçekleştiği dönemde karaciğer aktivitesindeki artışa bağlı olarak HSI değeri artmaktadır. Çalışmamızda üreme öncesi dönem olarak değerlendirilen Mart 2006'da HSI değerinde artış görülmektedir. Takip eden dönem üremenin başladığı dönem olması itibarıyla HSI ve KF değerlerinde önemli azalış belirlenmiştir (Şekil 5.4). Ancak belirtilen azalışın Nisan-Eylül 2005 dönemleri aralığında olduğu gibi, üreme dönemi boyunca, kademeli bir şekilde olmaması, bu artış ve azalışın üreme dönemi ile ilişkili olmayabileceğini düşündürmektedir.

Aynı zamanda omurgalılarda HSI değerlerinin, organik bileşiklerin detoksifikasyonu için hepatik mikrozomal EROD aktivitesinin deneysel olarak indüklendiği çalışmalarda ve kimyasal kirleticiler (PAH gibi) ile kontamine olmuş sulara yaşayan balıklarda arttığı belirlenmiştir [136, 174]. Stephensen vd. [175] tarafından yapılan bir çalışmada, İzlanda'da uzun süreli kirliliğe maruz kalmış bir liman bölgesinden alınan ve safralarında yüksek miktarda PAH belirlenen *Myoxocephalus scorpius* türünün erkek bireylerinde HSI değerinin kontrol alanına göre önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Artan HSI değerleri kirleticilerin neden olduğu metabolik bozukluklar veya ksenobiyotik metabolizması enzimlerinin artan aktivitesi ile ilişkilendirilmektedir.



Şekil 5.4. Karakaya Baraj Gölünden alınan sazan balıklarında HSI ve KF değerlerinin istasyon ve dönem ortalamaları. *Ölçüm değeri bir önceki dönemle kıyaslandığında aradaki fark önemlidir ($p<0.05$). Grafikte kullanılan harfler istasyonların baş harfleri olup (A:Adagören, B:Boran, E:Eğribük, H:Hasırcılar), karşılaştırılan istasyonla aralarındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$)

Çalışmamızda HSI ve KF değerinin önemli derecede yükseldiği Mart 2006'da plazma transaminaz ve LDH aktivitelerinin de artması, buna karşın beyin AChE aktivitesinin bu dönemde en düşük düzeye inmesi canlı-ksenobiyotik madde etkileşimini destekler niteliktedir. Mart 2006'nın yanı sıra, Nisan ve Mayıs 2005 dönemlerinde de KF değerinin yükseldiği gözlenmiştir. Bu artışın, balıkların üreme dönemi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Üreme döneminde KF ve HSI değerinin

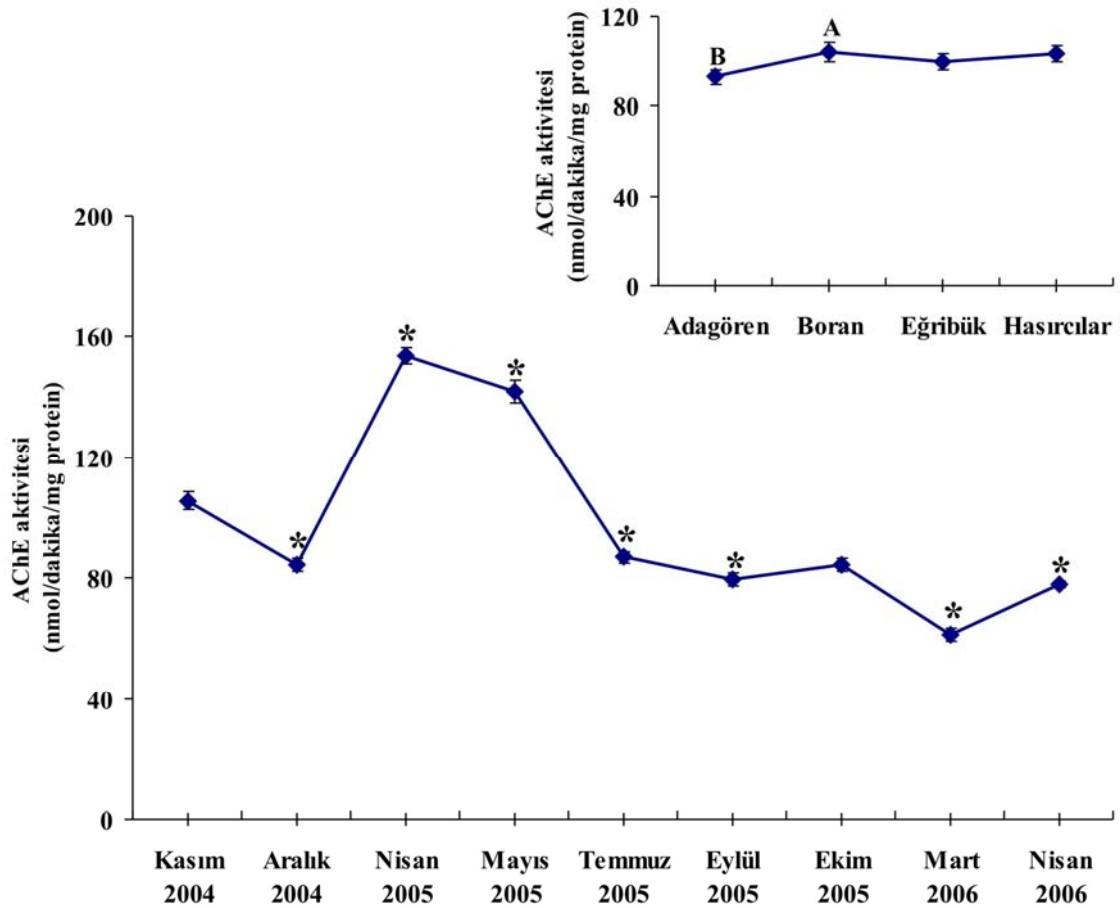
yükseldiği literatür verileri ile desteklenmekte [115] ve bulgularımızı da desteklemektedir.

İstasyon ortalamalarına göre hem HSİ değeri hem de KF değeri Hasırcılar istasyonunda diğer istasyonlardan daha düşük bulunmuştur. Bu değerler Karakaya Baraj Gölünde, Özmen vd. [21] tarafından daha önce yapılan çalışmada elde edilen veriler ile benzerlik göstermektedir. Yine belirtilen çalışmada dört istasyonun HSİ ve KF değerleri ortalaması aynı yaşlarda balık örnekleri için sırasıyla 1.794 ve 0.179 iken, çalışmamızda 1.715 ve 0.248 olarak belirlenmiştir. HSİ açısından iki çalışma arasında büyük bir değişim gözlenmezken, KF değerinin her iki çalışma arasında farklılık gösterdiği gözlenmektedir. Verilerden hareketle iki çalışmanın yapıldığı dönemler arasında balıkların beslenmelerinde meydana gelmiş bir değişimin bu duruma neden olabileceği söylenebilir.

AChE aktivitesinin OP ve karbamat bileşikler tarafından inhibe edildiği bilinmektedir. Ancak Romani vd. [176]'e göre uzun süreli subletal Cu konsantrasyonuna maruz bırakılan *Sparus auratus*'un beyin dokusunda, Cu birikimi gerçekleşmediği halde, beyin AChE aktivitesi önemli düzeyde artmıştır. Ayrıca üreme aktivitesi ile ilgili fizyolojik değişimlerin AChE aktivitesini arttırdığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir [177]. Çalışmamızda üreme dönemi olarak değerlendirilen Nisan, Mayıs 2005 dönemlerinde beyin AChE aktivitesi, istasyonların hepsinde, diğer dönemlere oranla önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (Şekil 5.5). Baraj gölünü çevreleyen geniş arazilerde tarımsal amaçla yoğun olarak OP pestisitlerin kullanıldığı da dikkate alındığında, AChE aktivitesindeki artış, balıklarda mevsimsel ve üremeye bağlı biyolojik davranış değişikliklerinin bir sonucu olarak ortaya çıkmış olabilir. AChE aktivitesinin özellikle Boran ve Hasırcılar istasyonlarında dönemler arasında büyük dalgalanmalar gösterdiği görülmektedir. Bu da belirtilen istasyonların su kalitesinin çevresel suların etkisine bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini düşündürmektedir.

Midye ve balıklar üzerinde yapılan, su sıcaklığının ve mevsimsel döngünün AChE aktivitesi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği çalışmalarda, su sıcaklığı ve AChE aktivitesi arasında ileri düzeyde bir uyumun olduğu iddia edilmektedir [172, 178-180]. Poiklioterm canlılarda çoğu enzimatik aktiviteler çevre sıcaklığı ile değişir. Ancak AChE aktivitesindeki değişimler sadece çevre sıcaklığına bağlı olmayıp, fizyolojik değişimler de aktivite üzerinde etkilidir [181]. Çalışmamızda Mart 2006'da AChE aktivitesi bütün istasyonlarda en düşük düzeyde belirlendi. Bu dönemde su sıcaklığı da en düşük seviyededir. Ancak diğer dönemlerde su sıcaklığı ile AChE aktivitesi arasında

doğrusal bir ilişkinin olmaması ve Mart döneminde diğer biyobelirteç parametrelerde de istatistiksel açıdan önemli sapmaların varlığı, bu dönemin kirlilik, özellikle de OP ya da diğer pestisitlere bağlı bir kirlenme açısından önemli olabileceğini akla getirmektedir. Yaz ayları sonunda ve erken bahar aylarında AChE aktivitesinin inhibisyonu, ortamda kirlenme konsantrasyonunun mevsimsel olarak artışı ile de ilgili olabilir.

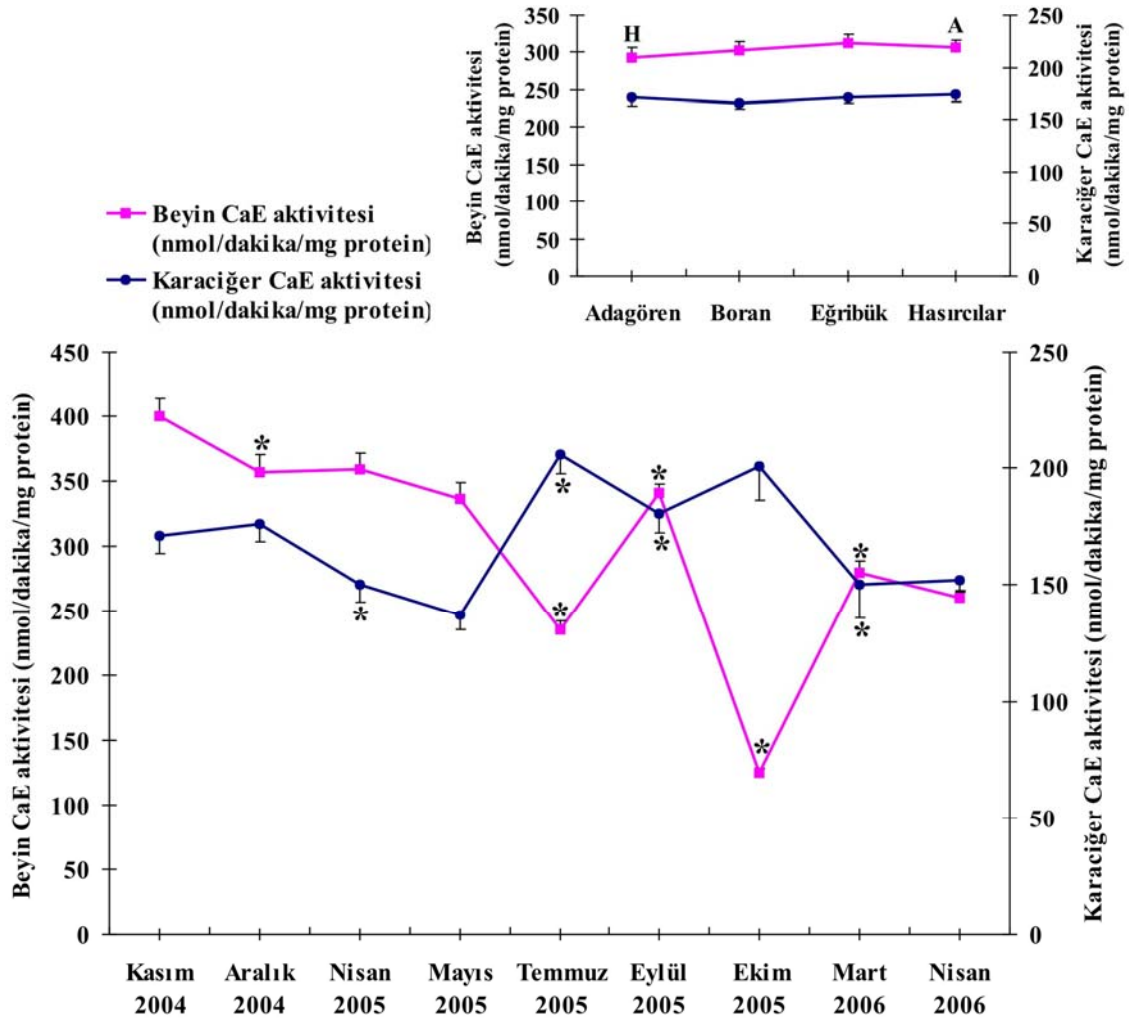


Şekil 5.5. Karakaya Baraj Gölünden alınan sazan balıklarında AChE aktivitesinin istasyon ve dönem ortalamaları. *Ölçüm değeri bir önceki dönemle kıyaslandığında aradaki fark önemlidir (p<0.05). Grafikte kullanılan harfler istasyonların baş harfleri olup (A:Adagören, B:Boran, E:Eğribük, H:Hasırcılar), karşılaştırılan istasyonla aralarındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05)

Balıkların karaciğer CaE aktivitesi OP bileşiklerce AChE'den daha yüksek affinite ile fosforillenmektedir ve böylece detoksifikasyonda önemli bir rol almaktadır. Bir OP bileşik olan monokrotofos'un subletal konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Sciaenops ocellatus*'un beyin AChE ve karaciğer CaE aktivitesinde önemli derecede azalış belirlenmiştir. Ancak inhibisyon oranlarına bakıldığında CaE inhibisyonunun daha yüksek olduğu ve bunun AChE inhibisyonunu azalttığı ileri sürülmüştür [83].

