



Kirli ve Temiz Bölgelerden Toplanan *Dreissena polymorpha* Bireylerinde Ağır Metal Birikimi ve Oksidatif Stres Duyarlılığının Belirlenmesi

Hasan KAYA^{1*}, Kahraman SELVİ², Mehmet AKBULUT¹, Müge DUYSAK³, Fatih AYDIN³

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Yenice Meslek Yüksekokulu

³Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Temel Bilimler Anabilim Dalı

*e-posta: hasankaya@comu.edu.tr

Geliş Tarihi: 18.09.2013 Kabul Tarihi: 04.12.2013

Özet: Bu çalışmada; su kirliliğinin *Dreissena polymorpha* türü üzerinde oluşturabileceği muhtemel oksidatif stres, su ve canlıda ağır metal birikimi ve canlıda biyomarkırlar birarada kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla, Sarıçay üzerinde kurulu olan Atikhisar Barajı ve Sarıçay'dan *D. polymorpha* bireyleri toplanmıştır. Toplanan *D. polymorpha* örneklerinin tür tayini yapıldıktan sonra ağır metal (Cu, Fe, Cd, Pb, Zn ve Mn) ve oksidatif stress göstergesi olan biyomarkır (Glutasyon, TBARS) analizleri yapılmıştır. Yapılan ağır metal analizlerine göre Atikhisar Barajı'nda metal kirliliği belirlenmezken, Sarıçay'dan alınan örneklerde belirli düzeyde kirlilik tespit edilmiştir. Sarıçay'da su kalitesinin bozulmasına paralel olarak *D. polymorpha* bireylerinde glutasyon (GSH) seviyesinde Atikhisar Barajı'na göre artışlar görülmüştür. Sarıçay'dan toplanan canlılarda belirlenen TBARS seviyeleri Atikhisar Barajı'ndan yakalanan bireylere göre daha yüksek olsa da, bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlar, su kirliliğinin *D. polymorpha* türünde oksidatif strese neden olduğunu ve canlının buna telafi mekanizmalarını çalıştırarak tepki verdiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Su kirliliği, *Dreissena polymorpha*, Biyomarkır, Atikhisar Barajı, Sarıçay

Determination of Heavy Metal Accumulation and Susceptibility to Oxidative Stress on *Dreissena polymorpha* caught from Polluted and Unpolluted Areas

Abstract: In this study, the possible oxidative stress of water pollution was assessed on *Dreissena polymorpha* using both biomarkers in organism and heavy metal accumulation in water and organism. For this aim, *D. polymorpha* individuals were collected in Atikhisar Reservoir and Sarıçay. Heavy metals (Cu, Fe, Cd, Pb, Zn and Mn) and biomarkers (Glutathione, TBARS) as an indicator of oxidative stress were analyzed, after the organisms were made species identification. According to the results of the heavy metal analysis, while heavy metal pollution was not determined in Atikhisar Reservoir, a certain level of pollution was found in the samples of Sarıçay. In parallel with deteriorate of the water quality in Sarıçay, glutathione (GSH) levels in *D. polymorpha* were increased compared to Atikhisar Reservoir. Although TBARS levels which were analyzed in the individuals in Sarıçay were determined higher than individuals in Atikhisar Reservoir, the results were not statistically significant. These results showed that water pollution caused oxidative stress on *D. polymorpha* and this organism responded by running the compensate mechanism for it.

Keywords: Water pollution, *Dreissena polymorpha*, Biomarker, Atikhisar Reservoir, Sarıçay

Giriş

Günümüzde doğal dengesi, insan ve hayvan hayatını tehdit eden en önemli tehlikelerin başında çevre sorunları gelmektedir. Ekosistem-insan dengesinin bozulmasına yol açan bu sorunların başlıca nedenleri; hızla gelişen nüfus artışı, sanayileşme ve çevre faktörünün göz ardı edilmesidir. Özellikle metallere ve pestisitlerden oluşan toksik maddeler; doğal veya antropojenik yollarla sucul ekosisteme taşınabilmeleri, çevre koşullarına dayanıklı olmaları ve kolaylıkla besin zincirine girerek biyomagnifikasyon göstermeleri sebebiyle kimyasal kirleticiler arasında ayrı bir önem taşımaktadır (Kaya, 2012).

