

## PAPER DETAILS

TITLE: Glutasyon ile Iliskili Enzim Sistemleri Kullanilarak Oreochromis niloticus'ta Civa Toksisitesi  
Üzerine Antioksidan Olarak Selenyum ve Mineral Olarak Zeolitin Koruyucu Etkilerinin Arastirilmesi

AUTHORS: Özge FIRAT, Ferit KARGIN

PAGES: 306-316

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/1318646>

## Glutasyon ile İlişkili Enzim Sistemleri Kullanılarak *Oreochromis niloticus*'ta Cıva Toksisitesi Üzerine Antioksidan Olarak Selenyum ve Mineral Olarak Zeolitın Koruyucu Etkilerinin Araştırılması

Özge FIRAT<sup>1\*</sup>, Ferit KARGIN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Adıyaman Üniversitesi, Kahta Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Kahta, Adıyaman

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adana

\*Sorumlu yazar: [ozfirat@adiyaman.edu.tr](mailto:ozfirat@adiyaman.edu.tr)

**Araştırma Makalesi**

Geliş 30 Eylül 2020; Kabul 09 Mayıs 2021; Basım 01 Eylül 2021.

**Alıntılamı:** Firat, Ö., & Kargin, F. (2021). Glutasyon ile ilişkili enzim sistemleri kullanılarak *Oreochromis niloticus*'ta cıva toksisitesi üzerine antioksidan olarak Selenyum ve mineral olarak Zeolitın koruyucu etkilerinin araştırılması. *Acta Aquatica Turcica*, 17(3), 306-316. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.802614>

### Özet

Cıva yeryüzündeki en toksik ağır metallerden biridir. Selenyum canlılar için gerekli olan ve antioksidan özellikleri de bulunan bir elementtir. Zeolit ise sucul ortamlarda ağır metallerin uzaklaştırılmasında yaygın bir şekilde kullanılan bir mineraldir. Bu çalışmada *Oreochromis niloticus*'un dokularındaki glutasyon (GSH) ve GSH ile ilişkili enzim sistemleri üzerine cıvanın toksik etkileri ve bu biyokimyasal toksite üzerine selenyumun ve zeolitın olası koruyucu etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla balıklar 0,01 ve 0,1 mg/L cıva; 0,01 mg/L cıva+0,1 mg/L selenyum, 0,1 mg/L cıva+1,0 mg/L selenyum ve 0,01 mg/L cıva+ 0,1 g/L zeolit, 0,1 mg/L cıva+1,0 g/L zeolit derişimlerinin etkisine 7 ve 21 gün süreler ile bırakılmış ve solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki GSH düzeyi ve glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon-S-transferaz (GST) ve glutasyon redüktaz (GR) enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Cıvanın tek başına ve cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde incelenen tüm biyokimyasal parametrelerde dokulara, ortam derişimlerine ve etki süresine bağlı olarak önemli değişimler saptanmıştır. Solungaç ve karaciğerde GSH düzeyi ve GR aktivitesi azalma, GPx ve GST aktiviteleri ise artış göstermiştir. Kasta ise GST dışındaki parametrelerde önemli bir değişim gözlenmemiştir. İncelenen tüm parametreler üzerine tek başına cıva etkisinin selenyum ve zeolit ile birlikte etkisine göre daha yüksek ve kimyasalların etkilerinin genel olarak Hg>Hg+Zeolit>Hg+Se şeklinde olduğu saptanmıştır. Araştırma sonuçlarımız *O. niloticus*'ta cıvanın neden olduğu toksite üzerine selenyum ve zeolitın koruyucu bir etkiye sahip ve selenyumun zeolite oranla koruyuculuk etkisinin biraz daha fazla olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Oreochromis niloticus*, Cıva, Selenyum, Zeolit, Glutasyon

### Investigation of Protective Effects of Selenium as Antioxidant and Zeolite as Mineral on Mercury Toxicity in *Oreochromis niloticus* Using Glutathione-Related Enzyme Systems

#### Abstract

Mercury is one of the most toxic heavy metals on earth. Selenium is an element that is essential for living things and has antioxidant properties. Zeolite is a mineral commonly used in the removal of heavy metals in aquatic environments. In this study, it was aimed to determine the toxic effects of mercury on glutathione (GSH) and GSH-related enzyme systems and the possible protective effects of selenium and zeolite on this biochemical toxicity in tissues of *Oreochromis niloticus*. For this purpose fish were exposed to 0.01 and 0.1 mg/L mercury; 0.01 mg/L mercury+0.1 mg/L selenium, 0.1 mg/L mercury+1.0 mg/L selenium and 0.01 mg/L mercury+ 0.1 g/L zeolite, 0.1 mg/L mercury+1.0 g/L zeolite for 7 and 21 days and GSH level and activities of glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferase (GST) and glutathione reductase (GR) in gill, liver and muscle tissues were determined. Significant alterations in GSH level and GSH-related enzymes activities in the exposure of Hg alone, Hg+Se, and Hg+zeolite mixtures were observed due to tissues, medium concentrations, and exposure period. In the gill and liver tissues, GSH level and GR activity reduced while GPx and GST activities increased. In the muscle, it was not observed a significant change in other parameters except for the GST. The effect of Hg alone on analyzed all parameters were higher than in combination with Se and zeolite and the order of their effects found Hg>Hg+zeolite>Hg+Se. Our research results show that selenium and zeolite have a protective effect on the toxicity caused by mercury in *O. niloticus* and that selenium has a slightly more protective effect than zeolite.

**Keywords:** *Oreochromis niloticus*, Mercury, Selenium, Zeolite, Glutathione

## GİRİŞ

Endüstriyel ve tarımsal faaliyetlerin artmasına bağlı olarak toksik ağır metallerin akuatik ortamlardaki konsantrasyonları da artış göstermektedir (Fırat vd, 2018). Cıva (Hg) organizmada herhangi bir biyolojik rolü bulunmayan ve çok düşük düzeylerde bile toksik etkisini gösterebilen oldukça tehlikeli bir metaldir. Hg tüm canlılar üzerine oldukça zararlı etkileri olan küresel bir kirletici olarak kabul edilmektedir (ATSDR, 2020). Küresel bir sorun olmasının ana nedenleri biyolojik bulunurluğu ve biyobirikiminin yüksek, lipofilik karakterli, hücrel toksisiteye sahip, vücutta parçalanamaması ve uzaklaştırılmasının zor olmasından kaynaklanmaktadır (Yang vd., 2010; Fırat ve Kaya, 2019).