Çalışmamızda karaciğer CaE aktivitesinde istasyonlar arasında bir farklılık bulunamamıştır. Yine dönemler arasında da AChE aktivitesi ile kıyaslandığında önemli sayılabilecek bir değişim söz konusu değildir. Adagören, Eğribük ve Hasırcılar istasyonlarında Mayıs 2005’de, Nisan 2005 dönemine göre istatistiksel açıdan önemli bir artış gerçekleşmiştir ($p < 0.05$). Bu sonuçlardan hareketle yukarıda belirtildiği şekliyle AChE ve CaE arasında bir ilişkinin olduğunu söylemek güç olacaktır. Ayrıca istasyonlar arasında yapılan karşılaştırmalarda önemli düzeyde fark belirlenmemesi bu enzimin dönemsel değişimlerden kısmen etkilendiğini, ancak bölgesel farklılıkları yansıtmaması nedeniyle, Karakaya Baraj Gölünde biyolojik izleme çalışmaları için uygun bir belirteç olarak değerlendirilemeyeceği göstermektedir.

Çevresel kirleticilerin olumsuz etkilerini değerlendirmek için farklı dokulardaki CaE düzeyleri belirlenmiştir. Farklı dokularda aynı enzimin çalışılması hem etkilenen organ veya dokunun belirlenmesi açısından hem de doku veya organların ksenobiyotiklere verdikleri tepkinin belirlenmesi açısından önemli ipuçları sağlayabilir. Bu açıdan değerlere bakıldığında, CaE aktivitesinde beyin ve karaciğer organları arasında farklılık görülmektedir (Şekil 5.6). CaE aktivitesinin organlar arasında farklılık göstermesi, enzimin farklı organlarda farklı izozimler içerdiği ve bu izozimlerin farklı metabolik süreçlerde yer aldığını akla getirmektedir. Beyin CaE aktivitesinde de Karaciğer CaE aktivitesine benzer şekilde istasyonlar arasında önemli bir farklılık bulunamamıştır. Ancak farklı olarak beyin CaE aktivitesinde Temmuz 2005-Mart 2006 dönemleri arasındaki dört dönemde, önceki dönemle kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli düzeyde bir farklılığın olduğu bir dalgalanma görülmektedir. Belirtilen dönemlerde karaciğer CaE aktivitesinde de istatistiksel açıdan önemli olmasa da tersine bir dalgalanma söz konusudur. Ancak bu verilerden hareketle CaE aktivitesinde kirlilik ilişkili bir değişimin olduğunu söylemek güçtür.

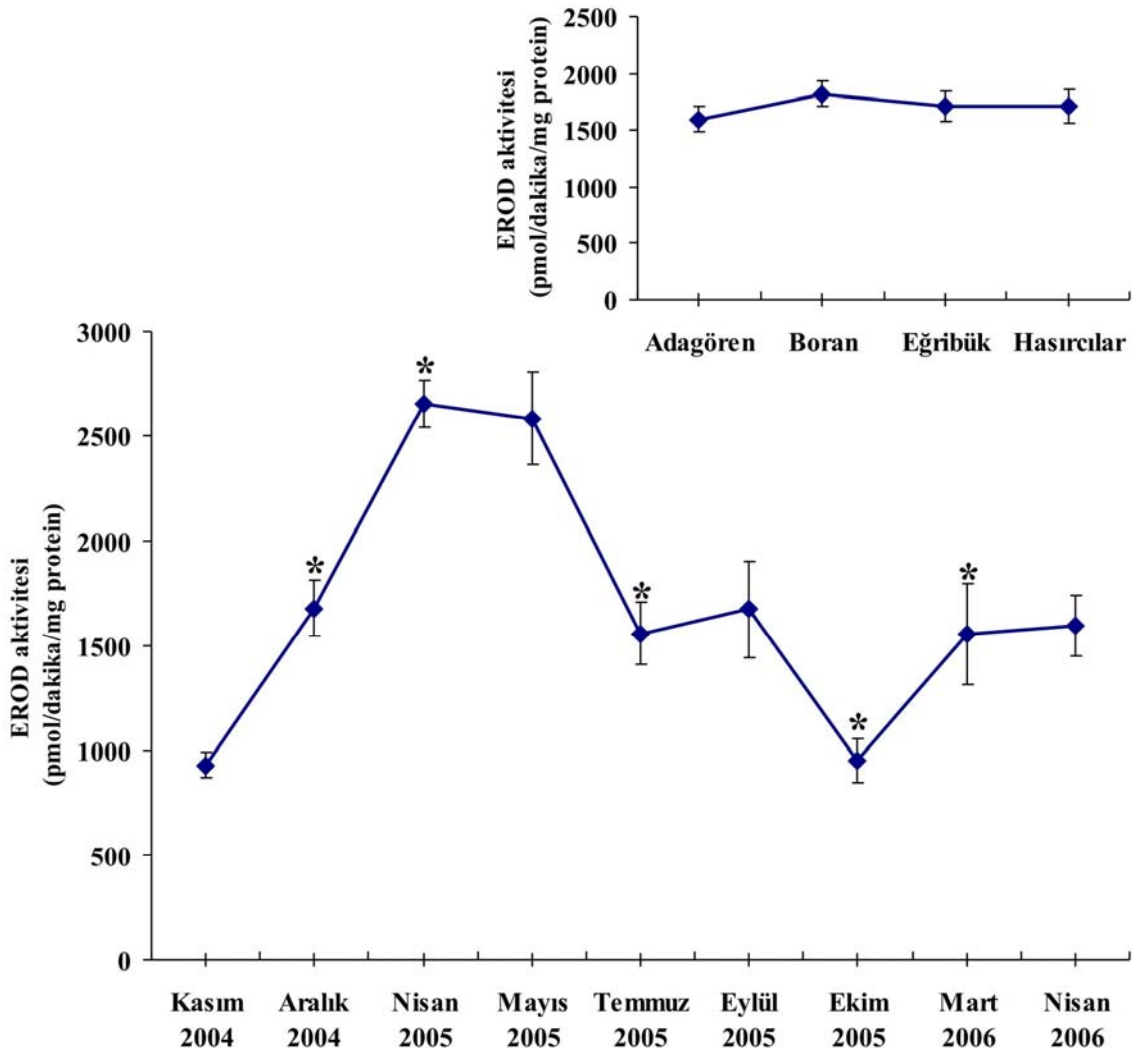


Şekil 5.6. Karakaya Baraj Gölünden alınan sazan balıklarında karaciğer ve beyin CaE aktivitelerinin istasyon ve dönem ortalamaları. *Ölçüm değeri bir önceki dönemle kıyaslandığında aradaki fark önemlidir ($p<0.05$). Grafikte kullanılan harfler istasyonların baş harfleri olup (A:Adagören, B:Boran, E:Eğribük, H:Hasırcılar), karşılaştırılan istasyonla aralarındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$)

Son yıllarda çevresel kirlenmeler ile ilişkili olarak organizmada sağlık durumunun belirlenmesinde EROD anahtar belirteç olarak kabul edilmektedir. Hepatik EROD aktivitesinin ksenobiyotikler, sıcaklık, eşey, eşeyssel gelişim, hormonlar, beslenme ve sağlık durumu gibi çok sayıda faktörden etkilendiği bildirilmiştir [62]. Ancak EROD aktivitesi ile ilgili birkaç çalışmada dönemsel sıcaklık değişimi ile EROD aktivitesi arasında bir ilişki kurulamamıştır [172, 182]. Çalışmamızda da EROD aktivitesinde eşeyler arasında istatistiksel açıdan bir fark ve sıcaklık ilişkili bir değişim bulunamamıştır. Ancak Ronisz vd. [127] tarafından yapılan bir çalışmada bazı dönemlerde yoğun alg üremesi sonrası yayılan toksinlerin balıklarda EROD indüksiyonuna neden olabileceği ileri sürülmüştür. Çalışmamızda Nisan ve Mayıs 2005

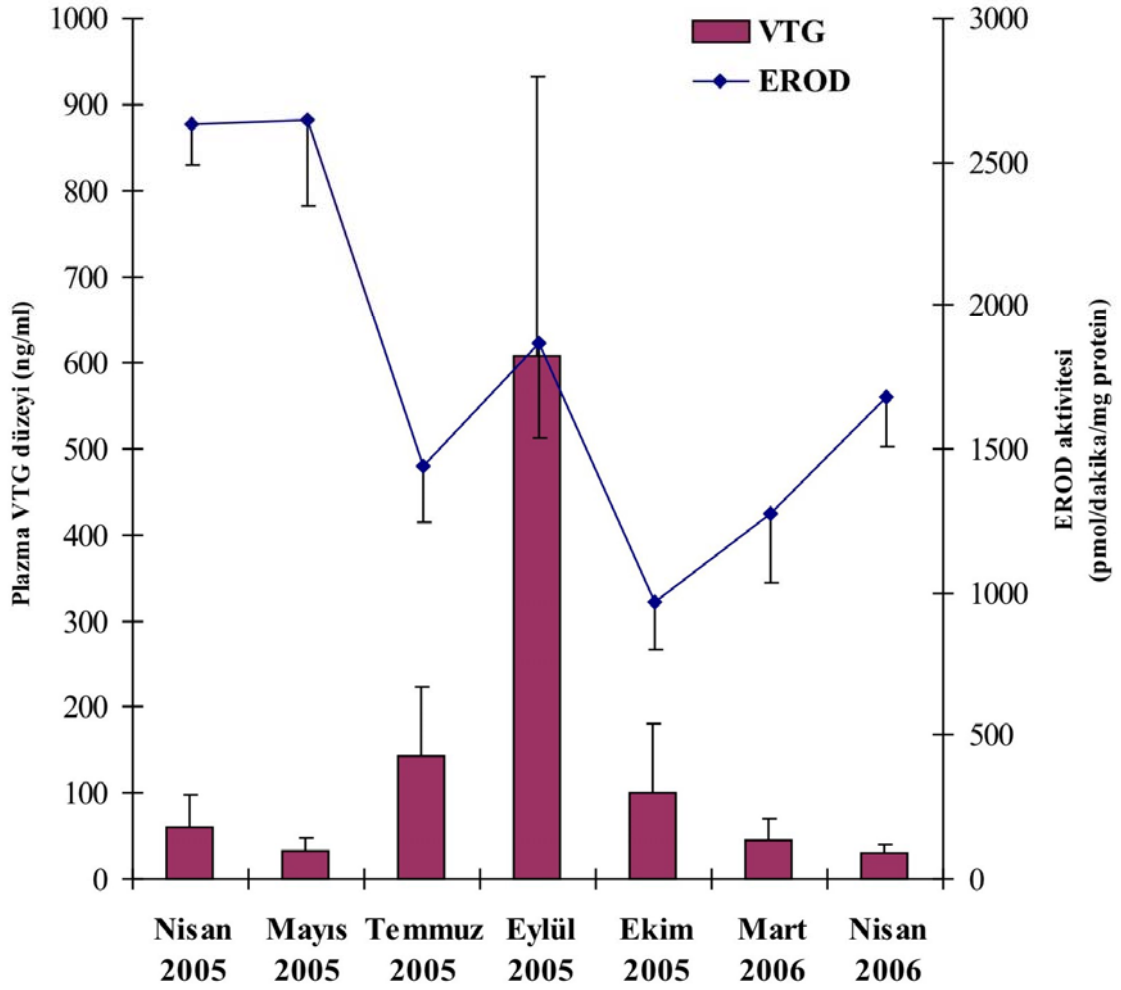
dönemlerinde ani sıcaklık artışı, yoğun alg üremesine ve suda toksik madde artışına neden olarak belirtilen dönemlerde EROD aktivitesi artışına neden olmuş olabilir (Şekil 5.7).

İstasyon ortalamaları dikkate alındığında, EROD aktivitesinde istasyonlar arasında istatistiksel bir farklılık bulunamamıştır. Dönem ortalamaları karşılaştırıldığında ise Aralık 2004, Nisan 2005 ve Mart 2006 dönemlerinde artış gözlenirken, Temmuz-Ekim 2005 dönemlerinde bir önceki döneme oranla bir azalma dikkati çekmektedir. Bu görece artışın özellikle bahar aylarında gözlenmesinin, tarımsal aktivitelere bağlı kirletici unsurlar ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. EROD aktivitesindeki artış birçok çalışmada ksenobiyotik indüksiyonu ile ilişkilendirilmiştir [2, 55].



Şekil 5.7. Karakaya Baraj Gölünden alınan sazan balıklarında karaciğer mikrozomal EROD aktivitelerinin istasyon ve dönem ortalamaları. *Ölçüm değeri bir önceki dönemle kıyaslandığında aradaki fark önemlidir ($p < 0.05$)

Balıklarda üreme öncesi ve üreme dönemlerinde östrojen ve VTG düzeyinin artması ve EROD aktivitesinin azalması beklenmektedir. Ayrıca nonilfenol ve alkilfenoller gibi östrojenik bileşikler ve östrojen gibi maddelerin tahminen ER ve AhR arasındaki çapraz bir etkileşim nedeniyle balık CYP1A ifadesini engellediğine inanılmaktadır [120, 183, 184]. Ancak Sturve vd. [185] tarafından yapılan bir çalışmada yüksek miktarda PAH içeren petrol ve alkilfenol karışımına maruz bırakılan *Gadus morhua*'da EROD aktivitesi önemli düzeyde artmıştır. Bu açıdan bakıldığında çalışmamızda özellikle Nisan, Mayıs 2005 ayları üreme dönemi olsa da, EROD aktivitesinin bu aylardaki yüksekliği, baraj suyunun bu aylarda diğer dönemlere oranla önemli düzeyde ksenobiyotik içerdiğini ifade edebilir. Ayrıca Eylül 2005 döneminde erkek bireylerde VTG düzeyi en üst seviyede iken EROD aktivitesindeki kısmi artış biyobelirteç yanıtların, MFO indükleyici ve östrojenik kirletici konsantrasyonuna birlikte maruz kalma nedeniyle belirsizleştiği şeklinde yorumlanabilir (Şekil 5.8). Dişi balıklarda ise EROD aktivitesi ve VTG düzeyi arasında diğer çalışmalarda belirtildiği gibi ters bir orantı bulunamamıştır.



Şekil 5.8. Karakaya Baraj Gölünden alınan erkek sazan balıklarında karaciğer mikrozomal EROD aktivitesi ve plazma VTG değerlerinin istasyon ve dönem ortalamaları

Biyotransformasyon indeksi (Bİ) ve EROD aktivitesinde azalma, balıklarda kirleticilerin metabolize edilerek uzaklaştırıldığı şeklinde ifade edilmektedir [138]. Çalışmamızda Bİ ve EROD aktivitesinde artış ve azalış büyük oranda paralellik göstermektedir; sadece Nisan 2004’de GST aktivitesindeki artışa bağlı olarak Bİ değerinde bir düşüş gözlenmiştir.