Organizmaların kirleticilere uzun süreli maruz kalması sonucu bu maddeler ilk olarak canlıların doku ve organlarında birikim göstermektedir. İkincil olarak ise geri dönülemeyecek moleküler düzeyde olumsuz değişikliklere neden olabilmektedir. Ağır metaller gibi birçok kimyasal kirletici oksidatif strese neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesine olanak sağlamaktadır (Stoys ve Bagghi, 1995).

Organizmalar, hücresel bileşenlerde oksidatif hasarı en aza indirmek için, antioksidan savunmalar geliştirmiş olup; enzimatik ya da enzimatik olmayan antioksidanlar ile artan ROS üretimine uyum sağlayabilmektedir (Livingstone, 2003). Aşırı

ROS üretimi sonucu oluşan antioksidan savunma mekanizmasının yetersizliği, önemli enzim inaktivasyonunu da içeren oksidatif hasarlara, protein bozulmalarına, DNA hasarlarına ve lipid peroksidasyona neden olabilmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Özellikle oksidatif stresin ana mekanizmalarından biri olan lipid peroksidasyon; doku hasarına, hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve hücre membranlarındaki fiziko-kimyasal özelliklerin değişimine neden olmaktadır. Sonuçta hücrenin hayati fonksiyonlarında hasarlar görülmektedir (Rikans ve Hornbrook, 1997).

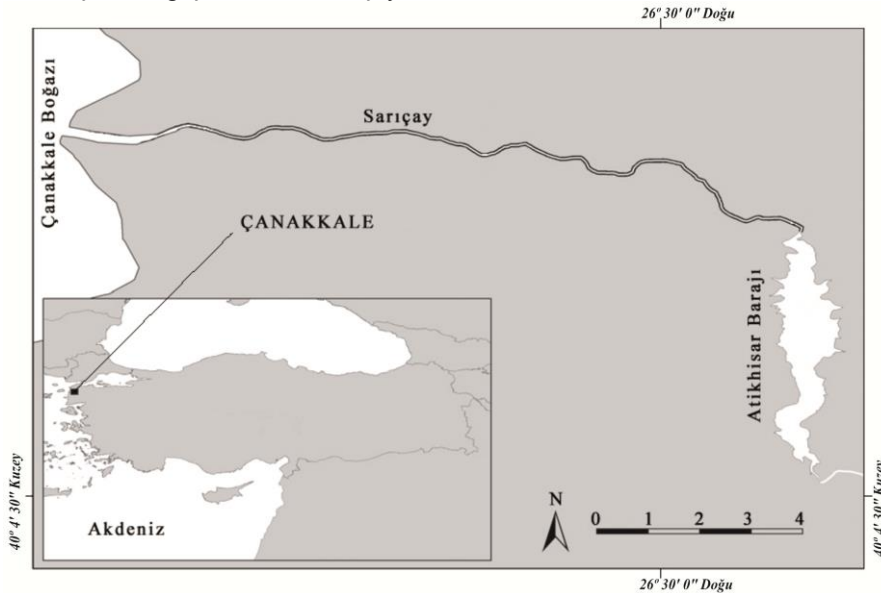
Zebra midye (*Dreissena polymorpha*) (Pallas,1771), tatlı su ekosistemlerinde, ağır metallerin (Kraak ve ark., 1991; Johns ve Timmerman, 1998), organik bileşiklerin (Becker ve ark., 1992) ve organik mikro kirleticilerin (Hendricks, 1998) değerlendirilmesinde başarıyla kullanılan biyoindikatör bir türdür (Camusso ve ark., 2001). Suyu süzerek beslenen *D. polymorpha* bireyleri, larval aşamada planktonik oldukları için geniş yayılım gösterirler. Sesil olarak yaşayan ergin bireyleri bulanıklık, acı su ekosistemi ve birçok kirlenmeye karşı toleranslıdır.

