
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

KURŞUN II ASETATIN TATLI SU MİDYESİ *UNIO DELICATUS* ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Nilüfer GÜLŞEN KOCA

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OCAK 2024

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Nilüfer GÜLŞEN KOCA

16/01/2024

KURŞUN II ASETATIN TATLI SU MİDYESİ *UNIO DELICATUS* ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Nilüfer GÜLŞEN KOCA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2024

ÖZET

Ağır metal kirliliği, hızlı sanayileşmenin bir sonucu olarak, sucul ortamları etkileyen en önemli problemlerden biri haline gelmiştir. Ağır metaller arasında kurşunun yüksek toksisiteye sahip olduğu bilinmektedir. Kurşun II asetat sudaki çözünürlüğü yüksek olan bir kurşun bileşiğidir. Midyeler, uzun yaşam süreleri, bentik organizmalar olmaları, filtreleme ile beslenmeleri nedeniyle kimyasallara çok fazla maruz kalan sucul organizmalardır. Bu nedenle biyoindikatör tür olarak çevresel izleme çalışmalarında önemlidirler. Bu çalışmada kurşun II asetatın tatlı su midyesi *Unio delicatus* Lea 1863 üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Kurşun II asetatın etkisinin belirlenmesi için, öncelikle ortalama öldürücü konsantrasyon (LC_{50}) değeri tespit edilmiştir. Bu amaçla, tatlı su midyeleri (*Unio delicatus* Lea 1863) farklı konsantrasyonlarda kurşun II asetat bileşiğine maruz bırakılmıştır. Tatlı su midyelerinde kurşun II asetat için 72 saatlik LC_{50} değeri Finney'in probit analiz yöntemine göre 259,8701 mg/L (% 95 güven aralığında 97,4482-1651,0114) olarak hesaplanmıştır. 1-100 mg/L konsantrasyon aralığında kurşun II asetata maruz kalan tatlı su midyelerinin kabuklarında ve yumuşak dokularında, kurşun birikimi, ICP-OES analizleri ile araştırılmıştır ve sırasıyla 2,0-69,0 µg/g ve 5,7-39,8 µg/g düzeylerinde kurşun birikimi tespit edilmiştir. Kurşun II asetatın tatlı su midyeleri üzerindeki immünolojik etkilerini incelemek amacıyla, toplam hemosit sayıları araştırılmıştır. Tatlı su midyeleri, farklı subletal konsantrasyonlarda (1-100 mg/L) kurşun II asetat çözeltisine maruz bırakılmıştır. Maruziyetin 14. gününde midyelerden hemolenf sıvısı alınmıştır. Alınan örneklerin toplam hemosit sayımı Thoma lamı kullanılarak ışık mikroskobu altında yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, kurşun II asetat çözeltisine maruz bırakılan tatlı su midyelerinin, konsantrasyona bağlı olarak hemosit sayılarında değişim gözlenmiştir. Toplam hemosit değerleri, kontrol grubuna göre, 1 mg/L konsantrasyon haricindeki diğer tüm 2-100 mg/L arasındaki konsantrasyonlar için elde edilen fark istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur. Toplam hemosit sayıları kontrol grubuna ve 1 mg/L'lik konsantrasyonuna kıyasla anlamlı düzeyde azalma göstermiştir ($p < 0,05$). Sonuç olarak, kurşun II asetatın tatlı su midyelerinin immünolojik parametrelerinden olan toplam hemosit sayısını etkilediği saptanmıştır.

Bilim Kodu : 90309
Anahtar Kelimeler : Kurşun II asetat, *Unio delicatus,* hemosit, ağır metal, birikim
Sayfa Adedi : 66
Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Feriha YILDIRIM
İkinci Danışman : Doç. Dr. Meltem YILMAZ

INVESTIGATION OF TOXIC EFFECTS OF LEAD II ACETATE ON FRESHWATER MUSSEL *UNIO DELICATUS*

(M. Sc. Thesis)