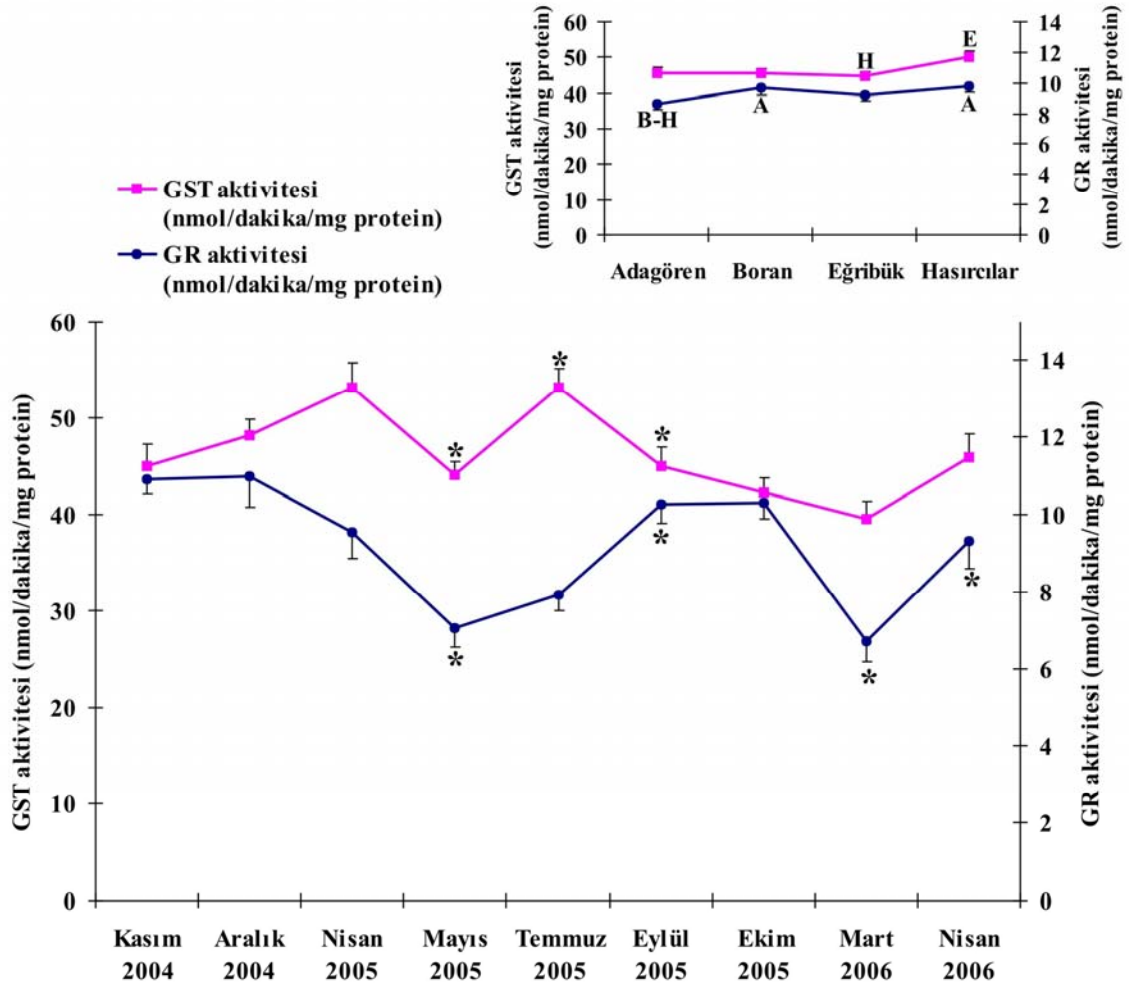
Ksenobiyotik metabolizmasında yer alan GST’nin ksenobiyotiklere maruz kalmanın bir biyobelirteci olarak kullanılabileceği, birçok laboratuvar ve arazi çalışmasında önceden gösterilmiştir. GST aktivitesinin artışı, kirleticilerin yarattığı strese organizmanın gösterdiği adaptasyon olarak değerlendirilmektedir [186]. Örneğin, tarımda yabancı otların kontrolü için kullanılan parakuat herbisitine maruz bırakılan *Oreochromis niloticus* balık türünde GST aktivitesi her iki eşyede de artmaktadır [187].

Benzer şekilde PAH ve PCB gibi kirleticilerin GST aktivitesini indüklediği bilinmektedir [68, 133, 188]. Ancak kirleticilerin GST indüksiyonuna neden olduğu iddiası kesin bir durum değildir. Kimyasala maruz kalma sonucu enzim aktivitesinin değişmediği veya aktivitenin inhibe olduğu çalışmalar da bildirilmiştir. Birkaç çalışmada alabalık, *Dicentrarchus labrax*, *Diplodus annularis*, *Lepomis macrochirus* türlerinde PCDD, pestisitler veya PAH'lara maruz kalmanın GST aktivitesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir [2]. Yine parakuat herbisitinin GST aktivitesini arttırdığı bildirildiği halde, Martínez-Lara vd. [189] tarafından yapılan bir çalışmada parakuata maruz bırakılan *Sparus aurata*'da enzim aktivitesi azalmış, bu inhibisyon kirleticinin yarattığı ROS nedeniyle gerçekleşen inaktivasyon ile ilişkilendirilmiştir.

Çalışmamızda Hasırcılar istasyonu dışındaki istasyonlarda dönemler arasında GST aktivitesi açısından bir dalgalanma söz konusu değildir. Bu istasyonda Nisan ve Temmuz 2005 dönemlerinde bir önceki döneme kıyasla GST aktivitesinde bir artış gözlenmektedir ($p < 0.05$) (Şekil 5.9). Ayrıca, GST için istasyon ortalamaları değerlendirildiğinde, enzim aktivitesinin uzun süre Malatya sanayi atık suyunun artırılmadan verildiği Hasırcılar istasyonunda diğer istasyonlara oranla yüksek olduğu, Eğribük istasyonundan yüksekliğin istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Ancak GST aktivitesi ile diğer biyobelirteç değerler ve suyun fiziko-kimyasal değerleri karşılaştırıldığında enzim aktivitesindeki değişimleri herhangi bir değere bağlamak mümkün görünmemektedir.

Balıklar maruz kaldıkları oksidatif stres koşullarına uyum sağlama eğilimindedirler. Bu nedenle kirlenmiş su sistemlerinde yüksek peroksidatif bileşikler, bu alanlarda bulunan balıklarda GR aktivitesinin artmasına yol açmaktadır. Değişik araştırmacılar tarafından yapılan çok sayıda çalışmada çeşitli kirleticiler (ör. PAH) ile kirlenmiş sularda yaşayan balıklarda karaciğer GR ve GST aktivitesinin önemli düzeyde arttığı belirlenmiştir [72, 175]. Çalışmamızda en düşük GR aktiviteleri Mayıs-Temmuz 2005 ve Mart 2006 dönemlerinde belirlenmiştir. Bu açıdan bakıldığında Kasım, Aralık 2004 ve Eylül, Ekim 2005 aylarında GR aktivitesinin artması, sonbahar ve kış mevsimi başlarında dönemseller olarak baraj su düzeyinin düşmesi ve bununla bağlantılı olarak sudaki kirletici konsantrasyonunun artmasına bağlanabilir (Şekil 5.9). GST'ye benzer şekilde istasyon ortalamaları dikkate alındığında en yüksek GR aktivitesi de Hasırcılar istasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca Adagören istasyonu ile karşılaştırıldığında, bu değer istatistiksel açıdan da önemlidir ($p < 0.05$). Hem GST hem de GR gibi iki

antioksidant enzimin benzer şekilde Hasırcılar istasyonunda yüksek olması yine bu bölgenin uzun süreli olarak kirleticiler ile maruz kalmasına bağlanabilir.



Şekil 5.9. Karakaya Baraj Gölünden alınan sazan balıklarında karaciğer GST ve GR aktivitelerinin istasyon ve dönem ortalamaları. *Ölçüm değeri bir önceki dönemle kıyaslandığında aradaki fark önemlidir ($p<0.05$). Grafikte kullanılan harfler istasyonların baş harfleri olup (A:Adagören, B:Boran, E:Eğribük, H:Hasırcılar), karşılaştırılan istasyonla aralarındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$)

Karaciğer LDH ve transaminaz (AST ve ALT) enzimleri hepatoksisite ve histopatolojik değişimlerin daha hassas ve daha kısa sürede değerlendirilmesinde kullanılabilen karaciğer özgül enzimleridir. Kirleticilere maruz kalma sonrası karaciğer tahribatı nedeniyle bu enzimlerin karaciğerdeki aktiviteleri düşerken, plazmada enzim aktivitelerinin arttığı bilinmektedir [190]. Ancak ksenobiyotiklerin etkileri nedeniyle gerçekleşen doku tahribatının bir sonucu olarak gerçekleşen hipoksik koşullarda, mitokondride oksidatif fosforilasyon engellendiği için ATP üretimi azalırken, karaciğer

LDH aktivitesinin arttığı belirlenmiştir [191]. Örneğin amonyak ($\text{NH}_3\text{-H}$) varlığında, doku oksijen düzeyinin azaldığı anoksik durumlarda; solunum metabolizmasının aerobikten aneorobiğe dönüştüğü ve glikoliz oranının ve LDH aktivitesinin arttığı bildirilmiştir [192]. Benzer şekilde transaminaz enzimlerin protein ile karbonhidrat metabolizması arasında bir bağlantı olarak işlev gördüğü bilinmektedir. Pestisitlere (ör. karbamat) maruz kalan balıklarda, stres nedeniyle karşılaşılan enerji ihtiyacının artması sonucu, glukoneogenezisin indüklendiği ve stres koşullarına adaptasyonu sağlamak amacıyla karaciğer, beyin ve kas dokularındaki transaminaz aktivitesinin arttığı bildirilmiştir [193].

Sonuç olarak çeşitli stres koşullarına maruz kalan veya çeşitli maddelere maruz bırakılan organizmaların LDH ve transaminaz aktivitelerinin farklı davranabildiği görülmektedir. Stres koşullarında ya enerji ihtiyacı nedeniyle enzim aktiviteleri artmakta ya da ksenobiyotik madde enzim inhibisyonuna neden olabilmektedir. Ayrıca stres koşullarına maruz kalan organizmalarda karaciğer tahribatı nedeniyle karaciğer dokusundaki enzim aktiviteleri azalırken, plazmada aynı enzimlerin aktiviteleri artabilmektedir.

Çalışmamızda, genel olarak karaciğer LDH ve AST'nin benzer seyirler gösterdiği görülmektedir. Bu da iki enzimin benzeri süreçlerden etkilendiğini göstermektedir. Her iki enzimin karaciğerdeki aktivitesi Mart 2006'da en düşük seviyededir. Bu dönemde plazma AST aktivitesi Boran ve Eğribük istasyonlarında en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Adagören ve Boran istasyonlarında ise Nisan 2006'da plazma AST aktivitesi en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Belirtilen dönemlerde karaciğer LDH ve AST aktivitelerinin düşük olması, aynı enzimlerin plazma aktivitelerinin ise genel olarak yüksekliği balıkların hepatotoksik bir faktör veya faktörlerle etkileştiğini düşündürmektedir. Çeşitli biyobelirteç (AChE, HSI, KF) ve bazı su fiziko-kimyasal değerlerinin (Pb, Nitrit) bu dönemlerde izlediği seyir bu düşünceyi destekler niteliktedir. Mayıs 2005 ve Mart 2006 dönemlerinde plazma ALT düzeyi önemli oranda yükselirken, bu dönemlerde karaciğer ALT aktivitesi nispeten düşüktür. Yine ALT'ye benzer şekilde plazma AST aktivitesi Mart 2006 döneminde en yüksek değerde bulunurken, bu dönemde karaciğer AST düzeyi en düşük seviyededir. Her iki transaminaz aktivitesi de Nisan 2006 döneminde plazmada azalmakta karaciğerde ise görece artmaktadır.

Balıklarda östrojenlere en hassas yanıtlardan biri, östrojenik kimyasallara maruz kalmanın bir biyobelirteci olarak kullanılan VTG'nin indüksiyonudur. Eşey hormon

dengeindeki değişimlere bağlı olarak dişilerde anormal VTG düzeyleri, potansiyel üreme bozukluklarının belirlenmesinde güvenilir bir biyobelirteç olarak kullanılabilir.

Çalışmamızda Adagören ve Eğribük istasyonlarında yakalanan balıklarda, diğer iki istasyondakilere oranla VTG düzeyi yüksek belirlenmiştir (sırasıyla 558.46 ve 736.80 ng/ml). Erkek bireylerde plazma VTG düzeyinin kısmi yüksekliği Karakaya Baraj Gölünde zayıf da olsa endokrin bozucu kimyasal etkisini gösterebilir. Yine erkek bireylerde VTG düzeyinde Eylül 2005'te diğer dönemlere oranla önemli düzeyde artış göstermiştir (606.43 ng/ml). Bu durum, baraj gölünde su miktarındaki mevsimsel azalmaya bağlı östrojenik kirletici konsantrasyonu artışına ya da dönemsel bir kirlilik artışına bağlanabilir. Ancak endokrin bozucu etkinin varlığı iddia edilse de, ileri düzeyde kimyasal analizler yapılmaksızın, sadece elimizdeki verilere bağlı kalarak kaynağın türünü saptamak olanaksızdır.

Bu çalışmada Karakaya Baraj Gölünde yaşayan erişkin dişi balıklarda plazma VTG düzeyi 1 mg/ml düzeyinde ulaşmaktadır. Ancak üreme dönemi olarak kabul edilen Mayıs 2005'de dişi balıklarda VTG düzeyi (0.357 ± 0.14 mg/L) Nisan ve Temmuz 2005'e göre oldukça düşük belirlenmiştir. Bu ayda alınan balıkların plazma VTG düzeyindeki azalış dişi balıklarda üreme baskılayıcı bir etkinin varlığına işaret olarak kabul edilebilir. Ayrıca yumurtlama öncesi dönemde Eğribük istasyonunda ve yumurtlama sonrası dönemde ise Hasırcılar istasyonunda VTG düzeyi (sırasıyla 2.919 ± 2.0 ve 2.637 ± 1.4 mg/ml) üreme döneminden yüksek belirlenmiştir. Bu durum sazan balıklarının üreme dönemlerinin yakın bölgelerde dahi değişiklik gösterebileceğini göstermektedir.

Karakaya Baraj Gölünde, endokrin bozucu etkiye ve toksik etkiye neden olabilecek kimyasalların evsel atıklardan, endüstriyel kimyasallardan veya tarımsal pestisitlerden kaynaklanmış olabileceği düşünölmektedir. Ancak tek bir kimyasalın yanı sıra bu tür bir etkiye kimyasal karışımlar da neden olabilir. Çalışmamızda üreme sonrası dönem olarak kabul edilen Eylül, Ekim 2005 aylarında Eğribük istasyonundan yakalanan erkek balıklarda plazma VTG düzeyinin yüksek belirlenmesi, bu bölgenin Malatya Şehri evsel ve endüstriyel atık sularının verildiği noktalardan akış yönü açısından farklı bir mevkide bulunması nedeniyle, tarımsal kirlilikle ilişkilendirilebilir. Barajı çevreleyen bölgede tarımsal amaçlı yoğun gübreleme ve ilaçlama çalışmaları sonucu baraja giren kimyasallar suda endokrin bozucu etkiye yol açmış olabilir. Tarımsal amaçlı kullanılan OC pestisitlerin balıklar üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, tarım arazilerinin yakınındaki nehirden yakalanan erkek

balıkların VTG düzeyinin sudaki OC bileşiklerle paralellik gösterdiği belirlenmiştir [194].