Sarıçay, Kaz Dağlarından doğup, özellikle Atikhisar Barajı'ndan sonra tarım arazileri ve yerleşim yerlerinin içinden geçmektedir. Sarıçay

üzerinde kurulmuş olan Atikhisar Barajı ise Çanakkale İlinin içme suyu ihtiyacını karşılamaktadır. Günümüze kadar, Atikhisar Barajı ve Sarıçay'da ağır metal kirliliğinin omurgasız fizyolojisi üzerine etkilerini ve ağır metal birikimini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada suda ve omurgasız canlı dokuda ağır metal analizleri ile dokuda biyomarkör analizleri birleştirilerek canlıların kirliliğe verdiği fizyolojik tepkiler ölçülmüştür.

Materyal ve Metot

Atikhisar Barajı; su taşkınlarını önleme, tarımsal sulama ve içme suyu teminini sağlamak amacıyla Sarıçay üzerine kurulmuştur (Akbulut ve ark., 2010). Sarıçay ise, mevsimlere göre debisi ve su taşıma kapasitesi değişen bir çaydır. 15-1300 m³/s akış hızına ve 40 km uzunluğa sahip olan çay; Kazdağı'ndan doğup Çanakkale şehir merkezini geçerek Çanakkale Boğazı'na dökülmektedir. Bu nedenle evsel, endüstriyel ve tarımsal kirliliğe maruz kalmaktadır (Akbulut ve ark., 2010). 2012 yılının yaz mevsiminde yapılan çalışmada belirlenen iki örnekleme istasyonu Şekil 1'de gösterilmiştir. Atikhisar Barajı I. istasyon (S1), Sarıçay ise II. istasyon (S2) olarak seçilmiştir.



Şekil 1. Atikhisar Barajı ve Sarıçay, Çanakkale

Seçilen bu istasyonlardan su örnekleri alınmış ve bentik makro omurgasızlar toplanmıştır. Canlılar taşların üzerinden ve altından elle toplanmıştır. Daha sonra örneklerin, Olympus marka stereo mikroskop altında teşhisleri yapılmıştır. Su örneklerinin alınmasında 1 ve 2 litrelik polietilen

kaplar kullanılarak 4°C'de muhafaza edilmiş ve 24 saat içinde analizler gerçekleştirilmiştir.

Metal analizleri (Su ve Organizma)

Alınan su örnekleri laboratuvara getirildikten sonra 45µ' luk şırınga filtre ile süzölmüştür. Süzölen örneklerin metal tayinleri Varian Liberty Sequential

marka ICP-OES cihazında yapılmıştır. Organizmaların yaş ağırlıkları alındıktan sonra 100 °C etüvde 24 saat kurutulmuştur. Etüvden alınan örneklerin kuru ağırlıkları tartılmış ve yakma ünitesine alınarak 5 ml nitrik asit ilavesiyle hot-plate üzerinde 70 °C 'de 2 saat boyunca yaş yakma işlemine tabi tutulmuştur. Örneklerin tamamı homojen olarak yakıldıktan ve soğutulduktan sonra 45µ' luk şırınga filtreden süzülerek saf su ile 25 ml'ye tamamlanmıştır (Smith ve ark., 2007). Daha sonra örneklerin, dokudaki metal tayini Varian Liberty Sequential marka ICP-OES cihazında yapılmıştır.