Selenyum (Se) selenite, selenate, selenomethionin ve selenosistein gibi çeşitli biçimlerde bulunmakta ve glutatyon peroksidaz, iodothyronin 5'-deiosinaz ve thioredoksin reduktaz gibi çeşitli enzimlerin yapısında yer aldığından başta insan olmak üzere birçok canlı organizma için önemli bir element olarak düşünülmektedir (Su vd., 2008). Se insanlarda ve diğer hayvan türlerinde birçok biyolojik fonksiyona sahiptir. Se'nin bazı önemli biyolojik aktiviteleri şunlardır: organizmaların normal büyüme ve gelişimleri için bu elementin iz derişimlerine gereksinim duyulmaktadır (1), homeostatik işlevlerin korunmasında ve sürdürülebilirliğinde görevlidir (2), güçlü bir antioksidan ve antikanser özelliğe sahiptir (3), immün sistem için gereklidir (4) (Hamilton, 2004; Cogun vd., 2012).

Zeolitler çevrede düzenleyici etkisi olan minerallerden olup yüksek iyon değıştirme kapasitelerinden dolayı sucul organizmalarda ağır metal toksisitesini önlemek için geniş bir şekilde kullanılmaktadırlar (Papaioannou vd., 2005). Doğal bir mineral olup volkanik küller ve deniz suyu kombinasyonunda binlerce yılda oluşmaktadır (Mishra ve Jain, 2011). Zeolitler üç boyutlu mikro gözenekli yapısı sayesinde oluşan boşluk hacmi toplam hacmin yaklaşık %50'sine kadar tekabül edebilmekte ve boşluğun yapısına ve büyüklüğüne bağlı olarak  $Cs^+$ ,  $Rb^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $Sr^+$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Na^+$ ,  $Al^{+3}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$  gibi element ve molekülleri seçici şekilde boşluklarında tutabilmektedirler (Mishra ve Jain, 2011).

Çoğu çevresel kirleticiler ve onların metabolitleri akuatik organizmalarda oksidatif stres oluşturma yeteneğindedir. Metaller, balıklarda hidrojen peroksit, hidroksil ve süperoksit radikalleri gibi serbest oksijen türlerini (ROT) oluşturarak oksidatif strese neden olabilmektedirler (Fırat vd. 2009). Balıklarda kirleticilere karşı oluşan antioksidan sistemler önemli savunma mekanizmalarıdır. Antioksidanlar hücrel homeostazinin korunmasında hayati bir rol oynamakta ve bu savunma sisteminin engellenmesi durumunda DNA hasarı, proteinlerin oksidasyonu, enzimlerin inhibisyonu ve lipid peroksidasyonu gibi hücrel hasarlara neden olan oksidatif stres oluşmaktadır. GSH ve GSH ile ilişkili enzim sistemleri, balıklardaki en önemli antioksidan sistemlerden biridir (Zirong ve Shijun, 2007). Bu sistemde, GSH bir kofaktör olarak GST ya da Se bağlı GPx yoluyla peroksitleri uzaklaştırarak, serbest radikallerin enzimatik olmayan redüksiyonu ya non-enzimatik olarak ya da GST aracılığıyla ksenobiyotiklerin konjugasyonu gibi çeşitli yollarla balıkları oksidatif hasara karşı korumaktadır (Zirong ve Shijun, 2007; Fırat vd., 2009).

GSH ve onunla ilişkili enzimler (GPx, GR, GST gibi) hücre içinde koruyucu bir rol oynamaktadır (Elia vd., 2003). Gerçekten de kendiliğinden ya da GST'nin katalizlediği reaksiyonla bir ksenobiyotiğe GSH'ın konjugasyonu ksenobiyotiğin aksiyonunu azaltabilmekte bu moleküllerin suda daha çok çözünmesini sağlayarak hızlı bir şekilde vücuttan atılmasına neden olabilmektedir. GR, GSH'ın rejenarasyonunda GPx ile iş birliği halindedir. Hücrelerde GSH'ın antioksidan rolü konsantrasyonuna, dönüşümüne ve sentezlenme oranına bağlıdır (Fırat vd., 2009). GSH'ın dönüşümü GSH'ın redoks döngüsü ile olmaktadır. Bu süreçte GPx ve GR gibi enzimler önemli rol oynamaktadır (Zirong ve Shijun, 2007).

Balıklar su ortamlarının kirlenmesine çok duyarlı canlılardır. Ağır metallerin etkisindeki balıklarda biyokimyasal parametrelerin analizi hem organizmanın genel sağlık durumu hem de hedef organda oluşturabileceği toksik etkinin belirlenmesinde yararlı olmaktadır. Hg balıklar için en tehlikeli ağır metallerden biridir. Hg'nin bu canlılarda neden olduğu toksik etkileri azaltacak ya da iyileştirecek mekanizmalar hem balıklar hem de birinci dereceden besin kaynaklarını oluşturdukları insanlar için oldukça önemlidir. Bu nedenle sunulan bu çalışmada tatlı su balığı *Oreochromis niloticus*'ta cıvanın toksik etkileri ve bu toksisite üzerine bir antioksidan olarak selenyumun ve bir mineral olarak zeolit in koruyucu/iyileştirici etkileri GSH ve GSH ile ilişkili enzim sistemleri kullanılarak araştırılmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

Sunulan çalışmada araştırma materyali olarak *Oreochromis niloticus* kullanılmıştır. Balıklar, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi balık yetiştirme havuzlarından alınarak laboratuvara getirilmiş ve içerisinde 120 L bekletilmiş çeşme suyu bulunan 40x140x40 cm ebatlarındaki stok cam akvaryumlarda üç ay süre ile bekletilerek ortam koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre içerisinde deneyde kullanılacak balıklar 12,07±0,21 cm boy ve 32,81±0,72 g ağırlığa ulaşmıştır. Deneyler 25±1 °C sıcaklıkta yürütülmüştür. Günde sekiz saat aydınlanma periyodu uygulanmış ve merkezi havalandırma sistemi ile akvaryumlar havalandırılmıştır. Balıklar, ticari balık yemiyle (Pınar Balık Yemi, Türkiye) beslenmiştir. Denemeler başlamadan iki gün önce yem kesilmiş, denemeler süresince balıklar vücut ağırlıklarının %2'si kadar yem ile günde iki defa beslenmiştir. Deney ortam suyunun fizikokimyasal özellikleri; toplam sertlik 335,7±2,3 mg/L CaCO<sub>3</sub>, çözünmüş oksijen 7,49±0,15 mg/L, pH 8,21±0,07, sıcaklık 21,11±0,20 °C olarak ölçülmüştür.