Nilüfer GÜLŞEN KOCA

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2024

ABSTRACT

Heavy metal pollution has become one of the most important problems affecting aquatic environments as a result of rapid industrialization. Lead, among heavy metals is known to have high toxicity. Lead II acetate is a lead compound with high water solubility. Mussels are aquatic organisms that are highly exposed to chemicals due to their long lifespan, being benthic organisms, and feeding by filtration. For this reason, they are important in environmental monitoring studies as bioindicator species. In this study, the effects of lead II acetate on the freshwater mussel *Unio delicatus* Lea 1863 were investigated. To determine the effect of lead II acetate, first the average lethal concentration (LC_{50}) value was determined. For this purpose, freshwater mussels (*Unio delicatus* Lea 1863) were exposed to different concentrations of lead II acetate compound. The 72-hour LC_{50} value for lead II acetate in freshwater mussels was calculated as 259.8701 mg/L (97,4482-1651,0114 with (95%) confidence interval) according to Finney's probit analysis method. Lead accumulation in the shells and soft tissues of freshwater mussels exposed to lead II acetate in the concentration range of 1-100 mg/L was investigated by ICP-OES analyses, and lead accumulation was detected at the level of 2,0-69,0 µg/g and 5,7-39,8 µg/g, respectively. In order to examine the immunological effects of lead II acetate on freshwater mussels, total hemocyte numbers were investigated. Freshwater mussels were exposed to lead II acetate solution at different sublethal concentrations (1-100 mg/L). Hemolymph fluid was collected from freshwater mussels on the 14th day of exposure. Total hemocyte count of the samples taken was performed under a light microscope using a Thoma slide. According to the results obtained, a change in the hemocyte numbers of freshwater mussels exposed to lead II acetate solution was observed depending on the concentration. The difference in total hemocyte values compared to the control group was found to be statistically significant for all concentrations between 2 -100 mg/L except the 1 mg/L concentration. Total hemocyte counts showed a significant decrease compared to the control group and 1 mg/L concentration ($p < 0.05$). As a result, it was determined that lead II acetate affected the total number of hemocytes, which is one of the immunological parameters of freshwater mussels.

Science Code : 90309
Key Words : Lead II acetate, *Unio delicatus*, hemocyte, heavy metal, accumulation
Page Number 66
Supervisor : Asst. Prof. Dr. Feriha YILDIRIM
Co-Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Meltem YILMAZ

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve lisansüstü eğitimim boyunca her türlü akademik bilgi, tecrübe ve rehberliklerini büyük bir sabırla benden esirgemeyen ve tüm çalışma boyunca bana her zaman destek olan çok kıymetli ve değerli danışman hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Feriha YILDIRIM ve Doç. Dr. Meltem YILMAZ'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Deney çalışmalarımız ve araştırmalarımız boyunca bizlere her türlü desteği sağlayan değerli hocalarımız Prof. Dr. Aysel Çağlan GÜNAL'a, Doç. Dr. Gülbin FERİDUN'a ve Doç. Dr. Pınar ARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tüm eğitim hayatım boyunca bana her koşulda destek olan, güvenen ve sevgilerini esirgemeyen sevgili aileme teşekkür eder, minneti borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ x

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xi

RESİMLERİN LİSTESİ xii

HARİTALARIN LİSTESİ xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR xiv

1. GİRİŞ 1

2. TANIMLAR VE LİTERATÜR ARAŞTIRMASI 7

2.1. Ağır Metaller 7

2.1.1. Ağır metal kaynakları 7

2.1.2. Ağır metallerin çevreyle etkileşimleri 9

2.1.3. Ağır metallerin canlılara etkileri 10

2.1.4. Kurşun (Pb) ağır metali 12

2.1.5. Kurşun II asetat 16

2.2. Midyeler 17

2.2.1. Midyelerin biyolojik ve morfolojik özellikleri 17

2.2.2. Midyelerin ekolojik önemleri 17

2.2.3. *Unio delicatus* sistematiği 19

2.2.4. Tatlı su midyesi dağılımı ve habitatı 21

2.3. Literatür Araştırması 23

Sayfa

3. MATERYAL VE YÖNTEM 27

3.1. Materyal 27

3.1.1. *Unio delicatus* tatlı su midyelerinin temin edildiği bölge 27

3.1.2. *Unio delicatus* tatlı su midyelerinin laboratuvara ulaştırılması ve uyum çalışmaları 28