Biyomarkır Analizleri

Tiyobarbiturik Asit ile Tepkimeye Giren Maddeler (TBARS)

TBARS analizi Camejo ve ark., 1998 metoduna göre yapılmıştır. Kısaca, tüm çözeltiler hazırlandıktan sonra mikrolpaka içerisine ilk önce her bir kuyucuğa 140 µl fosfat buffer koyulmuştur. Üzerine 50 µl TCA ilave edilmiştir. Bunların üzerine her bir standart ve örnekten 200 µl alınarak 3 tekerrürlü olmak üzere hürelere koyulmuştur. Daha sonra 75 µl TBA ilave edildikten sonra mikrolpakanın üzeri kapatılarak 60°C'de etüvde 1 saat inkübe edilmiştir. Sonra mikrolpaka okuyucusunda (Thermo scientific mikrolpaka okuyucu) 530 nm dalga boyunda okutulmuştur. Sonuçlar aynı dokulardan protein analizi (Bradford, 1976) yapılarak protein içerisindeki TBARS olarak yorumlanmıştır.

Glutatyon(GSH)

GSH analizi (Owens ve Belcher, 1965) metoduna göre yapılmıştır. Mikrolpaka okuyucuda yapılan deneyde, plakanın tüm kuyucuklarına ilk olarak 20 µl DNTB konulmuştur. Sonra ilk kuyucuklara 40'ar

µl kör örnek ve standartlar, diğerlerine homojenattan konulmuştur. Daha sonra tüm kuyucukların üzerine 20 µl Glutatyon reduktaz ve 260 µl buffer ilave edilmiştir. Tüm kimyasallar dengelendikten sonra multipipetle reaksiyonu başlatan 20 µl NADPH ilave edilmiştir. Kinetik enzimin başlangıç ve bitiş aşamalarını gözlemleyebilmek için 10 dk boyunca her 10 sn' de bir okuma alınmıştır. Analiz sonuçları reaksiyonun durduğu noktadaki absorbanstan başladığı noktadaki absorbanstan çıkarılması ile elde edilmiştir (Owens ve Belcher 1965). Aynı örneklerden protein analizinde yapılarak sonuçlar protein içerisindeki GSH olarak verilmiştir.

İstatistiksel Analizler

Çalışmada ölçülen her bir parametre ortalama±standart hata olarak gösterilmiştir. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi SPSS 19.0 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İstasyonlardan alınan su ve doku örneklerindeki metal seviyeleri ile biyomarkır sonuçlarını karşılaştırmak için Student t-testi analizi yapılmıştır. Gruplar arasındaki fark p<0,05 olarak değerlendirilmiştir (Logan, 2010).

Sonuçlar

Atikhisar Barajı'ndan (S1) ve Sarıçay'dan (S2) alınan su örneklerinde ölçülen metal konsantrasyonları Tablo 1' de verilmiştir. Atikhisar Barajı'ndan alınan su örneklerinde kurşun ve kadmiyum ölçülebilir sınırların altındadır. Ayrıca su örneklerindeki metal düzeyleri Sarıçay'da daha yüksek konsantrasyonlarda hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre; incelenen tüm metallerin istasyonlar arasındaki farkı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05).

Tablo 1. Atikhisar Barajı ve Sarıçay'dan alınan su örneklerinde belirlenen metal konsantrasyonları (mg L⁻¹)

	Zn	Pb	Cd	Fe	Cu	Mn
Atikhisar	0,118±0,016	ö.d	ö.d	0,375±0,037	0,021±0,001	0,037±0,006
Sarıçay	0,414±0,004*	0,025±0,003*	0,002±0,001*	0,887±0,043*	0,047±0,002*	0,110±0,011*