Endüstriyel alanda kullanılan alkilfenol polietoksilatlar ve bunların metabolitleri olan nonilfenol ve oktilfenol bileşiklerinin balıklarda zayıf östrojenik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir [195]. Ayrıca evsel atıklarda var olan doğal ve sentetik steroidlerin önemli endokrin bozucular olduğu ve bunların bir kısmının atık arıtım sistemlerinde tam olarak giderilemediği rapor edilmiştir. İtalya’da çok sayıda atık arıtım sistemi üzerinde yapılan bir çalışmada, aktif çamur muamelesi sonrası östriol (E₃-%95), östradiol (E₂-%87) ve etinilöstradiol (EE₂-%85) etkili bir şekilde uzaklaştırılmışken, östronun (E₁-%61) etkili bir şekilde uzaklaştırılmadığı rapor edilmiştir [196, 197]. Kanalizasyon atıklarında bulunan bu insan kaynaklı doğal ve sentetik atıklar glukoronit ya da sulfonit konjugatı olarak vücuttan atılmaktadır. Atık arıtım tesislerinde ve sucül çevrede E₂ ve 17- α -etinilöstradiol gibi serbest steroidal östrojenlerin belirlenmesinin, arıtım sürecinde konjuge östrojenlerin bakteriler tarafından serbest ve aktif forma dekonjugasyonu nedeniyle olduğu ileri sürülmüştür [195].

Malatya Şehir kanalizasyon suları 2005’e kadar Karakaya Baraj Gölüne direk olarak verilmiş iken, 2005’ten bu yana ise arıtım sisteminden geçirilen suların baraja verildiği iddia edilmektedir. Yukarıda belirtildiği şekilde doğrudan atık suyun verilmesi önemli bir problem iken, atık arıtım sisteminden geçirilen suların baraja verilmesi de bu yöndeki problemi tam olarak gidermemektedir. Barajın Adagören istasyonu diğer istasyonlardan akış yönü açısından değerlendirildiğinde birikimin daha fazla olacağı bölge olarak düşünülmektedir. Bu nedenle hem evsel atıkların uzun süre verilmiş olduğu Boran ve sanayi atığının verilmiş olduğu Hasırcılar, hem de Fırat nehrini temsil eden Eğribük istasyonlarından gelen atık kimyasalların Adagören istasyonunda birikeceği düşünülebilir.

5. 3. Kontrol Çalışmaları ile İlgili Değerlendirmeler

Çok sayıda çevresel bileşiğin, östrojenik aktivite göstererek balıklar ve yabanıl hayatta üreme ve gelişim üzerine toksik etkilere neden olduğu bilinmektedir. Çeşitli kimyasalların östrojenik etkisi belirlenirken, E₂ uygulaması genellikle pozitif kontrol olarak kullanılmaktadır. Kontrol çalışmamızda hem E₂’nin erkek sazan balıklarında VTG indüksiyonu test edilmiş, hem de Sultansuyu Baraj Gölünden alınan balıkların

biyobelirteç değerleri ile Karakaya Baraj Gölünden alınan balıklarda belirlenen değerler karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Östrojenin balıklar üzerindeki etkisi uzun süredir çalışılmaktadır. Mills ve Chichester [45] EBK'lerin balıklar üzerindeki etkilerini çok sayıda laboratuvar ve alan çalışmasını dikkate alarak değerlendirmişlerdir. Bu çalışmaya göre, erişkin erkek sazanlar su içerisinde 1 µg/L E₂'ye maruz bırakılırsa, sperm üretimi gerçekleşmemekte ve gonadosomatik indeks (GSI) azalmaktadır [198]. Yine bu çalışmada yer alan ve Gimeno vd. [199]' göre erişkin olmayan ve genetik olarak erkek olan bireyler 50 ile 110 gün süre ile 9 ya da 23 µg/L E₂'ye maruz bırakıldıklarında, bütün bireylerin dişileştiği gözlenmiştir.

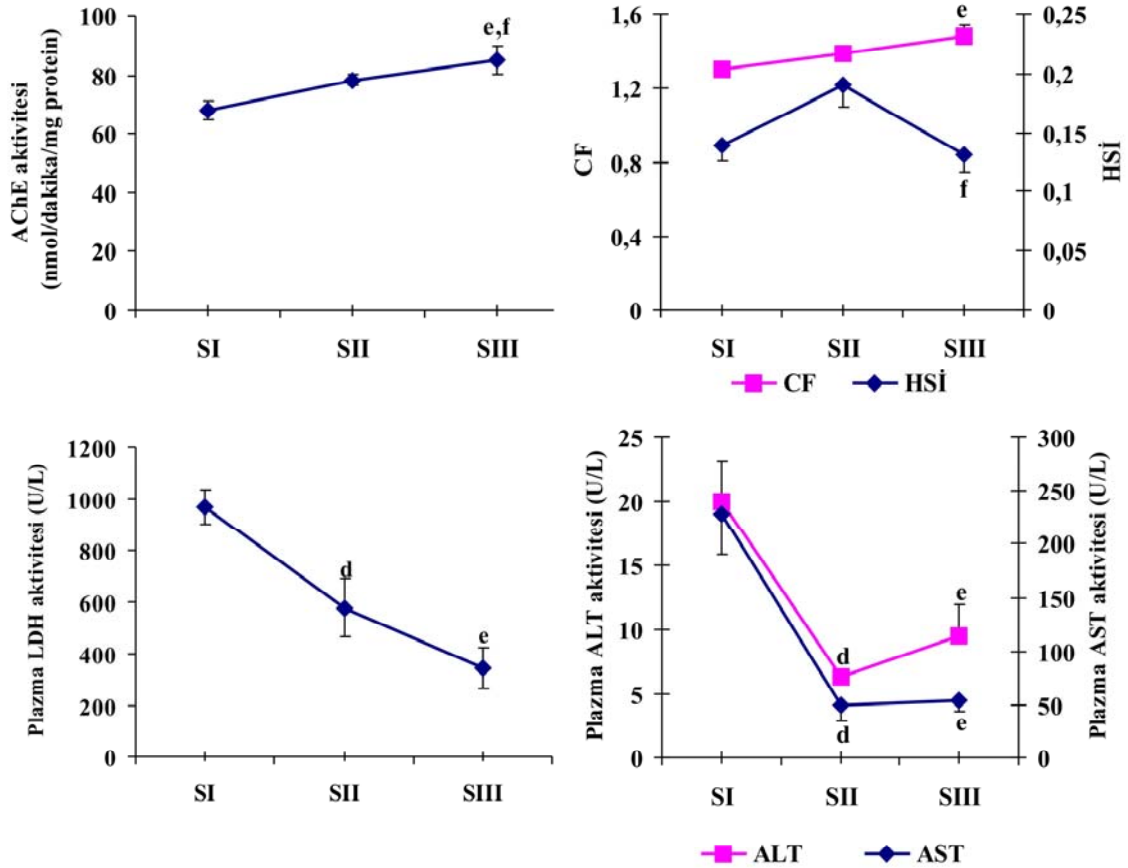
Östrojen ve östrojenik bileşiklerin balıklar üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği diğer bir çalışmada E₂'ye ve 4-nonilfenole maruz bırakılan *Micropterus salmoides* balık türünde karaciğer biyobelirteçlerinin değişimleri belirlenmiştir. Çalışmada ergin olmayan bireylere 5 ve 50 mg/kg olmak üzere iki farklı dozda nonilfenol uygulanmış, ayrıca bir üçüncü gruba 2 mg/kg E₂ enjekte edilmiştir. 2 gün sonunda E₂ uygulaması sonucu plazma VTG düzeyi 4.94 mg/ml'ye ulaşmıştır. Ayrıca bütün gruplarda VTG düzeyi kontrol gruplarından önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada GST aktivitesi E₂ uygulamasında görece yüksek olmakla birlikte, sadece 2 günlük uygulama sonunda ve sadece E₂ uygulamasında GST aktivitesi kontrolden önemli düzeyde yüksek bulunmuştur [200]. Buna karşın 0.1, 0.5, 2.5 ve 5 mg/kg E₂ uygulandıktan sonra 3., 7., 14. ve 28. günlerde GST ve EROD aktiviteleri belirlenen *Dicentrarchus labrax* türünde tam bir doz-yanıt ilişkisi olmamakla birlikte, yüksek dozlarda EROD aktivitesinin azaldığı ve 28. günde ise enzim aktivitesinin tekrar arttığı tespit edilmiştir [201].

Teles vd. [202] tarafından yapılan bir çalışmada, 4000 ng/L E₂'ye maruz bırakılan *Sparus aurata*'da 4., 8., 12. ve 16. saatlerde EROD, GST aktivitesi ile HSI ve diğer birkaç biyobelirtecin değişimi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada EROD aktivitesi 4., 8. ve 12. saatlerde önemli düzeyde azalmıştır. GST aktivitesi 8. ve 12. saatlerde yükselmiştir. Her iki enzimde de 16. saatte E₂'nin etkisinin azaldığı ileri sürülmüştür. 16. saatte HSI değeri kontrol grubundan önemli düzeyde yüksek belirlenmiştir.

Çalışmamızdaki E₂ uygulaması VTG indüksiyonuna yönelik olduğu için, belirtilen çalışmalardan daha düşük miktarda (400 ng/L) E₂ kullanılmıştır ve bu miktar erkek balıklarda VTG indüksiyonu için yeterli olmuştur (Şekil 4.4.). E₂ uygulaması sonrası EROD aktivitesinde görece bir yükselme, GST aktivitesinde görece bir azalma olmasına karşın, bu değişimler istatistiksel açıdan önemli değildir. Yapılan çalışmalar

ile karşılaştırıldığında çalışmamızda EROD ve GST indüksiyonu veya inhibisyonu gerçekleşmemiştir. Buna göre, düşük dozlarda ve kısa süreli E₂ uygulaması VTG indüksiyonuna yol açarken, biyotransformasyon enzimleri üzerinde etkili olmamıştır.

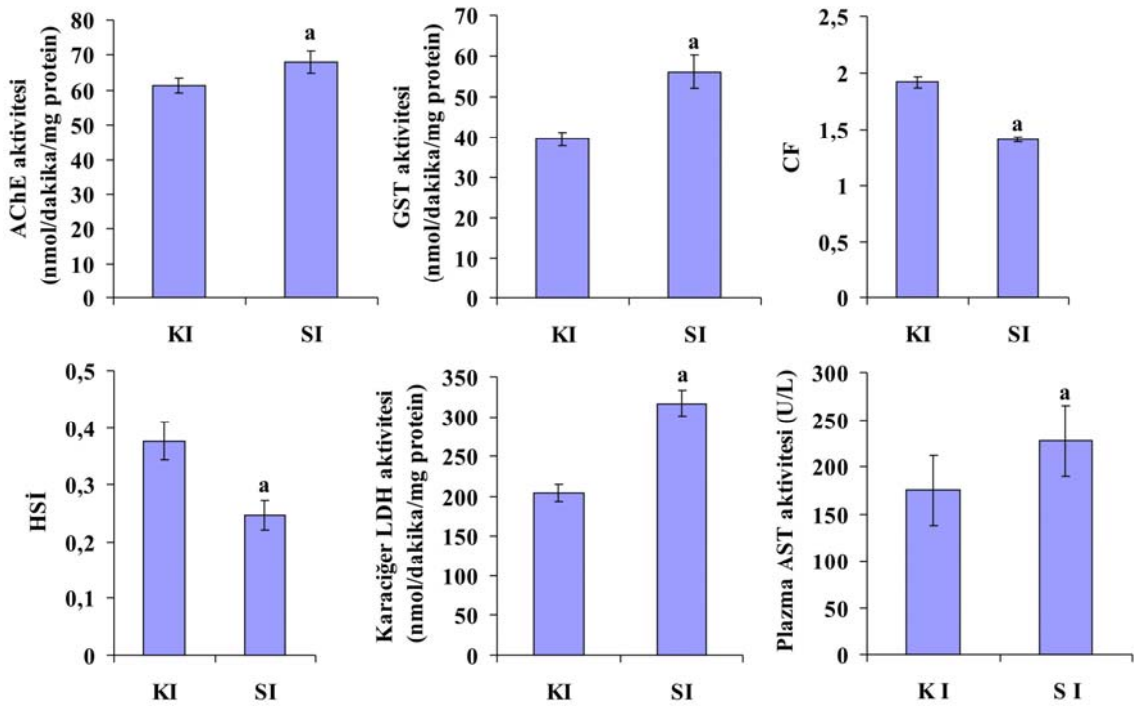
AChE aktivitesi SIII grubunda, hem SI hem de SII grubuna göre yüksek bulunmuştur (Şekil 5.10). Karakaya Baraj Gölü çalışmasında da üreme döneminde AChE aktivitesi yumurtlama döneminde önemli düzeyde yüksek belirlenmiştir. Özellikle KF değeri SI grubuna oranla SII ve SIII gruplarında daha yüksektir. Bu yükselme beslenmede kullanılan diyetle ilişkili olabilir. Ancak SIII grubunda KF değerinin SII grubuna oranla yüksek oluşu, E₂ indüksiyonu ile ilişkilendirilebilir. HSI değerinin SI grubuna kıyasla, SII ve SIII uygulama grubunda birbirinden farklı seyirler izlemesi E₂ uygulamasının karaciğer üzerinde yıkıcı etkisini gösterebilir.