3.1.3. Kurşun II asetat stok çözeltisinin hazırlanması 28

3.2. Yöntemler 29

3.2.1. Deney tasarımı 29

3.2.2. *Unio delicatus* için LC_{50} değerinin belirlenmesi 30

3.2.3. Subletal konsantrasyonlarda immünolojik etkilerin araştırılması 30

3.2.4. Midyelerin fiziksel ölçümleri 31

3.2.5. Toplam hemosit sayımı 31

3.2.6. Kurşun birikimi deneyleri 33

3.2.7. ICP-OES Analizi 34

3.2.8. Atık bertarafı 35

4. BULGULAR 37

4.1. Midyelerin Boyut Ölçümleri 37

4.2. Su Kalite Parametreleri 40

4.3. Akut Toksisite Bulguları 40

4.4. Toplam Hemosit Sayımları 42

4.5. Kurşun Birikimi 44

5. DEĞERLENDİRME 47

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 53

KAYNAKLAR 57

Sayfa

ÖZGEÇMİŞ 66

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Ağır metallerin antropojenik kaynakları 8

Çizelge 3.1. ICP- OES cihazı koşulları 34

Çizelge 4.1. Midyelerin ağırlık ortalamaları 37

Çizelge 4.2. Midyelerin uzunluk ortalamaları 38

Çizelge 4.3. Midyelerin genişlik ortalamaları 39

Çizelge 4.4. Midyelerin kalınlık ortalamaları 39

Çizelge 4.5. Kurşun II asetat için LC değerleri ve güven aralığı limitleri 40

Çizelge 4.6. Akut toksisite bulguları (72. Saat) 41

Çizelge 4.7. Toplam hemosit değerleri (Hücre x 10^4)/ml 42

Çizelge 4.8. Kabuklarda kurşun birikim sonuçları 45

Çizelge 4.9. Yumuşak dokuda kurşun birikim sonuçları 45

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Kurşun maruziyeti ve toksisitesinin aşamaları 15

Şekil 4.1. Midyelerin ağırlık dağılımı..... 37

Şekil 4.2. Midyelerin uzunluk dağılımı 38

Şekil 4.3. Midyelerin genişlik dağılımı..... 38

Şekil 4.4. Midyelerin kalınlık dağılımı 39

Şekil 4.5. Kurşun II asetat için 72 saatlik probit değerleri ile regresyon grafiği 41

Şekil 4.6. Kurşun II asetata 3 gün maruziyette doza bağlı toplam hemosit sayısının değişimi 43

Şekil 4.7. Kurşun II asetata 14 gün maruziyette doza bağlı toplam hemosit sayısının değişimi 43

Şekil 4.8. Kurşun II asetata 3 ve 14 günlük maruziyette toplam hemosit sayısının değişimi 44

Şekil 4.9. Kabuk örneklerinde kurşun birikim analizi 44

Şekil 4.10. Yumuşak doku örneklerinde kurşun birikim analizi 45

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 2.1. Ağır metallere örnekler 9

Resim 2.2. Kurşun (Pb) elementi 12

Resim 2.3. Kurşun II asetat 16

Resim 2.4. *Unio delicatus* 20

Resim 2.5. *Unio delicatus* kabuk görüntüsü 21

Resim 2.6. *Unio delicatus* anatomisi 21

Resim 3.1. Gölbaşı Gölü 27

Resim 3.2. Deney ortamına adaptasyon 28

Resim 3.3. Statik biyodeney düzeneği 29

Resim 3.4. Canlı ve ölü midyelerin tespiti 30

Resim 3.5. Midyelerin fiziksel ölçümlerinin alınması 31

Resim 3.6. Hemolenf numunelerinin alınması 32

Resim 3.7. Formaldehit ile fikse edilen hemolenf numuneleri 32

Resim 3.8. Thoma lamı ile hemosit sayımı 32

Resim 3.9. Işık mikroskobunda hemosit sayım alanı 33

Resim 3.10. Kurşun birikim analizi için öğütülen kabuk örnekleri 33

Resim 3.11. Atık kimyasal motat belgesi 35

HARİTALARIN LİSTESİ

Harita **Sayfa**

Harita 2.1. *Unio delicatus* Türkiye üzerindeki dağılımını gösteren harita..... 22

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
g	Gram
kg	Kilogram
l	Litre
m	Metre
m²	Metrekare
µg	Mikrogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
ppm	Milyonda bir birim
p	Anlamlılık değeri