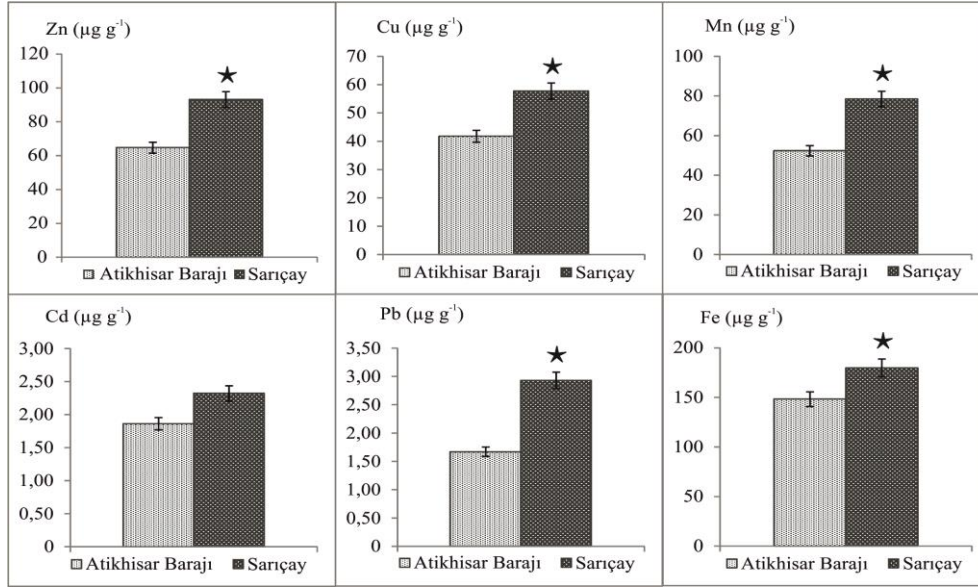
(Yıldız ile gösterilen istasyonlar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır, p<0,05). ö.d: Ölçülemeyecek düzeyde

S1 ve S2 istasyonlarından toplanan zebra midyelerdeki metal konsantrasyonları, Şekil 2 'de karşılaştırılmalı olarak verilmiştir. S1 ve S2 istasyonlarında ölçülen çinko metali sırasıyla; 64,69 µg g⁻¹, 93,12 µg g⁻¹ olarak tespit edilmiş olup; istasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05). Kurşun; S1 istasyonunda 1,67 µg g⁻¹, S2 istasyonunda 2,93 µg g⁻¹ olarak ölçülmüş ve istasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak

önemli bulunmuştur (p<0,05). Bununla birlikte S1 ve S2 istasyonlarında ölçülen metal değerleri sırasıyla; bakır için 41,74 µg g⁻¹ ve 57,69 µg g⁻¹; mangan için 52,32 µg g⁻¹ ve 78,45 µg g⁻¹; demir için 148,25 µg g⁻¹ ve 179,67 µg g⁻¹ olarak bulunmuştur. Zebra midye dokularında Cu, Mn ve Fe metalleri için istasyonlar arası farklar önemlidir (p<0,05). Diğer taraftan, S1 ve S2 istasyonlarından toplanan zebra midye örneklerindeki kadmiyum

birikimleri sırasıyla 1,86 $\mu\text{g g}^{-1}$, 2,32 $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak ölçülmüş olup; istasyonlar arasındaki fark

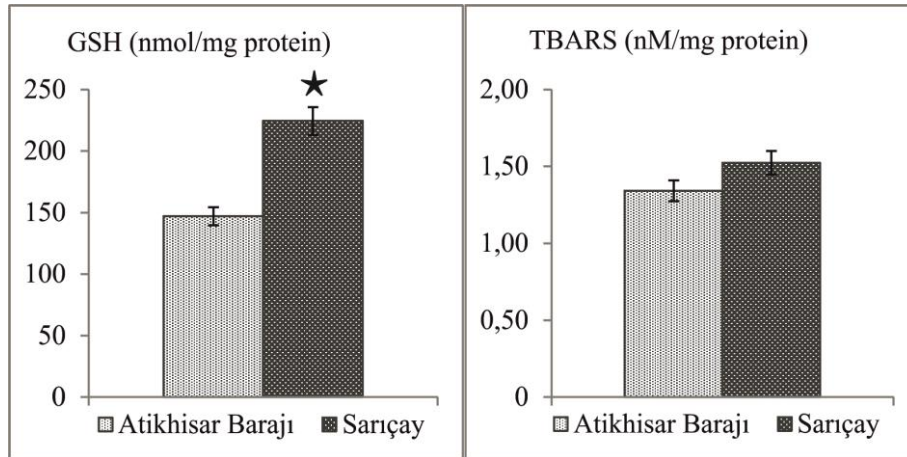
istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).