Deneylerde kullanılan cıva çözeltileri 1M cıva klorür [(HgCl)<sub>2</sub>] (SIGMA) stok çözeltisinden, selenyum çözeltileri 1M sodyum selenit [(Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>)] (SIGMA) stok çözeltisinden ve zeolit çözeltileri (<75 mikron çapında, İstanbul Rota Madencilik AŞ) stok çözeltisinden seri seyreltmeler yöntemi ile hazırlanmıştır. Deneyler cıva, cıva + selenyum ve cıva + zeolit karışımları dikkate alınarak üç seri olacak şekilde yürütülmüştür. Deneyler her bir seride içerisinde 12 adet balık bulunan üç cam akvaryumda yapılmıştır. Balıklar birinci seride cıvanın 0,01 mg/L ve 0,1 mg/L; ikinci seride cıva + selenyumun 0,01 mg/L Hg + 0,1 mg/L Se ve 0,1 mg/L Hg + 1,0 mg/L Se ve üçüncü seride ise cıva + zeolit 0,01 mg/L Hg+0,1 g/L zeolit ve 0,1 mg/L Hg+1,0 g/L zeolit derişimlerinin etkisine 7 ve 21 gün sürelerle bırakılmıştır. *O. niloticus* için Hg'nin 96 saat-LC<sub>50</sub> değeri 0,2 mg/L olarak saptanmıştır (Ishikawa vd., 2007). Çalışmamızda test edilen Hg'nin 0,01 ve 0,1 mg/L derişimleri, bu LC<sub>50</sub> değerinin sırasıyla 1/20 ve 1/2'si baz alınarak subletal konsantrasyonlar olarak seçilmiştir.

Deneylerde birinci seride bulunan 3 akvaryumun ikisine 120 L farklı Hg çözeltileri; ikinci serideki 3 akvaryumun ikisine Hg+Se karışımları; üçüncü serideki 3 akvaryumun ikisine ise Hg+zeolit karışımları konulmuş, her serideki üçüncü akvaryuma ise 120 L dinlenmiş çeşme suyu konarak kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Deneyler altı tekrarlı olarak ve her tekrarda bir balık kullanılarak yürütülmüştür. Deney akvaryumlarında kullanılan kimyasal çözeltilerinin derişimlerinde buharlaşma, adsorbsiyon ve akümülyasyon gibi nedenlerle değişim olabileceği dikkate alınarak çözeltiler birer gün arayla taze hazırlanan stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiştir.

Denenen süreler sonunda deney akvaryumlarından rastgele seçilen balıklar, çeşme suyuyla yıkanarak temizlenmiş, yüzeylerinde bulunan su damlacıkları kurutma kağıdıyla alınmış ve boy ve ağırlıkları saptanarak diseksiyona hazır hale getirilmiştir. Balıklar diseksiyondan önce spinal yapılarak öldürülmüştür. Steril aletlerle solungaç, karaciğer ve kas dokuları buz üzerinde disekte edilmiş ve bir kısım dokular biyokimyasal analizler için % 0,59 NaCl ile yıkanarak ağırlıkları alındıktan sonra analize kadar -80'de muhafaza edilmişlerdir. Dokular 1/10 ağırlık/hacim (w/v) olacak şekilde içerisinde 0,25 M sükröz bulunan 0,05 M soğutulmuş Na-P tamponu (pH: 7,4) ile buz içerisinde ultraturrax homojenizatörde 3 dakika süreyle 10000 rpm'de homojenize edilmiştir. Homojenatlar +4 °C sıcaklıkta 30 dakika süreyle 10000 rpm'de santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatantlarda GPx, GST ve GR aktivitesi ile GSH ve protein düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. GPx aktivitesi Beutler (1984); GST aktivitesi Habig vd., (1974); GR aktivitesi Carlberg ve Mannervik (1975), GSH düzeyi Beutler (1984) ve toplam protein miktarı ise Lowry vd. (1951) önerdiği yöntemlere göre belirlenmiştir. Dokuların enzim aktiviteleri U/mg protein, GSH düzeyleri ise µmol/g protein olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistics 21 paket programı kullanılarak One Way-ANOVA ve takiben Student – Newman Keul's Test (SNK) ve student t Test kullanılarak yapılmıştır.

## BULGULAR

Cıva, cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının denenen tüm ortam derişimlerinde ve her iki etki süresinde *O. niloticus*'un dokularındaki GSH düzeyi ve GSH ile ilişkili enzim aktivitelerindeki değişimler Tablo 1-4'te verilmiştir. Denenen süreler dikkate alındığında GSH düzeyinde hem cıvanın tek başına hem de cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının tüm ortam derişimlerinde solungaçta önemli bir azalma izlenirken (Tablo 1, P<0,05), karaciğerde 21. günde düşük cıva ve cıva+selenyum ve cıva+zeolit derişimleri dışındaki diğer derişimlerinde önemli bir azalma saptanmıştır (Tablo 1,

P<0,05). Kas dokusunda ise denenen tüm kimyasalların ortam derişimlerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir (Tablo 1, P>0,05). 7 günlük süre sonunda 0,1 mg/L Hg ve 0,1 mg/L Hg +1,0 mg/L Se ve 0,1 mg/L Hg+1,0 g/L zeolit karışımının etkisinde GSH düzeyinde sırasıyla, solungaçta %53, %35 ve %40 ve karaciğerde ise %57, %40 ve %42 düzeyinde azalış görülmüştür. Bu durum, GSH düzeyinde saptanan azalmanın cıvanın selenyum ve zeolitle birlikte etkisine oranla doğrudan cıvanın etkisinde daha fazla olduğunu göstermektedir.

**Tablo 1.** Cıva (mg/L), cıva (mg/L)+selenyum (mg/L) ve cıva (mg/L)+zeolit (g/L) etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularında GSH düzeyi (μmol/g protein)

| Doku                 | 7 gün        | 21 gün       |
|----------------------|--------------|--------------|
| <b>Solungaç</b>      |              |              |
| Kontrol              | 1,69±0,04 ax | 1,77±0,03 ax |
| 0,01 Hg              | 1,02±0,05 bx | 1,30±0,02 by |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 1,28±0,03 cx | 1,25±0,04 bx |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 1,10±0,06 bx | 1,35±0,02 by |
| Kontrol              | 1,69±0,04 ax | 1,77±0,03 ax |
| 0,1 Hg               | 0,80±0,02 bx | 1,11±0,04 by |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 1,10±0,02 cx | 1,19±0,02 bx |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 1,01±0,03 cx | 1,07±0,06 bx |
| <b>Karaciğer</b>     |              |              |
| Kontrol              | 1,29±0,03 ax | 1,32±0,04 ax |
| 0,01 Hg              | 0,69±0,04 bx | 1,22±0,07 ay |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 0,97±0,02 cx | 1,25±0,06 ay |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 0,89±0,03 cx | 1,28±0,05 ay |
| Kontrol              | 1,29±0,03 ax | 1,32±0,04 ax |
| 0,1 Hg               | 0,55±0,03 bx | 0,82±0,03 by |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 0,78±0,04 cx | 1,07±0,02 cy |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 0,74±0,02 cx | 1,03±0,03 cy |
| <b>Kas</b>           |              |              |
| Kontrol              | 1,96±0,05 ax | 1,98±0,04 ax |
| 0,01 Hg              | 1,90±0,07 ax | 1,94±0,06 ax |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 1,93±0,06 ax | 1,92±0,08 ax |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 1,97±0,05 ax | 1,93±0,06 ax |
| Kontrol              | 1,96±0,05 ax | 1,98±0,04 ax |
| 0,1 Hg               | 1,92±0,04 ax | 1,93±0,04 ax |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 1,91±0,05 ax | 1,95±0,07 ax |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 1,95±0,03 ax | 1,96±0,05 ax |

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur (n=6). "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler "x ve y" harfleri ise aynı derişimdeki etkileşim süreleri arasındaki ayırımı göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir (P<0,05).