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
APHA	Amerikan Halk Sağlığı Derneği
ICP	Atomik Emisyon Spektrometresi
ICP-OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektroskopisi
IUCN	Uluslararası Doğa Koruma Birliği
LC_{50}	Ortalama öldürücü konsantrasyon

1. GİRİŞ

Çevre kirliliği ve özellikle de sucul ekosistemlerin kirliliği günümüzde Dünyanın en büyük problemlerinden biri haline gelmiştir. Artan insan nüfusu, iklim değişikliği, sanayileşme gibi birçok etken su sistemlerinin ve sucul habitatların kirlenmesinde ve bozulmasında büyük rol oynamaktadır. Özellikle artan insan nüfusu ile birlikte kaynakların tüketimi hızla artmaya devam ederek kirliliği de kontrol edilemez bir noktaya getirmiştir. Direkt kirlenmenin yanı sıra, hava ve toprak kirliliğinin ikincil etkileriyle su sistemleri çok daha hızla doğallığını kaybetmekte ve bunun sonucunda ekolojik döngüler ve besin ağları bozulmakta, tür çeşitliliği hızla azalmaktadır.

Bir ortamda bulunan kirleticiler, yağışlar, buharlaşma, yüzey akışları, filtrasyon, birikim, besin ağı, atmosferik yıkanma gibi farklı işlem ve döngülerle birlikte, atmosfer, litosfer, hidrosfer ve biyosfer arasında transfer edilmektedir, tüm diğer ortamlara ulaşmakta ve canlıları etkilemektedir. Bu bakımdan herhangi bir düzeyde ve ortamda ortaya çıkan her tür kirlilik, ciddiyetle değerlendirilmelidir. Her ne kadar son yıllarda yeşil teknolojilere önem verilmeye ve geri dönüştürülebilir ürünler kullanılmaya yönelinse de ham maddeden itibaren atıkların yönetimine kadar geçen her aşamada, çevre dostu teknikler tercih edilmediği sürece, kirliliği kontrol altında tutmak zor görünmektedir. Kirlilik kontrolü özellikle hassas sucul ekosistemlerde daha zorludur.

Sucul ekosistemleri teşkil eden yeraltı ve yerüstü, tatlı ve tuzlu su kaynakları, kendine özgü niteliklere sahip olan, biyolojik çeşitliliğin en fazla olduğu zengin bir besin ağını ve niş çeşitliliğini destekleyen, kompleksliliği yüksek, açık ve hassas sistemlerdir. Açık sistemler olmaları nedeniyle akuatik sistemlere zarar veren etkenlerin incelenmesi ve zararlı olabilecek parametrelerin belirlenerek olumsuz etkilerinin en aza indirilmesi gerekmektedir. Sucul sistemlere dahil olan kirleticilerin giriş yolları, sudaki, sedimentteki ve sucul canlılardaki davranışları incelenmelidir.

Sucul ekosistemlerin atık sular için deşarj ortamı olarak kullanılmaları gibi antropojenik girdilerin yanında, atmosferik yıkanma, kuru/yaş birikim, yüzey akışları gibi doğal taşıma işlemlerinden kaynaklanan dış girdilere de açık sistemler olmaları, kolay kirletilebilmelerine neden olmaktadır. Sanayi atıkları, evsel atıklar ve belediye atıkları ile

yerüstü ve yeraltı sularına çeşitli kirletici unsurlar dahil olmaktadır ve su ekosistemlerine kolaylıkla ulaşmaktadır. Akuatik sistemlere giriş yapan kirleticilerin bir kısmı suda çözünür özelliktedir ve bir kısmı suda askıda kalırken, bir kısmı da çökelerek sedimentte tutulurlar. Bazı kirleticiler hızla fiziksel, kimyasal veya biyolojik yollarla parçalanabilirken, bazıları besin ağına dahil olarak birikim gösterebilir.

Hızlı endüstrileşmenin kaçınılmaz sonucu olarak, birçok madde atık olarak hayatımızı etkilemeye başlamıştır. Bu maddelerin başında, hemen her sanayi kolunda yaygın olarak kullanılan metaller gelmektedir. Metal kirliliği yeryüzünü ve canlıları tehdit eden en ağır çevre sorunlarından birisidir. Özellikle ağır metaller organizmalar için yüksek toksisiteye sahiptir. Az miktarlarda bile alıcı ortamda bulunmaları, organizmaların etkilenmesi ve ekolojik dengenin bozulması için ciddi bir risk oluşturur (Herawati, Suzuki, Hayashi, Rivai ve Koyama, 2000).