Şekil 5.10. Sultansuyu Baraj Gölünden alınan balık örneklerinde istatistiksel açıdan önemli olan bazı değerler. d: SI ve SII, e: SI ve SIII, f: SII ve SIII grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05)

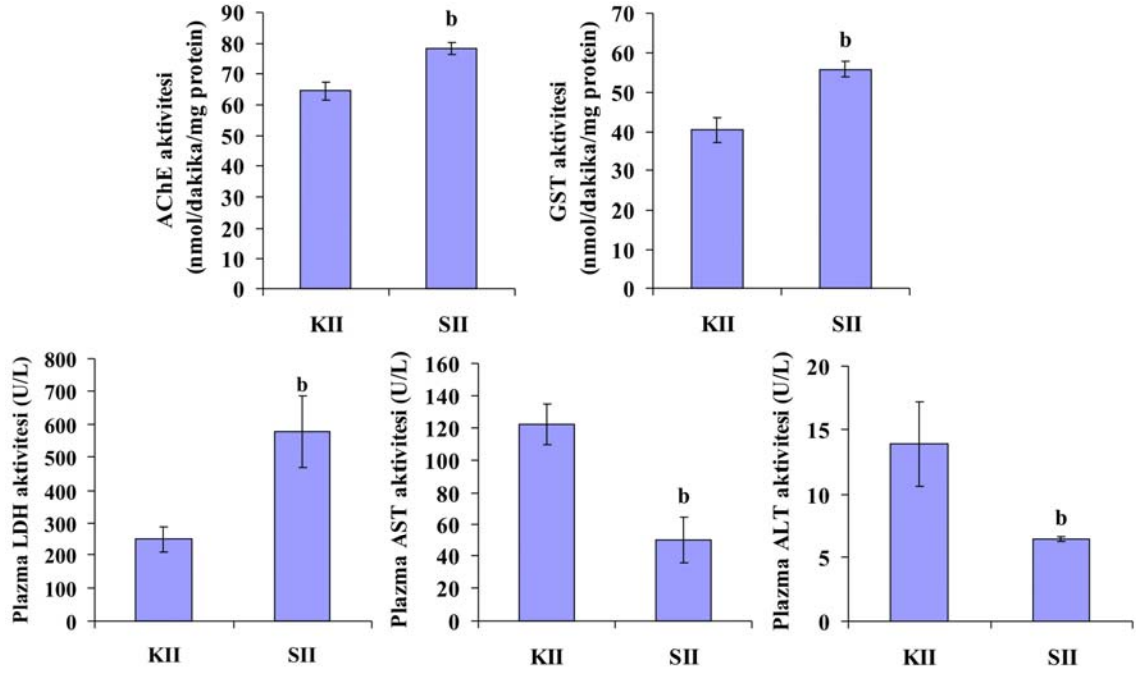
Mart 2006'da her iki baraj gölünden alınan balık örnekleri (KI ve SI) karşılaştırılarak, Karakaya Baraj Gölü ile karşılaştırılabilecek bir kontrol bölgesi

sağlanmaya çalışılmıştır. Sultansuyu Baraj Gölü, Karakaya Barajına su sağlayan Sultansuyu Çayı üzerinde kurulmuş olmasına ve aradaki mesafenin azlığına rağmen, her iki bölge balık popülasyonlarına ait biyobelirteçlerin birbirinden farklı olması dikkat çekicidir. HSI ve KF değerleri Mart 2006'döneminde Karakaya Barajında en üst değere ulaşmışken, Sultansuyu Barajından alınan balık örneklerinde (SI), hem Mart 2006 (KI) hem de diğer bütün dönemlere oranla Karakaya Baraj Gölü balıklarından oldukça düşüktür (Şekil 5.11).



Şekil 5.11. Her iki barajdan alınan balıklar karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli olan bazı değerler. a, gruplar arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$)

Her iki barajdan alınan ve belli bir süre laboratuvar koşullarında yaşatılan balıklar (KII ve SII) kıyaslandığında GST, AChE ve plazma LDH aktivitelerinin alandaki (KI ve SI'e göre) farklılığını koruduğu (Şekil 5.11 ve 5.12), KF ve HSI değerlerinin farklı olmakla birlikte aralarındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığı görülmektedir. Bu değerler açısından bakıldığında, laboratuvar koşullarında balık örnekleri hala alandaki değişimleri yansıtmaktadır. Ancak transaminaz aktiviteleri alandan farklı seyirler göstermektedir. Bu değişim laboratuvar koşulları, beslenme diyeti ve ortam sıcaklığı ile ilişkilendirilebilir.



Şekil 5.12. Her iki barajdan alınan ve herhangi bir uygulama yapılmaksızın belli bir süre laboratuvarında yaşatılan balıklar karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli olan bazı değerler. b, gruplar arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$)

Belirtilen biyobelirteç ve su fiziko-kimyasal değerlerinden hareketle Karakaya Baraj Gölünde kimyasal kirliliğin belli bir düzeyde olduğu görülmektedir. Kirliliğin hem kanalizasyon atıkları hem de endüstriyel atıklardan kaynaklanabileceği, ancak kirlenmede önemli düzeyde tarımsal faaliyetlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Bölgede bitki örtüsünün zayıf oluşu ve erozyon etkisinin de fazla olması nedeniyle, tarımda kullanılan kimyasal maddelerin (pestisitler, gübreler) kirlenmedeki rolünün daha önemli olduğu varsayılmaktadır.

Baraj gölünde Pb bakımından ileri derecede bir kirliliğin olduğu görülmektedir. Yine nitrit, TOK, Cu ve fosfat değerleri açısından bazı istasyonlarda dönemsel bir kirliliğin olduğu görülmektedir. Ancak belirlenen değerlerin genelinde standart değerlerden önemli düzeyde sapmalar görülmemektedir. Bu açıdan, kimyasal izleme çalışmalarının tek başına, olası kirliliğin canlılar üzerindeki etkisini belirlemede yeterli olamayacağı da gösterilmiştir.

Hem biyobelirteç değerler hem de suyun fiziko-kimyasal parametreleri özellikle Mart 2006'da kirliliğin önemli bir düzeye ulaştığını göstermektedir. Ancak takip eden Nisan 2006'da belirtilen değerlerden bazıları tekrar diğer dönemlere benzer düzeylere ulaşmaktadır. Bu durumda baraj gölünde kirlilik düzeyinin mevsimsel olarak değiştiği,

kirliliğin istasyonlara ve dönemlere göre değişkenlik gösterdiği ileri sürülebilir. Yine belirtilen değerlere göre kirlilik bakımından en problemlı bölgenin Hasırcılar istasyonu olduğu söylenebilir.

Çalışılan biyobelirteç değerler kıyaslandığında ve bu değerler, su fiziko-kimyasal parametreleri ile ilişkilerine göre değerlendirildiğinde, bazı parametrelerin bu tür biyoizleme çalışmaları için daha uygun olduğu sonucuna varılabilir. Özellikle EROD, AChE, HSI, KF, VTG değerlerinin dönemsel değişimleri yansıttığı ve istasyonlar arasındaki farkın belirlenmesi açısından daha hassas biyobelirteçler olduğu ileri sürülebilir. Diğer biyobelirteç değerlerden plazma ve karaciğer transaminaz ve LDH aktiviteleri ve GST ve GR aktiviteleri özellikle bazı dönemlerde kirlilikle ilgili önemli ipuçları sağlamaktadır. CaE aktivitesinin beyin ve karaciğerde izlediği farklı seyir iki dokuda enzimin farklı biyolojik süreçlerde işlev gördüğünü göstermektedir. Biyotransformasyonda yer aldığı ve AChE inhibisyonuna engel olduğu ileri sürülen karaciğer CaE ile ilgili ölçümlerden, istasyonlar ve dönemler arasındaki kirlilik farkı ile ilgili değerlendirmelerin yapılması zordur.

Baraj gölünde kirliliğin bazı dönemlerde balık popülasyonları ve ekosistem üzerinde hayati sorunlara neden olabilecek düzeye ulaştığı görülmektedir. Hem kirletici kaynakların tespiti hem de dönemsel kirliliğe neden olan faktörlerin tespiti için baraj gölünün kısa aralıklarla biyolojik olarak izlenmesi, *C. carpio* dışında başka balık türleri ve diğer organizmalar ile de benzer çalışmaların yapılması, bu çalışma bulgularını destekleyici olabilecek ve baraj gölünün kirlilik durumunun belirlenmesi ve alınacak önlemler konusunda daha net bir öngörü sağlayabilecektir.

6. KAYNAKLAR

- [1] World Water Council (WWC), Water Crisis, 2006.
<http://www.worldwatercouncil.org/index.php?id=25&L=0%2F>
- [2] R. Van Der Oost, J. Beyer, N. P. E. Vermeulen, *Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review*, **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, 13 (2003) 57–149.
- [3] K. A. Miller, R. F. Addison, S. M. Bandiera, *Hepatic CYP1A levels and EROD activity in English sole: biomonitoring of marine contaminants in Vancouver Harbour*, **Mar. Environ. Res.**, 57 (2003) 37–54.
- [4] S. A. M. Al-Arabi, M. Adolfsson-Erici, R. Waagbø, M. S. Ali, and A. Goksøyr, *Contaminant accumulation and biomarker responses in caged fish exposed to effluents from anthropogenic sources in the Karnaphuly River, Bangladesh*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 24 (2005) 1968–1978.
- [5] T. Balint, J. Ferenczy, F. Katai, I. Kiss, L. Kraczer, O. Kufcsak, G. Lang, C. Polyhos, I. Szabo, T. Szegletes and J. Nemcsok, *Similarities and differences between the massive eel (*Anguilla anguilla* L.) devastations that occurred in lake Balaton in 1991 and 1995*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 37:1 (1997) 17-23.
- [6] T. H. Hutchinson and D.B. Pickford, *Ecological risk assessment and testing for endocrine disruption in the aquatic environment*, **Toxicology**, 181–182 (2002) 383–387.
- [7] N. Moncaut, F. L. Nostro and M. C. Maggese, *Vitellogenin detection in surface mucus of the South American cichlid fish *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) induced by estradiol-17 β . Effects on liver and gonads*, **Aquat. Toxicol.**, 63:2 (2003) 127-137.
- [8] M. Hirano, H. Ishibashi, N. Matsumura, Y. Nagao, N. Watanabe, A. Watanabe, N. Onikura, K. Kishi and K. Arizono, *Acute toxicity responses of two crustaceans, *Americamysis bahia* and *Daphnia magna*, to endocrine disrupters*, **J. Health Sci.**, 50:1 (2004) 97-100.
- [9] A. S. Pait and J. O. Nelson, *Vitellogenesis in male *Fundulus heteroclitus* (killifish) induced by selected estrogenic compounds*, **Aquat. Toxicol.**, 64:3 (2003) 331-342.
- [10] M. C. Fossi, S. Casini, L. Marsili, S. Ancora, G. Mori, G. Neri, T. Romeo and A. Ausili, *Evaluation of ecotoxicological effects of endocrine disrupters during a four-year survey of the Mediterranean population of swordfish (*Xiphias gladius*)*, **Mar. Environ. Res.**, 58:2-5 (2004) 425-429.
- [11] T. Kusumegi, J. Tanaka, M. Kawano, J. Yonemoto, C. Tohyama and H. Sone, *BMP7/ActRIIB regulates estrogen-dependent apoptosis: New biomarkers for environmental estrogens*, **J. Biochem. Mol. Toxicol.**, 18:1 (2004) 1-11.
- [12] S. Pawlowski, R. Van Aerle, C. R. Tyler and T. Braunbeck, *Effects of 17 α -ethinylestradiol in a fathead minnow (*Pimephales promelas*) gonadal recrudescence assay*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 57:3 (2004) 330-345.
- [13] G. P. Daston, J. W. Gooch, W. J. Breslin, D. L. Shuey, A. I. Nikiforov, T. A. Fico and J. W. Gorsuch, *Environmental estrogens and reproductive health: A discussion of the human and environmental data*, **Reprod. Toxicol.**, 11:4 (1997) 465-481.
- [14] G. Schonfelder, B. Flick, E. Mayr, C. Talsness, M. Paul and L. Chahoud, *In utero exposure to low doses of Bisphenol A lead to long-term deleterious effects in the vagina*, **Neoplasia**, 4:2 (2002) 98-102.

- [15] C. J. Kirk, L. Bottomley, N. Minican, H. Carpenter, S. Shaw, N. Kohli, M. Winter, E. W. Taylor, R. H. Waring, F. Michelangeli and R. A. Haris, *Environmental endocrine disruptors dysregulate estrogen metabolism and Ca²⁺ homeostasis in fish and mammals via receptor-independent mechanisms*, **Comp. Biochem. Physiol., Part A Mol. Integr. Physiol.**, 135:1 (2003) 1-8.
- [16] L. Dialyna, G. Tzanakakis, G. Dolapsakis and A. Tsatsakis, *A tetranucleotide repeat polymorphism in the CYP19 gene and breast cancer susceptibility in a Greek population exposed and not exposed to pesticides*, **Toxicol. Lett.**, 151:1 (2004) 267-271.
- [17] A. G. Recchia, A. Vivacqua, S. Gabriele, A. Carpino, G. Fasanella, V. Rago, D. Bonofiglio and M. Maggiolini, *Xenoestrogens and the induction of proliferative effects in breast cancer cells via direct activation of oestrogen receptor alpha*, **Food Addit. Contam.**, 21:2 (2004) 134-144.
- [18] P. W. Harvey and P. Darbre, *Endocrine disruptors and human health: Could oestrogenic chemicals in body care cosmetics adversely affect breast cancer incidence in women? A review of evidence and call for further research*, **J. Appl. Toxicol.**, 24:3 (2004) 167-176.
- [19] S. Soyupak, *Keban Baraj Gölü ve havzası çevre sorunları projesi*, TÜBİTAK-DEBAG 1/G Raporu, Ankara, Türkiye, (1992).
- [20] F. Z. Küçükbay and I. Örün, *Copper and zinc accumulation in tissue of fresh water fish *Cyprinus carpio* collected from the Karakaya Dam Lake Malatya (Turkey)*, **Fresen. Environ. Bull.**, 12:1 (2003) 62-66.
- [21] M. Ozmen, A. Güngördü, F. Z. Kucukbay and R. E. Güler, *Monitoring the effects of water pollution on *Cyprinus carpio* in Karakaya Dam Lake, Turkey*, **Ecotoxicology**, 15 (2006) 157–169.
- [22] B. Steadman, “*Xenobiotic metabolism in rainbow trout: Toxicology, biochemistry and biomonitoring*” PhD Thesis, Wyoming University USA, 1986.
- [23] D. De Zwart, *Monitoring Water Quality in the Future, Volume 3: Biomonitoring*, National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM), Bilthoven, The Netherlands, 1995.
- [24] C. A. M. Van Gestel and T. C. Van Brummelen, *Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms*, **Ecotoxicology**, 5 (1996) 217–225.
- [25] J. J. Stegeman, M. Brouwer, T. D. G. Richard, L. Förlin, B. A. Fowler, B. M. Sanders and P. A. Van Veld, “Molecular Responses to Environmental Contamination: Enzyme and Protein Systems as Indicators of Chemical Exposure and Effect”, in R. J. Huggett, R. A. Kimerly, P. M. Jr. Mehrle and H. L. Bergman (Ed.), *Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress*, Lewis Publishers, Chelsea, MI, USA, 1992, p. 235–335.
- [26] J. F. McCarthy and L. R. Shugart, “Biological Markers of Environmental Contamination”, in J.F. McCarthy and L. R. Shugart (Ed.), *Biomarkers of Environmental Contamination*, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, 1990, p. 3–16.
- [27] R. S. S. Wu, W. H. L. Siu and P. K. S. Shin, *Induction, adaptation and recovery of biological responses: Implications for environmental monitoring*, **Mar. Pollut. Bull.**, 51:8-12 (2005) 623-634.
- [28] K. M. M. Van Den Belt, “*Development and validation of biomarkers for the effects of chemicals with an estrogenic on fish population*” PhD Thesis, Antwerpen University Belgium, 2002.