Belirlenen etki süreleri dikkate alındığında solungaç GPx aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 7 günlük süre sonunda 0,01 ve 0,1 mg/L Hg etkisinde artarken (P<0,05), cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde 7 ve 21 günlük süreler sonunda önemli bir değişim göstermemiştir (P>0,05) (Tablo 2). Karaciğer GPx aktivitesi her iki cıva ortam derişiminde ve denenen her iki süre sonunda önemli düzeyde artarken, cıva+selenyum karışımlarının yüksek ortam derişiminde, cıva+zeolit karışımlarının her iki derişiminde 7 günlük süre sonunda, arttığı belirlenmiştir (Tablo 2, P<0,05). 7 günlük süre sonunda Hg, Hg+Se ve Hg+zeolit gruplarının yüksek ortam derişiminin etkisinde karaciğer GPx aktivitesinde sırasıyla, %75, %29 ve %35 düzeyinde artış belirlenmiştir. Kas dokusunda ise hem cıvanın doğrudan hem de selenyum ve zeolit ile birlikte etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir (Tablo 2, P>0,05).

**Tablo 2.** Cıva (mg/L), cıva (mg/L)+selenyum (mg/L) ve cıva (mg/L)+zeolit (g/L) etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularında GPx aktivitesi (U/mg protein)

| Doku                 | 7 Gün        | 21 Gün       |
|----------------------|--------------|--------------|
| <b>Solungaç</b>      |              |              |
| Kontrol              | 0,55±0,02 ax | 0,53±0,04 ax |
| 0,01 Hg              | 0,68±0,01 bx | 0,52±0,03 ay |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 0,56±0,02 ax | 0,54±0,02 ax |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 0,57±0,01 ax | 0,51±0,02 ax |
| Kontrol              | 0,55±0,02 ax | 0,53±0,04 ax |
| 0,1 Hg               | 0,75±0,03 bx | 0,60±0,02 ay |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 0,54±0,03 ax | 0,57±0,04 ax |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 0,53±0,04 ax | 0,56±0,05 ax |
| <b>Karaciğer</b>     |              |              |
| Kontrol              | 0,48±0,03 ax | 0,49±0,02 ax |
| 0,01 Hg              | 0,72±0,04 bx | 0,64±0,02 bx |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 0,51±0,02 ax | 0,50±0,01 ax |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 0,58±0,01 cx | 0,63±0,03 bx |
| Kontrol              | 0,48±0,03 ax | 0,49±0,02 ax |
| 0,1 Hg               | 0,84±0,03 bx | 0,65±0,03 by |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 0,62±0,02 cx | 0,47±0,03 ay |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 0,65±0,01 cx | 0,50±0,02 ay |
| <b>Kas</b>           |              |              |
| Kontrol              | 0,22±0,03 ax | 0,21±0,02 ax |
| 0,01 Hg              | 0,20±0,02 ax | 0,21±0,03 ax |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 0,21±0,04 ax | 0,22±0,02 ax |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 0,20±0,04 ax | 0,20±0,03 ax |
| Kontrol              | 0,22±0,03 ax | 0,21±0,02 ax |
| 0,1 Hg               | 0,21±0,04 ax | 0,22±0,02 ax |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 0,21±0,02 ax | 0,23±0,03 ax |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 0,22±0,02 ax | 0,20±0,03 ax |

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur (n=6). "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler "x ve y" harfleri ise aynı derişimdeki etkileşim süreleri arasındaki ayırımı göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir (P<0,05).

Her iki etkileşim süresi dikkate alındığında solungaç GST aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 7 günlük süre sonunda tek başına cıva ile cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının düşük ve yüksek ortam derişimlerinin etkisinde artmıştır (Tablo 3, P<0,05). Bununla birlikte 21 günlük süre sonunda 0,1 mg/L Hg ortam derişimi hariç denenen tüm ortam derişimlerinde solungaç GST aktivitesinde önemli bir değişim gözlenmemiştir (P>0,05). Karaciğer GST aktivitesi düşük ve yüksek ortam derişimlerinde cıvanın doğrudan etkisinde 7 ve 21 günlük süreler sonunda, cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarında ise 7 günlük süre sonunda önemli bir artış göstermiştir (Tablo 3, P<0,05). Kas GST aktivitesinde ise sadece 7 günlük sürenin sonunda denenen tüm kimyasal gruplarının yüksek ortam derişimlerinde önemli bir artış saptanmıştır (Tablo 3, P<0,05). 7 günlük süre sonunda Hg, Hg+Se ve Hg+zeolit gruplarının yüksek ortam derişimlerinin etkisinde GST aktivitesi sırasıyla, solungaçta %64, %35 ve %34 ile karaciğerde %61, %29 ve %36 düzeyinde artış göstermiştir.

**Tablo 3.** Cıva (mg/L), cıva (mg/L)+selenyum (mg/L) ve cıva (mg/L)+zeolit (g/L) etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularında GST aktivitesi (U/mg protein)

| Doku                 | 7 Gün         | 21 Gün        |
|----------------------|---------------|---------------|
| <b>Solungaç</b>      |               |               |
| Kontrol              | 12,03±0,21 ax | 12,19±0,17 ax |
| 0,01 Hg              | 15,26±0,33 bx | 12,56±0,24 ay |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 14,90±0,29 bx | 11,95±0,38 ay |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 15,11±0,43 bx | 12,87±0,65 ay |
| Kontrol              | 12,03±0,21 ax | 12,19±0,17 ax |
| 0,1 Hg               | 19,71±0,42 bx | 15,81±0,41 by |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 16,29±0,19 cx | 12,93±0,19 ay |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 16,17±0,24 cx | 11,73±0,57 ay |
| <b>Karaciğer</b>     |               |               |
| Kontrol              | 22,15±0,44 ax | 23,48±0,57 ax |
| 0,01 Hg              | 28,45±0,20 bx | 27,24±0,15 bx |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 25,19±0,31 cx | 22,85±0,78 ax |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 25,05±0,21 cx | 24,11±0,48 ax |
| Kontrol              | 22,15±0,44 ax | 23,48±0,57 ax |
| 0,1 Hg               | 35,72±0,68 bx | 30,18±0,34 bx |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 28,63±0,54 cx | 24,09±0,17 ax |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 30,10±0,32 cx | 26,29±0,15 cx |
| <b>Kas</b>           |               |               |
| Kontrol              | 4,17±0,05 ax  | 3,98±0,07 ax  |
| 0,01 Hg              | 4,22±0,07 ax  | 3,83±0,09 ax  |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 4,20±0,06 ax  | 3,90±0,05 ax  |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 4,25±0,08 ax  | 3,87±0,06 ax  |
| Kontrol              | 4,17±0,05 ax  | 3,98±0,07 ax  |
| 0,1 Hg               | 4,81±0,04 bx  | 4,02±0,06 ay  |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 4,59±0,03 bx  | 3,89±0,07 ay  |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 4,72±0,07 bx  | 3,92±0,09 ay  |