Şekil 2. Atikhisar Barajı ve Sarıçay'dan toplanan *Dreissena polymorpha* bireylerindeki ağır metal konsantrasyonlarının t-testi ile karşılaştırılması (Yıldız ile gösterilen istasyonlar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$)).

S1 ve S2 istasyonlarından toplanan zebra midyelerin dokularında hesaplanan GSH ve TBARS seviyeleri Şekil 3 'te karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. S1 istasyonundaki midyelerin GSH seviyeleri 147,11 nmol/mg protein; S2 istasyonundaki midyelerin GSH seviyeleri 224,50 nmol/mg protein olarak ölçülürken, istasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı

bulunmuştur ($p<0,05$). Bununla birlikte S1 ve S2 istasyonlarından alınan zebra midyelerin TBARS seviyeleri sırasıyla; 1,342 ve 1,524 nM/mg protein olarak hesaplanmıştır. Sarıçay'dan toplanan zebra midyelerde TBARS seviyesi daha yüksek çıksa da bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 3. Atikhisar Barajı ve Sarıçay'dan toplanan *Dreissena polymorpha* bireylerindeki GSH ve TBARS düzeylerinin t-testi ile karşılaştırılması (Yıldız ile gösterilen istasyonlar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır, $p<0,05$).

Tartışma

Bu çalışmada Sarıçay'dan toplanan *D. polymorpha* bireylerinde ve alınan su numunelerinde tespit edilen ağır metal düzeyleri Atikhisar Barajı örneklerine göre daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar; Sarıçay'ın Atikhisar Barajı'ndan sonra şehrin içinden geçen kısmının evsel ve endüstriyel kirliliğe maruz kalmasından ve iklim şartlarına bağlı olarak akıntının az olmasından kaynaklanmaktadır.

Zebra midye suyu süzerek beslenen ve genellikle toksikantları besinlerle beraber alan bir organizmadır. Atılım, depolama ve detoksifikasyon mekanizmalarının alınımı karşılamadığı durumlarda; vücuda giren metaller, bu canlıların farklı doku ve organlarında birikim göstermektedir (Kalay ve ark., 2004). Birçok organizma antioksidan savunma sistemleri, detoksifikasyon mekanizmaları ve oksidan-antioksidan dengesini koruyarak hücresel temel bir savunma mekanizması geliştirmiştir. Enzim aktiviteleri, çevresel stres koşullarına verilen ilk cevaplar olduğu için en hızlı belirteçler olarak kabul edilmektedir (Depledge ve Fossi, 1994). Kirleticilerin organizmalardaki toksisitesinde serbest radikal prosesleri ve antioksidan savunma sistemi arasındaki ilişkinin önemli olduğu bildirilmektedir (Livingstone, 2001). Bu çalışmada; Sarıçay'da sudaki ve omurgasız canlıdaki ağır metal yükünün artışına paralel olarak antioksidan savunma sisteminin önemli bir basamağını oluşturan GSH düzeyinde önemli derecede artma görülmüştür. Sarıçay'da su ve dokuda ölçülen yüksek metal seviyelerinin ROS üretiminde artışa neden olduğu ve bu ılımlı oksidatif stres koşullarında canlı dokularında GSH seviyelerinin yükseldiği görülmektedir. Llobregat Nehri'nde (Kuzeydoğu-İspanya) yapılan benzer bir çalışmada (Barata ve ark., 2005), ağır metal kirliliğinin bulunduğu bölgelerde temiz bölgelere göre *Hydropsyche exocellata* türünde oksidatif stres oluşumuna ve antioksidan enzim aktivitelerinde ciddi oranlarda değişimlere rastlamışlardır. Piediluco Gölü'nde (İtalya) yapılan diğer bir çalışmada (Elia ve ark., 2007), *Lophopus crystallinus* türünde antioksidanlardan glutatyon, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon reduktaz ve katalazda meydana gelen artışların yüksek düzeyde tespit edilen ağır metal kirliliği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Stohs ve Bagghi (1995); demir (Fe), bakır (Cu) ve mangan (Mn) gibi geçiş metallerinin fenton reaksiyonlarıyla anyon ve hidrojen peroksitin yüksek reaktivitedeki hidrosil radikaline dönüşümünü kolaylaştırarak lipid peroksidasyon başlangıcını tetikleyebileceğini bildirmektedir. Ayrıca kadmiyum (Cd) ve kurşun (Pb) gibi canlı fizyolojisinde rolü bulunmayan diğer metallerin