Çevresel kirletici olabilen metal element ve bileşikleri, öncelikle doğal yollarla (volkanik patlamalar, fiziksel ve kimyasal ayrışmalar) oluşarak ve taşınarak, farklı formlarda havaya, suya ve toprağa karışıp yayılmışlardır. Doğal süreçlerle çevresel ortamlara katılımın yanı sıra metallerin binlerce yıldır insanlar tarafından kullanıldığı bilinmektedir. Örneğin, bazı mağara resimlerindeki renklendirmelerde, kırmızı boyaların civa katılarak elde edildiği, Roma döneminde kurşun II asetat bileşiğinin şarap yapımında tatlandırıcı olarak kullanıldığı, kurşunun yiyecek kaplarının yapımında kullanıldığı ve böylece yoğun şekilde vücuda alındığı ortaya çıkmıştır. Daha yakın tarihi dönemlerde civa gibi ağır metallerin küçük çocukların diş tedavilerinde ve frengi hastalığı tedavilerinde kullanıldığı, araştırma olanaklarının yetersiz olduğu dönemlerde insan ve diğer canlıların bu maddelere uzun yıllarca maruz kaldığı bilinmektedir (Yavuz ve Sarıgül, 2016).

Ekolojik sistemlere milyonlarca yıllık süreçlerde doğal etkilerle bir miktar ağır metal katılımı sürerken, binlerce yıldır özellikle de son 200 yıldan bu yana, hızla artan insan faaliyetleri nedeniyle yoğun bir ağır metal kirliliği yaşanmaktadır. Son yüzyılda madencilik faaliyetlerinin çok artması; antropojenik kaynaklı evsel, endüstriyel ve belediye atıkları, tarımsal faaliyetler gibi etkenlerle bu kirleticilerin etkileri önemli ölçüde artmış durumdadır (Saidon, Szabó, Budai ve Lehel, 2024).

İlaç, kozmetik, tıp, tekstil, kimya, otomotiv ve daha birçok alanda kullanılan metaller ve ağır metaller, sergiledikleri iletkenlik, dayanıklılık, manyetizma, şekil verilebilme, kataliz gibi üstün alternatifsiz özellikleri nedeniyle, endüstriyel üretimin vaz geçilmez bir parçası haline gelmişlerdir. Bu yoğun endüstriyel kullanımın kaçınılmaz bir sonucu olarak, ağır metallerin çevresel yayılımının genişlemesi söz konusu olmuştur. Ağır metal kirliliğinin, sanayi bölgelerinden çok uzak alanlarda bile ciddi boyutlarda artmış olması, insan ve çevre sağlığı üzerindeki etkilerine ilişkin endişeleri de beraberinde getirmektedir. Hayatımızda çok geniş yer kaplayan ağır metallerin toksisiteleri ve olumsuz etkileri aydınlatılmaya devam edilmelidir (Yavuz ve Sarıgül, 2016).

Ağır metallerin sucul ortamdaki davranışlarını belirleyen en önemli özellikleri sudaki çözünürlükleridir ve genel olarak ağır metallerin çözünürlükleri düşüktür. Çözünmüş metaller, suda iyonlaşmış halde veya şelat oluşturmuş halde bulunabilirler. Ağır metallerin oluşturdukları bileşiklere bağlı olarak (oksit, sülfür, amonyum, hidroksit gibi), metalin konsantrasyonuna, tuzluluğa ve suyun pH'ına bağlı olarak çözünürlük çarpımları değişir. Çözünürlüğü düşük olan bileşikler sedimentte çökelir, organik maddelerle bağlanabilir, kolloidal yapılarca tutulabilir, canlıların bünyesine dahil olabilir ve çeşitli kompleksler halinde bulunabilirler. Sediment, metal bağlayarak sucul sistemleri ağır metal toksisitesinden koruyan kıymetli bir depo alanıdır. Bu nedenle sediment canlıları çok daha yüksek oranda ağır metallere maruz kalmaktadırlar ve bünyelerinde biriktirmektedirler.