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur (n=6). "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler "x ve y" harfleri ise aynı derişimdeki etkileşim süreleri arasındaki ayırımı göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayırımı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 7 günlük süre sonunda solungaç ve karaciğer GR aktiviteleri cıvanın doğrudan ve selenyum ve zeolit ile birlikte etkisinde düşük ve yüksek ortam derişimlerinin etkisinde azaldığı (P<0,05) ve bu azalışın yüksek ortam derişimlerinde cıvanın tek başına etkisinde daha fazla olduğu belirlenmiştir (P<0,05) (Tablo 4). 21 günlük süre sonunda ise 0,1 mg/L Hg etkisinde solungaç ve karaciğer dokularında GR aktivitesindeki azalış (P<0,05) dışında denenen diğer grupların ortam derişimlerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir (Tablo 4, P>0,05). 7. gün sonunda 0,1 mg/L Hg, 0,1 mg/L Hg+1,0 mg/L Se ve 0,1 mg/L Hg+1,0 mg/L zeolit gruplarının etkisinde GR aktivitesi sırasıyla, solungaçta %43, %29 ve %40, karaciğerde %48, %32 ve %29 düzeyinde bir azalış göstermiştir. Kas GR aktivitesinde 7 ve 21 günlük sürelerde cıva, cıva+selenyum ve cıva+zeolit gruplarının tüm ortam derişimlerinde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir (Tablo 4, P>0,05).

**Tablo 4.** Cıva (mg/L), cıva (mg/L)+selenyum (mg/L) ve cıva (mg/L)+zeolit (g/L) etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularında GR aktivitesi (U/mg protein)

| Doku                 | 7 Gün          | 21 Gün         |
|----------------------|----------------|----------------|
| <b>Solungaç</b>      |                |                |
| Kontrol              | 0,084±0,002 ax | 0,083±0,003 ax |
| 0,01 Hg              | 0,065±0,003 bx | 0,075±0,004 ax |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 0,067±0,001 bx | 0,076±0,003 ax |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 0,069±0,002 bx | 0,078±0,004 ax |
| Kontrol              | 0,084±0,002 ax | 0,083±0,003 ax |
| 0,1 Hg               | 0,048±0,004 bx | 0,063±0,002 by |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 0,060±0,003 cx | 0,082±0,002 ay |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 0,050±0,002 bx | 0,079±0,003 ay |
| <b>Karaciğer</b>     |                |                |
| Kontrol              | 0,056±0,003 ax | 0,054±0,002 ax |
| 0,01 Hg              | 0,037±0,002 bx | 0,052±0,003 ay |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 0,040±0,002 bx | 0,052±0,004 ay |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 0,038±0,003 bx | 0,055±0,003 ay |
| Kontrol              | 0,056±0,003 ax | 0,054±0,002 ax |
| 0,1 Hg               | 0,029±0,004 bx | 0,040±0,001 by |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 0,038±0,002 cx | 0,051±0,002 ay |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 0,040±0,004 cx | 0,041±0,002 bx |
| <b>Kas</b>           |                |                |
| Kontrol              | 0,008±0,002 ax | 0,009±0,002 ax |
| 0,01 Hg              | 0,007±0,001 ax | 0,008±0,001 ax |
| 0,01 Hg + 0,1 Se     | 0,008±0,002 ax | 0,009±0,001 ax |
| 0,01 Hg + 0,1 Zeolit | 0,008±0,001 ax | 0,008±0,002 ax |
| Kontrol              | 0,008±0,002 ax | 0,009±0,002 ax |
| 0,1 Hg               | 0,008±0,002 ax | 0,008±0,002 ax |
| 0,1 Hg + 1,0 Se      | 0,007±0,001 ax | 0,008±0,001 ax |
| 0,1 Hg + 1,0 Zeolit  | 0,009±0,001 ax | 0,009±0,001 ax |

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur (n=6). "a, b ve c" harfleri aynı dokudaki derişimler "x ve y" harfleri ise aynı derişimdeki etkileşim süreleri arasındaki ayırımı göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayırımı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Sunulan çalışmada, cıvanın yüksek ortam derişiminde ve 21 günlük deney süresince balıklarda ölüm gözlenmemiştir. Metallerin yüksek ortam derişimlerinin etkisinde organizmaların hayatta kalabilmeleri, metal iyonlarının hücre içi konsantrasyonlarının regüle edilebilme kapasitesiyle yakından ilişkilidir (Azevedo vd., 2007). *O. niloticus*'un güçlü immün sistemi ve koruyucu/savunma mekanizmalarına bağlı olarak mortalite gözlenmediği düşünülmektedir. Benzer şekilde başka bir laboratuvar çalışmasında da 0,1 mg/L cıva etkisine 14 gün süreyle bırakılan *O. niloticus*'ta ölüm gözlenmemiştir (Firidin vd., 2015).

Akuatik ortamlara giren kirleticiler hem sucul ekosistemlere hem de burada yaşayan canlı organizmalara ciddi zararlar verdiğiinden, son yıllarda ekotoksikolojik çalışmalarda kirleticilerin indüklediği oksidatif strese karşı sucul organizmalardaki yanıt mekanizmalarının çalışılmasına büyük bir önem verilmektedir (Soares vd., 2008). Çoğu kirleticiler serbest radikaller oluşturarak veya antioksidan enzim sistemleri değiştirerek oksidatif hasara neden olmaktadır. Bununla birlikte sucul organizmalar oksidatif strese karşı hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan mekanizmaları ile bir yanıt oluşturmaktadırlar. Bu yanıt mekanizmaların en önemlilerinden biri de GSH ve onunla ilişkili enzim sistemleridir (GPx, GR ve GST gibi).