- [29] W. Kloas, B. Schrag, C. Ehnes and H. Segner, *Binding of xenobiotics to hepatic estrogen receptor and plasma sex steroid binding protein in the teleost fish, the carp (Cyprinus carpio)*, **Gen. Comp. Endocrinol.**, 119 (2000) 287-299.
- [30] R. J. Kavlock, G. P. Daston, C. DeRosa, P. Fenner-Crisp, L. E. Gray, S. Kaattari, G. Lucier, M. Luster, M. J. Mac, C. Maczka, R. Miller, J. Moore, R. Rolland, G. Scott, D. M. Sheehan, T. Sinks and H. A. Tilson, *Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: A report of the U.S. EPA-sponsored workshop*, **Environ. Health Perspect.**, 104: Suppl. 4 (1996) 715-740.
- [31] European Commission, Report of Proceedings of European Workshop on the Impact of Endocrine Disruptors on Human Health and Wildlife, 2-4 December 1996, Weybridge, UK. Workshop Publication EUR 17549, Environment and Climate Research Programme, DG XII, 1997.
- [32] S. Hashimoto, H. Bessho, A. Hara, M. Nakamura, T. Iguchi and K. Fujita *Elevated serum vitellogenin levels and gonadal abnormalities in wild male flounder (Pleuronectes yokohamae) from Tokyo Bay, Japan*, **Mar. Environ. Res.**, 49:1 (2000) 37-53.
- [33] C. Game, M. M. Gagnon, D. Webb and R. Lim, *Endocrine disruption in male mosquitofish (Gambusia holbrooki) inhabiting wetlands in Western Australia*, **Ecotoxicology**, 15 (2006) 665–672.
- [34] S. Jobling and C. R. Tyler, *Topic 4. 3: Endocrine disruption in wild freshwater fish*, **Pure Appl. Chem.**, 75 (2003) 2219-2234.
- [35] United States Environmental Protection Agency (USEPA), A, Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis. In: *EPA Report No. EPA/630/R-96/012*, US Environmental Protection Agency, Washington DC., 1997
- [36] C. Sonnenschein and A. M. Soto, *An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists*, **J. Steroid Biochem. Molec. Biol.**, 65:1-6 (1998) 143-150.
- [37] T. Damstra, S. Barlow, A. Bergman, R. Kavlock and G. Van Der Kraak, *Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors*, WHO/IPCS (World Health Organization/ International Programme on Chemical Safety), WHO/IPCS/EDC/02.2, Geneva, 2002, p. 34–49.
- [38] B. Jalabert, J. F. Baroiller, B. Breton, A. Fostier, F. Le Gac, Y. Guiguen and G. Monod, *Main neuro-endocrine, endocrine and paracrine regulations of fish reproduction, and vulnerability to xenobiotics*, **Ecotoxicology**, 9 (2000) 25-40.
- [39] G. Van Der Kraak, M. Hewitt, A. Lister, M. E. McMaster and K. R. Munkittrick, *Endocrine toxicants and reproductive success in fish*, **Human Ecol. Risk Assess.**, 7:5 (2001) 1017-1025.
- [40] J. M. Nicolas, *Vitellogenesis in fish and the effects of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminants*, **Aquat. Toxicol.**, 45 (1999) 77-90.
- [41] A. Arukwe, *Cellular and molecular responses to endocrine-modulators and the impact on fish reproduction*, **Mar. Pollut. Bull.**, 40:8 (2001) 643-655.
- [42] L. L. Johnson, J. T. Landahl, L. A. Kubin, B. H. Horness, M. S. Myers, T. K. Collier and J. E. Stein, *Assessing the effects of anthropogenic stressors on Puget Sound flatfish populations*, **J. Sea Res.**, 39 (1998) 125-137.
- [43] M. Solé, D. Barceló and C. Porte, *Seasonal variation of plasmatic and hepatic vitellogenin and EROD activity in carp, Cyprinus carpio, in relation to sewage treatment plants*, **Aquat. Toxicol.**, 60:3-4 (2002) 233-248.

- [44] J. D. Koehn, *Carp (Cyprinus carpio) as a powerful invader in Australian waterways*, **Freshw. Biol.**, 49 (2004) 882–894.
- [45] L. J. Mills and C. Chichester, *Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations?*, **Sci. Total Environ.**, 343: 1-3 (2005) 1-34.
- [46] O. Carnevali, G. Mosconi, H. R. Habibi, A. C. Elia, M. Cardinali and A. M. Polzonetti-Magni, *Validation of an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for Cyprinus carpio L. vitellogenin, as a biomarker of reproductive disorders*, **Chem. Ecol.**, 19:1 (2003) 5–13.
- [47] G. Degani, R. Boker and K. Jackson, *Growth hormone, sexual maturity and steroids in male carp (Cyprinus carpio)*, **Comp. Biochem. Physiol. C, Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.**, 120:3 (1998) 433-440.
- [48] R. Billard, C. Weil, K. Bieniarz, T. Mikolajczyk, B. Breton, P. Epler and M. Bougoussa, *Testicular and some hormonal changes during the first four years of life in the mirror carp, Cyprinus carpio L.*, **J. Fish Biol.**, 41 (1992) 473-487.
- [49] M. Blazquez, P. T. Bosma, E. J. Fraser, K. J. W. Van Look and V. L. Trudeau, *Fish as models for the neuroendocrine regulation of reproduction and growth*, **Comp. Biochem. Physiol. C, Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.**, 119 (1998) 345-364.
- [50] D. E. Kime, “Environmentally Induced Endocrine Abnormalities in Fish” in R.E. Hester and R. M. Harrison (Ed.), *Issues in Environmental Science and Technology No. 12: Endocrine Disrupting Chemicals*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1999, p. 27–48.
- [51] A. Arukwe and A. Goksøyr, *Eggshell and egg yolk proteins in fish: hepatic proteins for the next generation: oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine disruption*, **Comp. Hepatol.**, 2 (2003)1–21.
- [52] C. R. Tyler, S. Jobling, and J. P. Sumpter, *Endocrine disruption in wildlife: A critical review of the evidence*, **Crit. Rev. Toxicol.**, 28:4 (1998) 319–361.
- [53] H. A. Barton and M. E. Andersen, *Endocrine active compounds: From biology to dose response assessment*, **Crit. Rev. Toxicol.**, 28:4 (1998) 363–423.
- [54] L. Förlin and C. Haux, *Increased excretion in the bile of 17β-[3H]estradiol-derived radioactivity in rainbow trout treated with β-naphthoflavone*, **Aquat. Toxicol.**, 6 (1985) 197-208.
- [55] R. Van Der Oost, S. C. C. Lopes, H. Komen, K. Satumalay, R. Van Den Bos, H. Heida and N. P. E. Vermeulen, *Assessment of environmental quality and inland water pollution using biomarker responses in caged carp (Cyprinus carpio): Use of a bioactivation: detoxication ratio as a Biotransformation Index (BTI)*, **Mar. Environ. Res.**, 46:1-5 (1998) 315-319.
- [56] L. R. Shugart, J. F. McCarthy and R. S. Halbrook, *Biological markers of environmental and ecological contamination: An overview*, **Risk Anal.**, 12 (1992) 353–360.
- [57] J.P. Sherry, *The role of biomarkers in the health assessment of aquatic ecosystem*, **Aquat. Ecosyst. Health. Manag.**, 6 (2003) 423–440.
- [58] B. Beliaeff and T. Burgeot, *Integrated biomarker response: A useful tool for ecological risk assessment*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 21:6 (2002) 1316-1322.
- [59] C. D. Klaassen, *Casarett & Doull's Toxicology - The Basic Science of Poisons*, McGraw-Hill, New York, 2001, p.133–225.
- [60] Z. Siroka and J. Drastichova, *Biochemical markers of aquatic environment contamination – cytochrome P450 in fish. A review*, **Acta Vet. Brno**, 73 (2004) 123–132.

- [61] D. Ronisz and L. Förlin, *Interaction of isosafrole, naphthoflavone and other CYP1A inducers in liver of rainbow trout (Onchorynchus mykiss) and eelpout (Zoarces viviparus)*, **Comp. Biochem. Physiol. C, Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.**, 121 (1998) 289–296.
- [62] J. J. Whyte, R. E. Jung, C. J. Schmitt and D. E. Tillitt, *Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in fish as a biomarker of chemical exposure*, **Crit. Rev. Toxicol.**, 30:4 (2000) 347–570.
- [63] M. Monteiro, C. Quintaneiro, A. J. A. Nogueira, F. Morgado, A. M. V. M. Soares and L. Guilhermino, *Impact of chemical exposure on the fish Pomatoschistus microps Krøyer (1838) in estuaries of the Portuguese Northwest coast*, **Chemosphere**, 66:3 (2007) 514–522.
- [64] K. Schmidt, G. B. O. Staaks, S. Pflugmacher and C. E. W. Steinberg, *Impact of PCB mixture (Aroclor 1254) and TBT and a mixture both on swimming behavior, body growth and enzymatic biotransformation activities (GST) of young carp (Cyprinus carpio)*, **Aquat. Toxicol.**, 71 (2005) 49-59.
- [65] C. Fan, S. Zhang, Z. Liu, L. Li, J. Luan and G. Saren, *Identification and expression of a novel class of glutathione-S-transferase from amphioxus Branchiostoma belcheri with implications to the origin of vertebrate liver*, **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, 39 (2007) 450–461.
- [66] I. Ahmad, T. Hamid, M. Fatima, H. S. Chand, S. K. Jain, M. Athar and S. Raisuddin, *Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (Channa punctatus Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure*, **Biochim. Biophys. Acta**, 1523 (2000) 37–48.
- [67] R. R. Jahan-Tigh, “*Glutathione S-Transferase as a Biomarker of Heavy Metal Exposure in a Neotropical Fish Community*” MSc Thesis, Houston Clear Lake University USA, 2002.
- [68] M. Machala, P. Drabek, J. Neca, J. Kolarova and Z. Svobodova, *Biochemical markers for differentiation of exposures to nonplanar polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, or 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in trout liver*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 41:1 (1998) 107-111.
- [69] F. Peixoto, D. Alves-Fernandes, D. Santos and A. Fontainhas-Fernandes, *Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in tilapia Oreochromis niloticus*, **Pestic. Biochem. Physiol.**, 85 (2006) 91-96.
- [70] J. Zhang, H. Shen, X. Wang, J. Wu and Y. Xue, *Effects of chronic exposure of 2,4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish Carassius auratus*, **Chemosphere**, 55 (2004) 167–174.
- [71] E. Camera and M. Picardo, *A nalytical methods to investigate glutathione and related compounds in biological and pathological processes*, **J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.**, 781 (2002) 181–206.
- [72] S. Pandey, S. Parvez, I. Sayeed, R. Haque, B. Bin-Hafeez and S. Raisuddin, *Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish Wallago attu (Bl. & Schn.)*, **Sci. Total Environ.**, 309 (2003) 105–115.
- [73] E. Stephensen, J. Sturve and L. Förlin, *Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver*, **Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.**, 133:3 (2002) 435-442.
- [74] W. N. Aldridge, *Serum esterases. I. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination*, **Biochem. J.**, 53 (1953) 110–117.

- [75] M. G. Barron, K. A. Charron, W. T. Stott and S. E. Duvall, *Tissue carboxylesterase activity of rainbow trout*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 18:11 (1999) 2506–2511.
- [76] J. R. Cashman, B. Y. T. Perotti, C. E. Berkman and J. Lin, *Pharmacokinetics and molecular detoxication*, **Environ. Health Perspect.**, 104:1 (1996) 23–40.
- [77] M. Jokanović, *Biotransformation of organophosphorus compounds*, **Toxicology**, 66:3 (2001) 139–160.
- [78] C. E. Wheelock, K. J. Eder, I. Werner, H. Huang, P. D. Jones, B. F. Brammell, A. A. Elskus and B. D. Hammock, *Individual variability in esterase activity and CYP1A levels in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) exposed to esfenvalerate and chlorpyrifos*, **Aquat. Toxicol.**, 74:2 (2005) 172–192.
- [79] H. M. Thompson, *Esterases as markers of exposure to organophosphates and carbamates*, **Ecotoxicology**, 8 (1999) 369–384.
- [80] C. Pretti and A. M. Cognetti-Varriale, *The use of biomarkers in aquatic biomonitoring: the example of esterases*, **Aquat. Conserv.**, 11 (2001) 299–303.
- [81] T. L. Huang, P. O. Obih, R. Jaiswal, W. R. Hartley and A. Thiagarajah, *Evaluation of liver and brain esterases in the spotted gar fish (*Lepisosteus oculatus*) as biomarkers of effect in the lower Mississippi River basin*, **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 58 (1997) 688–695.
- [82] C. E. Wheelock, G. Shan and J. Ottea, *Overview of carboxylesterases and their role in the metabolism of insecticides*, **J. Pestic. Sci.**, 30 (2005) 75–83.
- [83] S. Ru, X. Wei, M. Jiang and Y. Li, *In vivo and in vitro inhibitions of red drum (*Sciaenops ocellatus*) brain acetylcholinesterase and liver carboxylesterase by monocrotophos at sublethal concentrations*, **Water Air Soil Pollut.**, 149 (2003) 17–25.
- [84] E. Küster, *Cholin- and carboxylesterase activities in developing zebrafish embryos (*Danio rerio*) and their potential use for insecticide hazard assessment*, **Aquat. Toxicol.**, 75:1 (2005) 76–85.
- [85] L. S. Beauvais, S. B. Jones, S. K. Brewer and E. E. Little, *Physiological measures of neurotoxicity of diazinon and malathion to larval rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their correlation with behavioral measures*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 19:7 (2000) 1875–1880.
- [86] M. H. Fulton and P. B. Key, *Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 20:1 (2001) 37–45.
- [87] T. A. Phillips, R. C. Summerfelt and G. J. Atchison, *Environmental, biological, and methodological factors affecting cholinesterase activity in walleye (*Stizostedion vitreum*)*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 43:1 (2002) 75–80.
- [88] J. Wogram, A. Sturm, H. Segner and M. Liess, *Effects of parathion on acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and carboxylesterase in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) following short-term exposure*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 20 (2001) 1528–1531.
- [89] H. Soreq and S. Seidman, *Acetylcholinesterase — new roles for an old actor*, **Nat. Rev. Neurosci.**, 2 (2001) 294–302
- [90] M. G. Lionetto, R. Caricato, M. E. Giordano and T. Schettino, *Biomarker application for the study of chemical contamination risk on marine organisms in the Taranto marine coastal area*, **Chem. Ecol.**, 20:Suppl. 1 (2004) 333–343.
- [91] D. Bernet, H. Schmidt, T. Wahli, P. Burkhardt-Holm, *Effluent from a sewage treatment works causes changes in serum chemistry of brown trout (*Salmo trutta L.*)*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 48 (2001) 140–147.