Ağır metaller metabolik olarak parçalanmadan kalırlar, yok edilemezler, bu nedenle dahil oldukları organizmada birikim gösterirler. Ağır metaller farklı bileşiklerle, örneğin proteinlerle birleşerek kompleksler oluşturabilirler veya kimyasal reaksiyonlara yol açabilirler. Su ekosistemlerinde bulunan canlılar tarafından solungaç solunumu, sindirim ve birçok yolla canlının vücuduna alınabilirler. Besin zinciri yoluyla üst trofik seviyelerdeki canlılara geçer ve biyobirikim yaparlar. Omurgalı ve omurgasız su canlılarının organ ve dokularına zarar verip ölümlerine yol açabilirler. Popülasyonları etkileyen bu etkiler uzun ya da kısa sürede ortaya çıkabilir (Şavran ve Küçük, 2022).

Canlılar, biyolojik gelişimlerini ve kimyasal reaksiyonlarını, enzim aktivitelerini devam ettirebilmeleri için Fe, Zn gibi 'eser miktarda' bazı elementlere ihtiyaç duyarlar. Fakat Pb, Hg gibi ağır metaller eser miktarda bile olsalar, canlılar için toksik özellikler gösterirler (Yıldırım, 2018). Özellikle Pb, Cd, Cr, Ag, Hg, Ni ve As gibi ağır metaller "zehirli" olarak

değerlendirilir ve canlıların sağlığı için kalıcı hasarlar oluşturabilen, çoklu organ hasarına sebep olabilen, riskli maddelerdir. Çevre Koruma Ajansı (EPA) bünyesinde çalışan araştırma kurumları tarafından ağır metallerin insan kanserojeni olması üzerinde durulmaktadır (Teyin, 2018).

Kurşun, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ve oksidatif strese sebep olması nedeniyle, hücresel seviyede organel ve membran hasarına, enzim inhibisyonuna, DNA hasarına sebep olarak, sonucunda nörotoksik ve kanserojen etkiler gösterebildiği, çoklu organ hasarlarına neden olduğu bilinen, en yüksek toksisiteye sahip olan ağır metallerden biridir. Bu yüksek toksisitesine karşılık, ağır sanayi kollarından, tekstil, boya ve tarımsal katkı maddelerine kadar çok yaygın bir kullanım alanına sahiptir (Tchounwou, Yedjou, Patlolla ve Sutton, 2012).

Sanayide sıklıkla kullanan kurşun bileşiklerinden biri olan, kurşun II asetat kullanım alanlarının genişliği ve sudaki yüksek çözünürlüğü nedeniyle, diğer kurşun bileşiklerine kıyasla akuatik sistemlere girişi kolay olan bir bileşiktir. Ancak yaptığımız literatür taraması, bu maddenin sucul organizmalara verdiği zararlara ilişkin yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olduğunu göstermiştir.

Tatlı su midyeleri sucul ekosistemlerdeki olumlu ya da olumsuz süreçlerin varlığını anlayabilmek için önemli olan, çeşitli çevre kirleticilerine yanıt veren, hassas biyoindikatör niteliğinde canlılardır. Uzun ömürlü, kolay ulaşılabilir, laboratuvar ortamında yaşatılabilen canlılar olması nedeniyle, toksikolojik çalışmalar açısından önemli bir model organizmadır. Bu nedenle bu çalışmada, kurşun II asetat bileşiğinin, tatlı su midyelerine olan akut ve kronik etkileri ile kabuk ve yumuşak dokularında kurşun birikiminin doza bağlı olarak değişimi araştırılmıştır.

Çalışmamızda, ülkemizde yaygın olan bulunan tatlı su midyelerinden olan *Unio delicatus* Lea 1863 türü kullanılmıştır. Deneylerin tamamı, statik biyodeney sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Tatlı su midyeleri, kurşun II asetat bileşiğinin geniş bir aralıkta farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılarak; öncelikle LC_{50} değeri hesaplanmıştır. Sonrasında, subletal konsantrasyonlara maruziyet deneyleri gerçekleştirilmiştir. Subletal konsantrasyonlardaki (1-100 mg/L) kurşun II asetatın etkileri, kısa ve uzun süreli (3 ve 14 gün) olmak üzere incelenmiştir.