dolaylı olarak oksidatif strese neden olabildiği belirtilmektedir. Bu metaller glutatyon stoklarını tüketerek ya da indüklenmiş metal iyonlarının yerine redoks metal iyonlarının geçmesiyle etkili olmaktadır (Stohs ve Bagghi, 1995).

Bu çalışmada, Sarıçay'dan toplanan zebra midyelerde Atikhisar Barajı'ndan toplananlara göre TBARS düzeyinde hafif artmalar görülmüştür. Bu artışlar lipid peroksidasyonun başlangıcı olarak yorumlanabilir. Oksidatif stres serbest oksijen radikallerini artırır ya da antioksidan savunma sistemini bozar. Oksidatif stresten etkilenen antioksidanlar uyarılarak veya inhibe olarak ROS oluşumu ve hücre hasarını koruma kapasitelerini kaybedebilirler (Kavitha ve Rao, 2009). Kirleticilerin lipid peroksidasyona ve dokularda negatif fizyolojik etkilere sebep olduğu bilinmektedir (Datta ve ark., 1992). Çalışmamızda, Sarıçay'dan toplanan bireylerde artan GSH ve TBARS düzeyleri oksidatif stres oluşumunu göstermektedir. GSH'da meydana gelen artışlar serbest oksijen radikallerinin temizlenmeye çalışıldığını gösterse de, lipid peroksidasyon oluşumu ROS'un tam olarak temizlenemediği şeklinde yorumlanabilir.

Aquatik ekosistemlerde, oksidan-antioksidan seviyelerinde görülen değişimler direk ağır metal kirliliği ile ilişkili olabileceği gibi metallerle beraber etki yapabilen diğer çevresel stres faktörleri de bu değişimlerde etkili olabilir. Çözünmüş oksijen düzeyi, sıcaklık, tuzluluk ve organik kirleticilerin varlığı gibi çevresel faktörler organizmaların oksidan-antioksidan durumunu değiştirebilmektedir (Livingstone, 2003). İleride yapılacak çalışmalarda, bu stres faktörleri de göz önünde bulundurularak, uzun süreli izleme çalışmaları yapılması gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) komisyonu 2013/51 nolu proje tarafından desteklenmiştir.

Referanslar

- Akbulut, M., Kaya, H., Çelik, E.Ş., Odabaşı, D.A., Odabaşı, S.S., Selvi, K., 2010. Assessment of Surface Water Quality in the Atikhisar Reservoir and Sarıçay Creek (Çanakkale, Turkey). *Ekoloji*, 74: 139-149.
- Barata, C., Lekumberri, I., Vila-Escale, M., Prat, N., Porte, C., 2005. Trace metal concentration, antioxidant enzyme activities and susceptibility to oxidative stress in the tricoptera larvae *Hydropsyche exocellata* from the Llobregat river basin (NE Spain). *Aquatic Toxicology*, 74: 3-19.
- Becker, K., Merlini, L., de Bertrand, N., de Alencastro, L.F., Tarra-dellas, J., 1992. Elevated levels of