*Oreochromis niloticus* dünyada yaygın şekilde kültürü yapılan tatlı su balıklarından birisidir. Ekotoksikolojik çalışmaların çoğunda bu tür, akuatik ekosistemlerdeki kirleticilerin etkilerini değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. *O. niloticus* yüksek büyüme hızı, farklı diyetlere adaptasyondaki yeteneği, hastalıklara ve taşıma esnasındaki streslere direnç göstermeleri, kolay üremeleri ve ağır metal stresini de içeren çeşitli toksik maddelere karşı geniş tolerans yeteneği gibi farklı özellikleri nedeniyle toksikolojik çalışmalarda kullanılan iyi bir biyolojik modeldir (Fontainhas-Fernandes, 1998).

GSH, antioksidan ve detoksifikasyon savunma mekanizmalarının önemli proseslerine katılan tek sistein residüsüne sahip enzimatik olmayan bir antioksidan ve tripeptittir. GSH, indirgeyici ajan, serbest radikal temizleyici ve GSH ile ilişkili enzimler için kofaktör olarak davrandığından aktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif strese karşı hücrel savunmada rol oynayan en önemli faktörlerden biri olarak ifade edilmektedir (Verma vd., 2007). Bu molekül, ilk savunma hattı olarak metallerin hücrelerin önemli moleküler yapılarına yapacağı etkiyi engellemede önemli bir tiyol kaynağı olarak rol oynamaktadır. Sunulan çalışmada *O. niloticus*'ta her iki etkileşim süresinde GSH düzeyleri cıvanın doğrudan etkisinde solungaç ve karaciğer dokularında azalırken kas dokusunda önemli bir değişim göstermemiştir. Cıva ortam derişimi arttıkça dokuların GSH düzeylerindeki azalma oranının da arttığı saptanmıştır. *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer GSH düzeylerindeki azalışlar cıvanın toksik etkilerinin bir sonucu olabilir. Cıva, -SH gruplarına yüksek ilgisi olan bir metaldir. Cıvanın GSH yapısında bulunan -SH gruplarına doğrudan bağlanması ya da bu tiyol molekülünün oksidasyonunu arttırmasının bir sonucu olarak dokulardaki GSH düzeylerinde azalma olabileceği düşünülmektedir. Bulduğumuz sonuçlara benzer olarak Elia vd. (2003) yaptıkları bir çalışmada 35, 70 ve 140 mg/L Hg etkisine bırakılan *Ictalurus melas*'ın karaciğer dokusunda GSH düzeylerinde derişime bağlı olarak önemli azalmaların olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar karaciğer GSH düzeyindeki bu azalmanın, cıvanın GSH'a bağlanması ya da GSH'ın GSSG'ye oksidasyonu sonucu olabileceğini belirtmişlerdir. Ağır metallerin etkisinde organizmaların dokularındaki GSH düzeylerinde önemli değişiklikler oluşmaktadır. 40 gün süreyle 3 mg/L Cd etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GSH düzeylerin azaldığı rapor edilmiştir (Zirong ve Shijun, 2007). Araştırmacılar Cd'un neden olduğu oksidatif strese karşı GSH'ın hızlı bir koruma meydana getirdiğini ancak zamanla GSH'ın GSSG'ye oksidasyonu sonucu düzeyinde azalmaların olduğunu belirtmişlerdir.

Araştırmamızda cıva+selenyum ve cıva+zeolit ortam derişimlerinin etkisinde solungaç ve karaciğer GSH düzeylerinde azalışlar gözlemlenmiştir. Ancak bu azalışların cıvanın tek başına etkisinde daha yüksek olduğu saptanmıştır. Araştırma sonuçlarımızla paralel olarak Su vd. (2008) Hg'nin neden olduğu oksidatif stres üzerine selenyum etkisini araştırdıkları çalışmalarında Hg ve Hg+Se etkisindeki sıçanların dokularındaki GSH düzeylerinde Hg'nin tek başına etkisinde görülen azalışların Se varlığında kontrol değerlerine döndüğü belirlenmiştir. Başka bir çalışmada da cıva toksitesi üzerine bir antioksidan olan vitamin C'nin koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada cıvanın tek başına etkisinde *Oncorhynchus mykiss*'in karaciğer dokusundaki GSH düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı ancak vitamin C'nin uygulanmasıyla metalin toksik etkisinin önlediği ve cıvanın neden olduğu GSH düzeylerindeki azalışların engellendiği rapor edilmiştir (Mozhdeganloo vd., 2015).

Sunulan çalışmada cıvanın tek başına ve cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde *O. niloticus*'un dokularındaki GSH ile ilişkili enzimlerin (GPx, GST ve GR) aktivitelerinde dokuya, ortam derişimine ve etkide kalınan süreye bağlı olarak önemli değişimlerin meydana geldiği belirlenmiştir. *I. melas*'ın karaciğerinde GSH ve GSH ile ilişkili enzimlerin 96 saatlik farklı Hg derişimlerinden (100, 200, 400 mg/L) etkilendiği rapor edilmiştir (Elia vd., 2000). Çalışmada yüksek metal derişimlerinin enzim aktivitelerinde azalmalara neden olduğu belirtilmiştir.

GPx hem hidrojen peroksitleri hem de hidroperoksitleri indirgeyerek serbest radikaller ve oksidatif hasara karşı etkin bir koruma sağlamaktadır. Araştırmamızda cıvanın tek başına etkisinde her iki ortam derişiminde de GPx aktivitesinin solungaç dokusunda 7 günlük süre sonunda, karaciğerde ise denenen her iki sürede arttığı saptanmıştır. Bununla birlikte cıvanın selenyum ve zeolitle birlikte etkisinde ise solungaç GPx aktivitesinde önemli bir değişim saptanmamış iken karaciğer GPx aktivitesinde genel olarak bir artış saptanmıştır. Ancak karaciğer enzim aktivitesindeki bu artışın cıvanın tek başına etkisine oranla cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde daha az olduğu görülmüştür. Kas GPx aktivitesinde ise cıva, cıva+selenyum ve cıva+zeolit tüm ortam derişimlerinin etkisinde ve denenen her iki sürede de önemli bir değişim saptanmamıştır.

Çalışmamızda *O. niloticus*'un dokularında artan GPx aktivitesinin cıvanın toksik etkilerine karşı bir yanıt olarak oluştuğu ve cıvanın neden olduğu oksidatif strese karşı koruyucu bir rol oynadığı düşünülmektedir. Araştırma sonuçlarımızla benzer şekilde 4 gün süre ile 35 µg/L HgCl<sub>2</sub> etkisine bırakılan *I. melas*'ın karaciğer dokusundaki GPx aktivitesinde önemli artışlar saptanmıştır (Elia vd., 2003). Berntsen vd. (2003) yaptıkları bir deneysel çalışmada 100 mg/kg cıva içeren diyetlerle beslenen *Salmo salar*'ın karaciğer ve böbrek dokularında GPx aktivitesinin arttığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar bu artışın dokularda cıvanın neden olduğu oksidatif strese bir adaptasyon yanıtı olarak oluştuğunu ifade etmişlerdir.