- [92] D. L. Nelson and M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, (fourth ed.), Worth Publishers, New York, 2004, p. 577.
- [93] B. Asztalos, J. Nemcsok and I. Benedeczky, *The effects of pesticides on some biochemical parameters of carp (Cyprinus carpio L.)*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 19 (1990) 275-282.
- [94] R. K. Singh and B. Sharma, *Carbafuran- induced biochemical changes in Clarias batrachus*, **Pestic. Sci.**, 53 (1998) 285-290.
- [95] D. Webb, M. M. Gagnon and T. Rose, *Metabolic enzyme activities in black bream (Acanthopagrus butcheri) from the Swan-Canning Estuary, Western Australia*, **Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.**, 141:4 (2005) 356-365.
- [96] R. Mishra and S. P. Shukla, *Impact of endosulfan on lactate dehydrogenase from the freshwater catfish Clarias batrachus*, **Pestic. Biochem. Physiol.**, 57:3 (1997) 220-234.
- [97] A. Vaglio and C. Landriscina, *Changes in liver enzyme activity in the teleost Sparus aurata in response to cadmium intoxication*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 43 (1999) 111-116.
- [98] A. S. Srivastava, L. Oohara, T. Suzuki and S. N. Singh, *Activity and expression of aspartate aminotransferase during the reproductive cycle of a fresh water fish, Clarias batrachus*, **Fish Physiol. Biochem.**, 20 (1990) 243-250.
- [99] E. Ö. Oruç and N. Üner, *Effects of 2,4-Diamin on some parameters of protein and carbohydrate metabolisms in the serum, muscle and liver of Cyprinus carpio*, **Environ. Pollut.**, 105:2 (1999) 267-272.
- [100] S. Petrović, L. Semencić, B. Ozretić and M. Krajnović-Ozretić, *Selective determination of fish aspartate aminotransferase isoenzymes by their differential sensitivity of proteases*, **Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol.**, 124 (1999) 209-214.
- [101] F. R. de la Torre, L. Ferrari and A. Salibián, *Biomarkers of a native fish species (Cnesterodon decemmaculatus) application to the water toxicity assessment of a peri-urban polluted river of Argentina*, **Chemosphere**, 59 (2005) 577-583.
- [102] F. R. de la Torre, A. Salibián and L. Ferrari, *Biomarkers assessment in juvenile Cyprinus carpio exposed to waterborne cadmium*, **Environ. Pollut.**, 109:2 (2000) 277-282.
- [103] G. Mosconi, O. Carnevali, R. Carletta, M. Nabissi, and A. M. Polzonetti-Magni, *Gilthead seabream (Sparus aurata) vitellogenin: Purification, partial characterization, and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*, **Gen. Comp. Endocr.**, 110 (1998) 252-261.
- [104] D. K. Gillespie and A. de Peyster, *Plasma calcium as a surrogate measure for vitellogenin in fathead minnows (Pimephales promelas)*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 58:1(2004) 90-95.
- [105] J. R. Wheeler, S. Gimeno, M. Crane, E. Lopez-Juez, and D. Morrirt, *Vitellogenin: A review of analytical methods to detect (anti) estrogenic activity in fish*, **Toxicol. Mech. Method.**, 15 (2005) 293-306.
- [106] S. Jobling, T. Reynolds, R. White, M. G. Parker and J. P. Sumpter, *A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers are weakly estrogenic*, **Environ. Health Perspect.**, 103:6 (1995) 582-587.
- [107] J. P. Sumpter and S. Jobling, *Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment*, **Environ. Health Perspect.**, 103:Suppl. 7 (1995) 173-178.

- [108] J. E. Harries, D. A. Sheahan, S. Jobling, P. Matthiessen, P. Neall, J. P. Sumpter, T. Tylor and N. Zaman, *Estrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenesis in caged male trout*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 16:3 (1997) 534–542.
- [109] A. Arukwe, T. Celius, B. T. Walther and A. Goksøyr, *Effects of xenoestrogen treatment on zona radiata protein and vitellogenin expression in Atlantic salmon (*Salmo salar*)*, **Aquat. Toxicol.**, 49:3 (2000) 159-170.
- [110] L. C. Folmar, M. Hemmer, R. Hemmer, C. Bowman, K. Kroll and N. D. Denslow, *Comparative estrogenicity of estradiol, ethynyl estradiol and diethylstilbestrol in an in vivo, male sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*)*, vitellogenin bioassay, **Aquat. Toxicol.**, 49:1-2 (2000) 77-88.
- [111] M. F. Kirby, A. J. Smith, J. Rooke, P. Neall, A. P. Scott and I. Katsiadaki, *Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) and vitellogenin (VTG) in flounder (*Platichthys flesus*): System interaction, crosstalk and implications for monitoring*, **Aquat. Toxicol.**, 81 (2007) 233-244.
- [112] M. Carballo, J. A. Jimenez, A. de la Torre, J. Roset and M. J. Munoz, *A survey of potential stressor-induced physiological changes in carp (*Cyprinus carpio*) and barbel (*Barbus bocagei*) along the Tajo river*, **Environ. Toxicol.**, 20:2 (2005) 119-125.
- [113] D. Napierska, M. Podolska, *Biomarkers of contaminant exposure: results of a field study with flounder (*Platichthys flesus*) from the southern Baltic Sea*, **Mar. Pollut. Bull.**, 50:7 (2005) 758-767.
- [114] A. Arukwe and A. Goksøyr, *Changes in three hepatic cytochrome P450 subfamilies during a reproductive cycle in turbot (*Scophthalmus maximus* L.)*, **J. Exp. Zool.**, 277 (1997) 313-325.
- [115] M. F. Kirby, P. Matthiessen, P. Neall, T. Tylor, C. R. Allchin, C. A. Kelly, D. L. Maxwell and J. E. Thain, *Hepatic EROD activity in flounder (*Platichthys flesus*) as an indicator of contaminant exposure in English Estuaries*, **Mar. Pollut. Bull.**, 38:8 (1999) 676-686.
- [116] M. S. Sepúlveda, E. P. Gallagher, C. M. Wieser and T. S. Gross, *Reproductive and biochemical biomarkers in largemouth bass sampled downstream of a pulp and paper mill in Florida*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 57:3 (2004) 431-440.
- [117] F. R. De La Torre, L. Ferrari and A. Salibian, *Freshwater pollution biomarker: response of brain acetylcholinesterase activity in two fish species*, **Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.**, 131 (2002) 271-280.
- [118] I. Ahmad, M. Pacheco and M. A. Santos, *Anguilla anguilla L. oxidative stress biomarkers: An in situ study of freshwater wetland ecosystem (Pateira de Fermentelos, Portugal)*, **Chemosphere**, 65 (2006) 952-962.
- [119] C. E. Purdom, P. A. Hardiman, V. J. Bye, N. C. Eno, C. R. Tyler and J. P. Sumpter, *Estrogenic effects of effluents from sewage treatments works*, **Chem. Ecol.**, 8 (1994) 275-285.
- [120] A. Arukwe, L. Förlin and A. Goksøyr, *Xenobiotic and steroid biotransformation enzymes in Atlantic salmon (*Salmo salar*) liver treated with an estrogenic compound, 4-nonylphenol*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 16 (1997) 2576–2583.
- [121] T. Andersson and L. Förlin, *Regulation of the cytochrome P450 enzyme system in fish*, **Aquat. Toxicol.**, 24:1-2 (1992) 1-19.
- [122] T. Hansson, E. Lindesjö, L. Förlin, L. Balk, A. Bignert and Å. Larsson, *Long-term monitoring of the health status of female perch (*Perca fluviatilis*) in the Baltic Sea shows decreased gonad weight and increased hepatic EROD activity*, **Aquat. Toxicol.**, 79:4 (2006) 341-355.

- [123] J. B. Damasio, C. Barata, A. Munne, A. Ginebreda, H. Guasch, S. Sabater, J. Caixach and C. Porte, *Comparing the response of biochemical indicators (biomarkers) and biological indices to diagnose the ecological impact of an oil spillage in a Mediterranean river (NE Catalunya, Spain)*, **Chemosphere**, 66 (2007) 1206–1216.
- [124] E. Arınç and A. Şen, *Hepatic cytochrome P4501A and 7-ethoxyresorufin O-deethylase induction in mullet and common sole as an indicator of toxic organic pollution in Izmir Bay, Turkey*, **Mar. Environ. Res.**, 48:2 (1999) 147-160.
- [125] U. Kammann, T. Lang, M. Vobach and W. Wosniok, *Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in dab (Limanda limanda) as biomarker for marine monitoring*, **Environ. Sci. Pollut. R.**, 12:3 (2005) 140-145.
- [126] N. Aarab, O. Champeau, P. Mora, M. Daubeze, P. Garrigues and J. F. Narbonne, *Scoring approach based on fish biomarkers applied to French river monitoring*, **Biomarkers**, 9:3 (2004) 258–270.
- [127] D. Ronisz, E. Lindesjö, Å. Larsson, A. Bignert, and L. Förlin, *Thirteen years of monitoring selected biomarkers in eelpout (Zoarces viviparus) at reference site in the Fjällbacka Archipelago on the Swedish West Coast*, **Aquat. Ecosys. Health Manag.**, 8:2 (2005) 175–184.
- [128] S. Gorbi, C. Baldini and F. Regoli, *Seasonal variability of metallothioneins, cytochrome P450, bile metabolites and oxyradical metabolism in the European eel Anguilla anguilla L. (Anguillidae) and striped mullet Mugil cephalus L. (Mugilidae)*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 49 (2005) 62–70.
- [129] L. D. Arcand-Hoy and C. D. Metcalfe, *Biomarkers of exposure of bullheads (Ameiurus nebulosus) to contaminants in the lower Great Lakes, North America*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 18:4 (1999) 740-749.
- [130] L. S. Carr, L. L. Ho and J. E. Chambers, *Selective toxicity of chlorpyrifos to several species of fish during an environmental exposure: Biochemical mechanisms*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 16 (1997) 2369-2374.
- [131] P. A. Lopes, T. Pinheiro, M. C. Santos, M. da Luz Mathias, M. J. Collares-Pereira and A. M. Viegas-Crespo, *Response of antioxidant enzymes in freshwater fish populations (Leuciscus alburnoides complex) to inorganic pollutants exposure*, **Sci. Total Environ.**, 280:1-3 (2001) 153-163.
- [132] H. M. Levesque, T. W. Moon, P. G. C. Campbell and A. Hontela, *Seasonal variation in carbohydrate and lipid metabolism of yellow perch (Perca flavescens) chronically exposed to metals in the field*, **Aquat. Toxicol.**, 60 (2002) 257–267.
- [133] M. S. Shailaja and C. D’Silva, *Evaluation of impact of PAH on a tropical fish, Oreochromis mossambicus using multiple biomarkers*, **Chemosphere**, 53:8 (2003) 835–841.
- [134] E. Lindesjö, M. Adolfsson-Erici, G. Ericson and L. Förlin, *Biomarker responses and resin Acids in fish chronically exposed to effluents from a total chlorine-free pulp mill during regular production*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 53 (2002) 238-247.
- [135] T. Ma, X. Wan, Q. Huang, Z. Wang and J. Liu, *Biomarker responses and reproductive toxicity of the effluent from a Chinese large sewage treatment plant in Japanese medaka (Oryzias latipes)*, **Chemosphere**, 59:2 (2005) 281–288.
- [136] M. S. Diniz, I. Peres and J.C. Pihan, *Comparative study of the estrogenic responses of mirror carp (Cyprinus carpio) exposed to treated municipal sewage effluent (Lisbon) during two periods in different seasons*, **Sci. Total Environ.**, 349:1-3 (2005) 129-139.

- [137] K. E. Liney, J. A. Hagger, C. R. Tyler, M. H. Depledge, T. S. Galloway and S. Jobling, *Health effects in fish of long-term exposure to effluents from wastewater treatment works*, **Environ. Health Perspect.**, 114:1 (2006) 81-89.
- [138] M. Ferreira, P. Moradas-Ferreira and M. A. Reis-Henriques, *The effect of long-term depuration on phase I and phase II biotransformation in mullets (*Mugil cephalus*) chronically exposed to pollutants in River Douro Estuary, Portugal*, **Mar. Environ. Res.**, 61:3 (2006) 326-338.
- [139] L. Förlin and T. Hansson, *Effects of oestradiol-17 beta and hypophysectomy on hepatic mixed function oxidases in rainbow trout*, **J. Endocrinol.**, 95:2 (1982) 245-252.
- [140] J. Zha, Z. Wang and D. Schlenk, *Effects of pentachlorophenol on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*)*, **Chem. Biol. Interact.**, 161:1 (2006) 26-36.
- [141] M. Mariottini, I. Corsi, S. Bonacci, S. Focardi and F. Regoli, *PCB muscle content and liver EROD activity in the European eel (*Anguilla anguilla*) treated with Aroclor 1254*, **Chem. Ecol.**, 19:2-3 (2003) 91-98.
- [142] E. S. Quabius, D. T. Nolan, H. Segner and S. E. W. Bonga, *Confinement stress and starvation modulate the induction of EROD activity after dietary exposure to PCB 126 in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*)*, **Fish Physiol. Biochem.**, 25 (2002) 109-119.
- [143] A. Ferrari, A. Venturino and A. M. P. de D'Angelo, *Effects of carbaryl and azinphos methyl on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) detoxifying enzymes*, **Pestic. Biochem. Physiol.**, 88:2 (2007) 134-142.
- [144] W. Jifa, Y. Zhiming, S. Xiuxian and W. You, *Response of integrated biomarkers of fish (*Lateolabrax japonicus*) exposed to benzo[a]pyrene and sodium dodecylbenzene sulfonate*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 65 (2006) 230-236.
- [145] E. Stephensen, M. Adolfsson-Erici, M. Hulander, J. Parkkonen and L. Förlin, *Rubber additives induce oxidative stress in rainbow trout*, **Aquat. Toxicol.**, 75:2 (2005)136-143.
- [146] T. S. F. Hori, I. M. Avilez, L. K. Inoue and G. Moraes, *Metabolical changes induced by chronic phenol exposure in matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) juveniles*, **Comp. Biochem. Physiol. C, Comp. Pharmacol. Toxicol.**, 143 (2006) 67-72.
- [147] S. Gupta, R. C. Dalela and P. K. Saxena, *Effect of phenolic compounds on in vivo activity of transaminases in certain tissues of the fish *Notopterus notopterus**, **Environ. Res.**, 32 (1983) 8-13.
- [148] S. Ravichandran, K. Midhunashanthi and N. Indira, *Impact of phenol on protein metabolism in the freshwater fish *Oreochromis mossambicus**, **Ecotoxicol. Environ. Monit.**, 4:1 (1994) 33-38.
- [149] R. C. Gupta and W. L. Kadel, *Concerted role of carboxylesterase in the potentiation of carbofuran toxicity by ISO-OMPA pretreatment*, **J. Toxicol. Environ. Health.**, 26 (1989) 447-457.
- [150] G. Begum, *Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (Linn) and recovery response*, **Aquat. Toxicol.**, 66 (2004) 83-92.
- [151] N. Ghorpade, V. Mehta, M. Khare, P. Sinkar, S. Krishnan and C. V. Rao, *Toxicity study of diethyl phthalate on freshwater fish *Cirrhina mrigala**, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 53: 2 (2002) 255-258.