- organotins in lake Geneva: bivalves as sentinel organism. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.*, 48: 37-44.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of protein utilizing the principle of dye-protein binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Camejo, G., Wallin, B., Enojarvi, M., 1998. Analysis of oxidation and antioxidants using microtiter plates. in free radical and antioxidant protocols. (ed. D. Armstrong), *Methods in Molecular Biology*, 108: 377-386.
- Camusso, M., Balestrini, R., Muriano, F., Mariani, M., 1994. Use of freshwater mussel *Dreissena polymorpha* to assess trace metal pollution in the lower river Po (Italy). *Chemosphere*, 29: 729-745.
- Datta, R., Hallahan, D.E., Kharbanda, S.M., Rubin, E., Sherman, M.L., Huberman, E., Weichselbaum, R.R., Kufe, D.W., 1992. Involvement of reactive oxygen intermediates in the induction of c-jun gene transcription by ionizing radiation. *Biochemistry*, 31: 8300-8306.
- Depledge, M.H., Fossi, M.C., 1994. The role of biomarkers in environmental assessment invertebrates. *Ecotoxicology*, 3: 161-172.
- Elia, A.C., Galarinib, R., Dörra, A.J.M., Taticchia, M.I., 2007. Heavy metal contamination and antioxidant response of a freshwater bryozoan (*Lophopus crystallinus* Pall., Phylactolaemata). *Ecotoxicology and Environmental Safety.*, 66: 188-194.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1999. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, Oxford.
- Hendriks, A.J., Pieters, H., de Boer, J., 1998. Accumulation of metals, polycyclic (halogenated) hydrocarbons, and biocides in zebra mussel and eel from the Rhine and Meuse rivers. *Environmental Toxicology and Chemistry.*, 17: 1885-1898.
- Johns, C., Timmerman, B.E., 1998. Total cadmium, copper, and zinc in two dreissenid mussels, *Dreissena polymorpha* and *Dreissena bugensis*, at the out flow of Lake Ontario. *Journal of Great Lakes Research*, 24: 55-64.
- Kalay, M., Koyuncu, C.E., Dönmez, A.E., 2004. Mersin Körfezinden yakalanan *Sparus aurata* (L. 1758) ve *Mullus barbatus* (L. 1758)'un kas ve karaciğer dokularındaki kadmiyum düzeylerinin karşılaştırılması. *Ekoloji*, 13(52): 23-27.
- Kavitha, P., Rao, J.V., 2009. Sub-lethal effects of profenofos on tissue-specific antioxidative responses in a Euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1727-1733.
- Kaya H., 2012. Tilapia'da (*Oreochromis mossambicus*) Kurşun Toksikitesi: Oksidatif Stres ve Bazı Fizyolojik Etkiler. Doktora Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Kraak, M.H.S., Scholten, M.C.T., Peeters, W.H.M., De Kock, W.C., 1991. Biomonitoring of heavy metals in the Western European rivers Rhine and Meuse using the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Environmental Pollution*, 74: 101-114.
- Livingstone, D.R., 2001. Contaminated-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin Journal*, 42: 656-666.
- Livingstone, D.R., 2003. Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue De Medecine Veterinaire*, 154: 427-430.
- Logan, M., 2010. *Biostatistical design and analysis using a practical guide*. Wiley-Blackwell, London.
- Owens, C.W.I., Belcher, R.V., 1965. A colorimetric micro-method for determination of glutathione. *Biochemical Journal*, 94: 705-711.
- Rikans, L.E., Hornbrook, K.R., 1997. Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1362: 116-127.
- Smith, C., Shaw, B., Handy, R.D., 2007. Toxicity of single walled carbon nanotubes to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Respiratory toxicity, organ pathologies and other physiological effects. *Aquatic Toxicology*, 82(2): 94-109.
- Stohs, S.J., Bagchi, D., 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metals ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 2: 321-336.