GST, ksenobiyotiklerin GSH ile sentetik konjugasyon reaksiyonlarını katalizleyerek oksidatif strese karşı balık dokularını koruyan detoksifikasyon enzimlerinin önemli bir grubunu oluşturmaktadır (Luo vd., 2006). Sunulan çalışmada *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer GST aktivitelerinin cıvanın doğrudan etkisinde her iki ortam derişiminde artığı belirlenmiştir. Yine cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde 7 günlük süre sonunda bu dokuların GST aktivitelerinde de artış saptanmıştır. Ancak bu artışların cıvanın tek başına etkisinde cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarına oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kas GST aktivitesi ise denenen tüm kimyasalların etkisinde yalnızca 7 günlük süre sonunda bir artış göstermiştir. Dokuların GST aktivitesinin cıvanın neden olduğu oksidatif strese bir adaptasyon yanıtı olarak metal toksisitesini nötralize etmek amacıyla artığı düşünülmektedir. Monteiro vd. (2010) yaptıkları bir çalışmada tatlı su balığı *Brycon amazonicus*'un solungaç, karaciğer, kas ve kalp dokularında GST enzim aktivitesinin cıvanın etkisinde artığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar GST aktivitesindeki artışların metalin neden olduğu oksidatif hasarın önlenmesinde önemli bir rol oynadığını ileri sürmüşlerdir. GST'nin çok çeşitli elektrofilik bileşikler GSH aracılığıyla konjuge ederek daha az toksik bileşiklere dönüştürebildiği ve bu aktivitesi sayesinde toksik bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli görevler oynadığı belirtilmektedir (Van Der Oost vd., 2003). Bu nedenle *O. niloticus*'un dokularında artan GST aktivitesinin detoksifikasyon proseslerinin indüklenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir.

GR, bir flavoprotein olup kofaktör olarak NADPH'ı kullanarak GSSG'nin GSH'a indirgenmesini katalizlemekte ve GSH düzeylerini korumaktadır (Pena-Llopis vd., 2001). Böylece GR hücre içi GSH/GSSG oranını yükselterek -SH/-SS- oranını da korumaktır. Çalışmamızda *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer GR aktivitesinin cıvanın tek başına etkisinde azaldığı belirlenmiştir. Benzer şekilde cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde de 7 günlük süre sonunda bu dokuların GR aktivitelerinde bir azalış saptanmıştır. Ancak enzim aktivitesindeki azalışlar özellikle de yüksek ortam derişimlerinde cıvanın tek başına etkisinde daha fazla olmuştur. Kas dokusunda ise GR aktivitesi denenen tüm kimyasalların etkisinde anlamlı bir değişim göstermemiştir. Sunulan araştırmada cıva toksisitesinin bir sonucu olarak doku GR aktivitelerinin azaldığı öngörülmektedir. Azalan GR aktivitesi büyük bir olasılıkla cıvanın enzim aktivitesi üzerine olan doğrudan ya da NADPH üretimi üzerine olan toksik etkisinin sonucunda bu nükleotidin içeriğinin azalmasına bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir. Eroglu vd. (2015) *O. niloticus*'un karaciğer glutatyon metabolizması üzerine Cd, Cu, Cr, Pb ve Zn'nin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında Cr etkisinde GR enzim aktivitesinin azaldığını saptamışlardır.

GPx ve GST kofaktör olarak GSH'ı kullanarak prooksidan süreçleri etkisizleştirmek için birlikte çalışmaktadırlar (Monteiro vd., 2010). Bu enzimler tarafından GSSG'ye yükseltgenen GSH daha sonra GR'nin katalizlediği reaksiyonda NADPH kullanılarak GSSG'den tekrar oluşmaktadır. GSH sisteminin kapasitesi GPx, GR, GST ve pentoz fosfat yolu enzimlerin aktivitelerine bağlıdır (Larose vd., 2008). Bu nedenle hücre içi GSH düzeylerindeki değişimler bu enzimlerle oldukça yakın ilişkilidir. Sunulan çalışmada da cıvanın etkisinde *O. niloticus*'un dokularında azalan GSH düzeylerinin GPx, GST ve GR enzim aktiviteleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Dokuların artan GPx ve GST aktivitelerine bağlı olarak bu enzimler tarafından GSH'ın substrat olarak kullanımı GSH düzeylerini düşürmüş olabilir. Keza azalan GR aktivitesine bağlı olarak GSSG'den tekrar GSH'ın oluşturulmasının azalması da düşen GSH düzeylerini açıklayabilir. Elia vd. (2003) çalışmamızdaki sonuçlara benzer olarak *I. melas*'ın dokularında cıva etkisinde GSH düzeyinde ve GR aktivitesinde azalma, GPx ve GST aktivitesinde ise artış gözlemlenmiştir. Araştırmacılar artan GPx ve GST aktivitesine ve azalan GR aktivitesine bağlı olarak GSH düzeylerinin azaldığını belirtmişlerdir.

Sonuç olarak sunulan çalışmada cıvanın *O. niloticus*'un dokularında GSH ve GSH ile ilişkili enzimleri etkilediği belirlenmiştir. GSH metabolizmasında cıvanın doğrudan etkisinde meydana gelen değişimlerin cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarına oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Selenyum veya zeolit varlığında cıvanın GSH ve GSH ile ilişkili enzimler üzerine olan olumsuz etkilerinin azaldığı ya da iyileştiği saptanmıştır. Araştırma sonuçlarımız gerek selenyum gerekse de zeolit uygulamasının cıva toksisitesi üzerine koruyucu bir rolü olduğunu göstermektedir. Selenyumun koruyucu etkisini cıvanın alım ve atılım oranlarını etkileyerek, Hg-Se kompleksi oluşturarak hücredeki serbest cıva bulunurluğunu azaltarak ya da antioksidan kapasitesine bağlı olarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Zeolit ise kafes şeklindeki yapısı içerisinde Hg'yi tutarak suda serbest cıva bulunurluğunu azaltarak koruyucu etki gösterdiği öngörülmektedir. Genel olarak çalışılan

parametreler üzerine selenyumun koruyucu etkisinin zeolite oranla biraz daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma “Cıva, Cıva-Selenyum ve Cıva-Zeolit Karışımlarına bırakılan *Oreochromis niloticus*’ta Cıvanın, Dokulardaki Birikimi ve GSH ile İlişkili Enzim Aktivitelerine Etkisi” başlıklı ve YÖK Ulusal Tez Merkezi Referans Nosu “414359” olan Doktora tez çalışmasından üretilmiştir. Bu araştırma FEF2012D1 nolu Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi ile yürütülmüştür.