- [152] K. Vijayavel and M. P. Balasubramanian, *Interaction of potash and decis in the ecophysiology of a freshwater fish Oreochromis mossambicus*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 66: 2 (2007) 154-158.
- [153] M. Crestani, C. Menezes, L. Gluszczak, D. D. S. Miron, R. Lazzari, M. F. Duarte, V. M. Morsch, A. L. Pippi and V. P. Vieira, *Effects of clomazone herbicide on hematological and some parameters of protein and carbohydrate metabolism of silver catfish Rhamdia quelen*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 65: 1 (2006) 48-55.
- [154] W. H. Habig, M. J. Pabst and W. B. Jakoby, *Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation*, **J. Biol. Chem.**, 249 (1974) 7130-7139.
- [155] A. E. Cribb, J. S. Leeder, and S. P. Spielberg, *Use of a microplate reader in an assay of glutathione reductase using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)*. **Anal. Biochem.** 183 (1989) 195-196.
- [156] U. Nousiainen and R. Torronen, *Differentiation of microsomal and cytosolic carboxylesterases in rat liver by in vivo and in vitro inhibition*, **Gen. Pharmacol.**, 15 (1984) 223-227.
- [157] P. Santhoshkumar and T. Shivanandappa, *In vitro sequestration of two organophosphorus homologs by the rat liver*, **Chem. Biol. Interact.**, 119-120 (1999) 277-282.
- [158] G. L. Ellman and D. C. Andres, *New and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity*, **Biochem. Pharmacol.**, 7 (1961) 88-95.
- [159] M. Özmen, S. E. Dominguez, A. Fairbrother, *Effects of dietary azinphos methyl on selected plasma and tissue biomarkers of the gray-tailed vole*, **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 60 (1998) 194-201.
- [160] M. M. Bradford, *A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*, **Anal. Biochem.**, 72 (1976) 248-254.
- [161] American Society for Testing and Materials (ASTM), *Standart guide for conducting the frog embryo teratogenesis assay-Xenopus (FETAX)*, 2th, E1439-98, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, USA, 1999, p. 1025.
- [162] P. D. Nieuwkoop and J. Faber, *Normal Table of Xenopus laevis (Daudin)*, Garland Publishing Inc., New York, 1994.
- [163] M. L. Vidal, A. Basseres and J. F. Narbonne, *Seasonal variations of pollution biomarkers in two populations of Corbicula fluminea (Müller)*, **Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.**, 131 (2002) 133-151.
- [164] Türkiye Çevre Vakfı (TÇV), "Su Kirliliği" (5. Bölüm), *Avrupa Birliği'nde ve Türkiye'de Çevre Mevzuatı*, Türkiye Çevre Vakfı, Önder Matbaa, Ankara, 2001, s. 235-288.
- [165] United States Environmental Protection Agency (USEPA), *Goldbook: Quality Criteria for Water*, Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA, EPA 440/5-86-001, 1986.
<http://www.epa.gov/waterscience/criteria/goldbook.pdf>
- [166] United States Environmental Protection Agency (USEPA), *Redbook: Water Quality Criteria for Water*, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 1976.
<http://www.epa.gov/waterscience/criteria/redbook.pdf/>
- [167] M. S. Shailaja, R. Rajamanickam and S. Wahidulla, *Increased formation of carcinogenic PAH metabolites in fish promoted by nitrite*, **Environ. Pollut.**, 143:1 (2006) 174-177.

- [168] S. Yerli ve M. Zengin, *Çıldır Gölü (Ardahan, Kars)'ndeki Cyprinus carpio (Linnaeus, 1758)'nin üremesi üzerine bir araştırma*, **Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences**, 22 (1999) 309–313.
- [169] C. E. Özyurt ve D. Avşar, *Seyhan Baraj Gölü sazan (Cyprinus carpio Linnaeus, 1758)'ların bazı biyolojik özelliklerinin belirlenmesi*, **E.Ü. Su Ürünleri Dergisi**, 18:3–4 (2001) 333–342.
- [170] M. Yılmaz ve A. Gül, *Hirfanlı Baraj Gölü (Kırşehir)'nde yaşayan Cyprinus carpio L., 1758'nun üreme özellikleri*, **G.Ü. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi**, 22:1 (2002) 25-39.
- [171] T. C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Aynalı Sazan, 2006.
http://www.kkgm.gov.tr/birim/su_urn/icsu1/aynali_sazan.html
- [172] M. Solé, J. Kopecka and L. M. G. De la Para, *Seasonal variations of selected biomarkers in sand gobies Pomatoschistus minutus from the Guadalquivir Estuary, Southwest Spain*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 50 (2006) 249-255.
- [173] L. Kokokiris, F. Menn, M. Kentouri, M. Kagara and A. Fostier, *Seasonal cycle of gonadal development and serum levels of vitellogenin of the red porgy, Pagrus pagrus (Teleostei: Sparidae)*, **Mar. Biol.**, 139 (2001) 549-559.
- [174] X. Yang and P. C. Baumann, *Biliary PAH metabolites and the hepatosomatic index of brown bullheads from Lake Erie tributaries*, **Ecological Indicator**, 6:3 (2006) 567-574.
- [175] E. Stephensen, J. Svavarsson, J. Sturve, G. Ericson, M. Adolfson-Erici and L. Förlin, *Biochemical indicators of pollution exposure in shorthorn sculpin (Myoxocephalus scorpius), caught in four harbours on the southwest coast of Iceland*, **Aquat. Toxicol.**, 48:4 (2000) 431-442.
- [176] R. Romani, C. Antognelli, F. Baldracchini, A. De Santis, G. Isani, E. Giovannini and G. Rosi, *Increased acetylcholinesterase activities in specimens of Sparus auratus exposed to sublethal copper concentrations*, **Chem. Biol. Interact.**, 145:3 (2003) 321-329.
- [177] D. F. Pavlov, *Brain acetylcholinesterase activity in relation to induced reproductive activity in Mozambique tilapia (Oreochromis mossambicus Peters)*, **Comp. Biochem. Physiol.**, 11 (1994) 231-233.
- [178] J. W. Hogan, *Water temperature as a source of variation in the specific activity of brain cholinesterase of bluegills*, **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 5 (1970) 347-354.
- [179] E. Escartin and C. Porte, *The use of cholinesterase and carboxylesterase activities from Mytilus galloprovincialis in pollution monitoring*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 16:10 (1997) 2090-2095.
- [180] S. Pfeifer, D. Schiedek and J. W. Dippner, *Effect of temperature and salinity on acetylcholinesterase activity, a common pollution biomarker, in Mytilus sp. from the south-western Baltic Sea*, **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, 320 (2005) 93-103.
- [181] J. Forget, B. Beliaeff and G. Bocquene, *Acetylcholinesterase activity in copepods (Tigriopus brevicornis) from the Vilaine River Estuary, France, as a biomarker of neurotoxic contaminants*, **Aquat. Toxicol.**, 62:3 (2003) 195-204.
- [182] D. Ronisz, D. G. Larsson and L. Förlin, *Seasonal variations in the activities of selected hepatic biotransformation and antioxidant enzymes in eelpout (Zoarces viviparus)*, **Comp. Biochem. Physiol. C, Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.**, 124:3 (1999) 271-279.

- [183] J. M. Navas and H. Segner, *Estrogen-mediated suppression of cytochrome P4501A (CYP1A) expression in rainbow trout hepatocytes: role of estrogen receptor*, **Chem. Biol. Interact.**, 138:3 (2001) 285-298.
- [184] M. Solé, C. Porte and D. Barceló, *Vitellogenin induction and other biochemical responses in carp, *Cyprinus carpio*, after experimental injection with 17 α -ethynylestradiol*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 38:4 (2000) 494-500.
- [185] J. Sturve, L. Hasselberg, H. Fálth, M. Celander and L. Förlin, *Effects of North Sea oil and alkylphenols on biomarker responses in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*)* **Aquat. Toxicol.**, 78: Supp.1 (2006) 73-78.
- [186] A. Skouras, T. Lang, M. Vobach, D. Danischewski, W. Wosniok, J. P. Scharsack and D. Steinhagen, *Assessment of some innate immune responses in dab (*Limanda limanda* L.) from the North Sea as part of an integrated biological effects monitoring*, **Helgoland Mar. Res.**, 57:3-4 (2003) 181-189.
- [187] A. Figueiredo-Fernandes, A. Fontainhas-Fernandes, F. Peixoto, E. Rocha and M. A. Reis-Henriques, *Effects of gender and temperature on oxidative stress enzymes in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to paraquat*, **Pest. Biochem. Physiol.**, 85 (2006) 97-103.
- [188] S. M. Bello, D. G. Franks, J. J. Stegeman and M. E. Hahn, *Acquired resistance to Ah receptor agonists in a population of Atlantic killifish (*Fundulus heteroclitus*) inhabiting a marine superfund site: In vivo and in vitro studies on the inducibility of xenobiotic metabolizing enzymes*, **Toxicol. Sci.**, 60 (2001) 77-91.
- [189] E. Martínez-Lara, F. Toribio, J. López-Barea and J. A. Bárcena, *Glutathione-S-transferase isoenzyme patterns in the gilthead seabream (*Sparus aurata*) exposed to environmental contaminants*, **Comp. Biochem. Physiol.**, 113 (1996) 215-220.
- [190] J. V. Rao, *Biochemical alterations in euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus* exposed to sub-lethal concentrations of an organophosphorus insecticide, monocrotophos*, **Chemosphere**, 65:10 (2006) 1814-1820.
- [191] Ş. Gül, E. Belge-Kurutaş, E. Yıldız, A. Şahan and F. Doran, *Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (*Cyprinidae*) living in Seyhan Dam Lake, Turkey*, **Environ. Int.**, 30:5 (2004) 605-609.
- [192] P. C. Das, S. Ayyappan, J. K. Jena and B. K. Das, *Acute toxicity of ammonia and its sub-lethal effects on selected haematological and enzymatic parameters of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton)*, **Aquac. Res.**, 35 (2004) 134-143.
- [193] M. Ramaswamy, P. Thangavel and N. P. Selvam, *Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) enzyme activities in different tissues of *Sarotherodon mossambicus* (Peters) exposed to a carbamate pesticide, carbaryl*, **Pestic. Sci.**, 55 (1999) 1217-1221.
- [194] L. E. Okoumassoun, C. Brochu, C. Deblois, S. Akponan, M. Marion, D. Averill-Bates and F. Denizeau, *Vitellogenin in tilapia male fishes exposed to organochlorine pesticides in Ouémé River in Republic of Benin*, **Sci. Total Environ.**, 299:1-3 (2002) 163-172.
- [195] M. S. Diniz, I. Peres, I. Magalhães-Antoine, J. Falla and J. C. Pihan, *Estrogenic effects in crucian carp (*Carassius carassius*) exposed to treated sewage effluent*, **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 62:3 (2005) 427-435.
- [196] A. C. Johnson and J. P. Sumpter, *Removal of endocrine-disrupting chemicals in activated sludge treatment works*, **Environ. Sci. Technol.**, 35:24 (2001) 4697-4703.

- [197] C. Baronti, R. Curini, G. D'Ascenzo, A. Di Corcia, A. Gentili and R. Samperi, *Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water*, **Environ. Sci. Technol.**, 34:24 (2002) 5059-5066.
- [198] S. Gimeno, H. Komen, S. Jobling, J. Sumpter and T. Bowmer, *Demasculinisation of sexually mature male common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-tert-pentylphenol during spermatogenesis*, **Aquat. Toxicol.**, 43 (1998) 93-109.
- [199] S. Gimeno, H. Komen, A. G. M. Gerritsen and T. Bowmer, *Feminisation of young males of the common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-tert-pentylphenol during sexual differentiation*, **Aquat. Toxicol.**, 43 (1998) 77-92.
- [200] E. M. Hughes and E. P. Gallagher, *Effects of 17- β estradiol and 4-nonylphenol on phase II electrophilic detoxification pathways in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) liver*, **Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.**, 137:3 (2004) 237-247.
- [201] E. Vaccaro, V. Meucci, L. Intorre, G. Soldani, D. Di Bello, V. Longo, P. G. Gervasi and C. Pretti, *Effects of 17 β -estradiol, 4-nonylphenol and PCB 126 on the estrogenic activity and phase 1 and 2 biotransformation enzymes in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*)*, **Aquat. Toxicol.**, 75:4 (2005) 293-305.
- [202] M. Teles, M. Pacheco and M. A. Santos, *Sparus aurata L. liver EROD and GST activities, plasma cortisol, lactate, glucose and erythrocytic nuclear anomalies following short-term exposure either to 17 β -estradiol (E_2) or E_2 combined with 4-nonylphenol*, **Sci. Total Environ.**, 336:1-3 (2005) 57-69.

ÖZGEÇMİŞ

Abbas GÜNGÖRDÜ, 1976 yılında Durulova Köyü'nde (Malatya) doğdu. İlk ve orta öğrenimini doğduğu köyde, lise öğrenimini 1993 yılında Malatya Lisesi'nde tamamladı. 1997'de İnönü Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Öğretmenliği Bölümünden "Biyoloji Öğretmeni" olarak mezun oldu. Mart 1998'de Malatya Milli Eğitim Müdürlüğüne bağlı Gülümuşşığı İlköğretim Okulu'na sınıf öğretmeni olarak atandı, aynı yıl İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. 24 Kasım 2000'de (Öğretmenler Günü) öğretmenlik görevinden ayrılarak İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünde araştırma görevlisi olarak göreve başladı. 2001 yılında yüksek lisans öğrenimini tamamladı. Aynı yıl başladığı doktora öğrenimine halen devam etmektedir. Evli ve bir çocuk babasıdır.