## KAYNAKLAR

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2020). Priority list of hazardous substances. Alıntılama adresi: <http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/05list.html> (22.09.2020).
- Azevedo, M. M., Carvalho, A., Pascoal, C., Rodrigues, F. & Cassio, F. (2007). Responses of antioxidant defenses to Cu and Zn stress in two aquatic fungi. *Science of The Total Environment*, 377, 233–243. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.02.027>
- Berntssen, M. H. G., Aatland, A., & Handy, R. D. (2003). Chronic dietary mercury exposure causes oxidative stress, brain lesions, and altered behavior in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *Aquatic Toxicology*, 65, 55–72. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(03\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(03)00104-8)
- Beutler, E. (1984). Red cell metabolism: a manual of biochemical methods, 2nd edition. Grune and Starton, New York, pp 160.
- Carlberg, I., & Mannervik, B. (1975). Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *Journal of Biological Chemistry*, 250, 5475–5480.
- Cogun, H. Y., Firat, Ö., Firat, Ö., Yuzereroğlu, T. A., Gök, G., Kargin, F., & Kotemen, Y. (2012). Protective effect of selenium against mercury induced toxicity on hematological and biochemical parameters of *Oreochromis niloticus*. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 26(3), 117–122. <https://doi.org/10.1002/jbt.20417>
- Elia, A. C., Dorr, A. J. M., Mantilacci, L., Taticchi, M. I., & Galarini, R. (2000). Effects of mercury on glutathione and glutathione-dependent enzymes in catfish (*Ictalurus melas* R.). In: Markert, B., Friese, K. (Eds.), Trace elements—their distribution and effects in the environment: trace metals in the environment, Vol. 4. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 411–421.
- Elia, A. C., Galarini, R., Taticchi, M. I., Dorr, A. J. M., & Mantilacci, L. (2003). Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55, 162–167. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00123-9](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00123-9)
- Eroğlu, A., Dogan, Z., Kanak, E. G., Atlı, G., & Canlı, M. (2015). Effects of heavy metals (Cd, Cu, Cr, Pb, Zn) on fish glutathione metabolism. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 3229–3237. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2972-y>
- Firat, Ö., Cogun, H. Y., Aslanyavrusu, S., & Kargin, F. (2009). Antioxidant responses and metal accumulation in tissues of *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd and Zn+Cd exposures. *Journal of Applied Toxicology*, 29, 295–301. <https://doi.org/10.1002/jat.1406>
- Firat, Ö., Firat, Ö., Çoğun, H. Y., Aytekin, T., Firidin, G., Temiz, Ö., Sağ, H., & Kargin, F. (2018). Atatürk Baraj Gölü’nün kirli ve temiz bölgelerinden yakalanan balıkların (*Silurus triostegus* Heckel, 1843, *Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811, *Chondrostoma regium* Heckel, 1843, *Carassius carassius* Linnaeus, 1758) dokularındaki ağır metal düzeylerinin karşılaştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 14(3), 173–183.
- Firat, Ö., & Kaya, Ö. (2019). Evaluation of protective role of selenium on mercury toxicity by superoxide dismutase, catalase and malondialdehyde parameters in *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 36(3), 245–253. <https://doi.org/10.12714/egejfas.2019.36.3.05>
- Firidin, G., Kargin, F., Firat, Ö., Cogun, H. Y., Firat, Ö., Firidin, B., & Yüzereroğlu, T. A. (2015). Antioxidant defence systems, lipid peroxidation and acetylcholinesterase activity of *Oreochromis niloticus* exposed to mercury and mercury+selenium. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(5), 1958–1965.
- Fontainhas-Fernandes, A. A. (1998). Tilapia production, in: M. A. Reis- Henriques (Ed.), *Aquaculture Handbook*, pp. 135–150.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130–7139.
- Hamilton, S. J. (2004). Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Science of the Total Environment*, 326, 1–31. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.01.019>
- Ishikawa, N. M., Ranzani-Paiva, M. J. T., Lombardi, J. V., & Ferreira, C. M. (2007). Hematological parameters in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to sub-lethal concentrations of mercury. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50, 619–626.

- Larose, C., Canuel, R., Lucotte, M., & Di Giulio, R. T. (2008). Toxicological effects of methylmercury on walleye (*Sander vitreus*) and perch (*Perca flavescens*) from lakes of the boreal forest. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 147, 139–149. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.09.002>
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farra, N. J., & Randall, R. J. (1951). Protein measurements with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265–275.
- Luo, Y., Su, Y., Lin, R. Z., Shi, H. H., & Wang, X. R. (2006). 2-Chlorophenol induced ROS generation in fish *Carassius auratus* based on the EPR method. *Chemosphere*, 65, 1064–1073. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.02.054>
- Mishra, M., & Jain, S. K. (2011). Properties and applications of zeolites: A Review. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81, 250-259.
- Monteiro, D. A., Rantin, F. T., & Kalinin, A. L. (2010). Inorganic mercury exposure: toxicological effects, oxidative stress biomarkers and bioaccumulation in the tropical freshwater fish matrinxa, *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829). *Ecotoxicology*, 19, 105–123. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0395-1>
- Mozhdeganloo, Z., Moghadam, J. A., Koohi, M. K., & Heidarpour, M. (2015). Methylmercury-induced oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver: Ameliorating effect of vitamin C. *Biological Trace Element Research*, 165, 103–109. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0241-7>
- Papaioannou, D., Katsoulos, P. D., Panousis, N., & Karatzias, H. (2005). The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: A review. *Microporous and Mesoporous Materials*, 84, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2005.05.030>
- Pena-Llopis, S., Pena, J. B., Sancho, E., Fernandez-Vega, C., & Ferrando, M. D. (2001). Glutathione-dependent resistance of the European eel *Anguilla anguilla* to the herbicide molinate. *Chemosphere*, 45, 671–681. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00500-2](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00500-2)
- Soares, S. S., Martins, H., Gutierrez-Merino, C., & Aureliano, M. (2008). Vanadium and cadmium *in vivo* effects in teleost cardiac muscle: Metal accumulation and oxidative stress markers. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 147, 168–178. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.09.003>
- Su, L., Wang, M., Yin, S., Wang, H., Chen, L., Sun, L., & Ruan, D. (2008). The interaction of selenium and mercury in the accumulations and oxidative stress of rat tissues. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70, 483–489. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.05.018>
- Van Der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13, 57–149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)
- Verma, R. S., Mehta, A., & Srivastava, N. (2007). *In vivo* chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88, 191–196. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2006.11.002>
- Yang, D., Ye, X., Chen, Y., & Belzile, N. (2010). Inverse relationships between selenium and mercury in tissues of young walleye (*Stizosedion vitreum*) from Canadian boreal lakes. *Science of the Total Environment*, 408, 1676–1683. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.11.049>
- Zirong X., & Shijun B. (2007). Effects of waterborne Cd exposure on glutathione metabolism in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67, 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.04.006>