Deneylerin tamamlanmasından sonra, kurşun II asetat bileşiğine karşı gelişen immünolojik yanıtının araştırılması amacıyla, tatlı su midyelerinin hemolenf sıvıları alınmıştır ve hemosit sayımları gerçekleştirilmiştir. Kurşun II asetata maruz bırakılmayan kontrol grubuna karşı, deney gruplarındaki kısa ve uzun süreli hemosit sayılarındaki değişim incelenmiştir.

Subletal konsantrasyonlarda midyelerin kabuklarında ve yumuşak dokularında kurşunun birikimi, ICP-OES analizi ile araştırılmıştır. Böylece, sucul sistemlerdeki kirlilik izleme çalışmalarına katkı verebilmesi ve *Unio delicatus* türünün, kurşun kirliliği açısından biyoindikatör organizma olarak kullanım potansiyelinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. TANIMLAR VE LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Ağır Metaller

Ağır metal terimi, bilimsel çalışmalarda 50 yıldan uzun süredir, çok sık kullanılan bir terim olmasına rağmen, IUPAC gibi yetkili bir kurum tarafından henüz tanımlanmamıştır. Farklı araştırmacılar tarafından, atom ağırlığı, atom numarası, toksisitesi ve bazı kimyasal özellikleri gibi çeşitli fizikokimyasal parametrelere bağlı olarak, değişik şekillerde tanımlanmaktadır (Duffus, 2009).

Örnek olarak, atom numarasına üzerinden yapılan bir tanımda, atom numarası 11'den yani sodyumdan büyük olan, çevre veya insanlar için risk oluşturan tüm metaller, ağır metal olarak kabul edilmektedir (Lyman, 1995). Tanımların arasında daha yaygın olarak kabul gören tanımlar, yoğunluğa bağlı olarak yapılan tanımlardır ancak bu tanımlar arasında da bir paralellik bulunmamaktadır. Bu tanımlardan biri, yoğunluğu 4 $g.cm^{-3}$ ve üzerinde olan metalleri ağır metal olarak kabul etmekteyken (Garbarino ve diğerleri, 1995), bir diğer tanım ise yoğunlukları 5 $g.cm^{-3}$ ve üzerinde olan metalik elementleri (Lozet ve Mathieu, 1991), daha güncel bir çalışma ise yoğunluğu 6 $g.cm^{-3}$ ve üzerinde olan metalleri (O'Connell, Birkinshaw ve O'Dwyer, 2008) ağır metal olarak isimlendirmektedir.

Bu tanımlar arasında, net bir fikir birliği ve uyum bulunmadığından ağır metal terimi, genellikle yüksek yoğunluktaki ve düşük derişimlerde zehirli metalik elementleri kapsamaktadır (Ojovan, Lee ve Kalmykov, 2019). Ağır metallere kurşun, nikel, çinko, civa, kalay, kadmiyum, krom, kobalt, bakır gibi elementler örnek olarak verilebilir (Resim 2.1) ve tek başlarına toksik özellik gösterebilen elementler olarak değerlendirilmektir (Agarwal ve Darbar, 2023).

2.1.1. Ağır metal kaynakları

Ağır metaller, yerkabuğunun bileşenleridir ayrıca insan aktivitelerinin sonucunda da çevresel alanlara ulaşabilmektedir. Ağır metaller litosferde magma, tortul ve metamorfik kökenli kayaçların yapısında bulunurlar. Hidrosferin ağır metal içeriği, genel olarak ilişkili bulunduğu topraklardan kaynaklanır. Yerüstü suları sıcaklık, pH, adsorpsiyon ve

desorpsiyon dengesine bağlı olarak, ağır metalleri topraktan alarak bünyesine dahil eder ancak yeraltı suları ağır metaller için esas kaynaktır. Atmosferde ise partiküler maddeler halinde özellikle sanayi faaliyetleri kaynaklı ağır metaller bulunmaktadır. Ağır metallerin antropojenik kaynakları ise aktif ve eski madencilik faaliyetleri, yanma ürünleri, tarımsal faaliyetler, trafik emisyonları, dökümhaneler, demir çelik sanayi, termik santraller, atık yakma faaliyetleri, cam sanayi ve diğer birçok sanayi koludur (Çizelge 2.1). Örnek olarak, tarımsal faaliyetlerde, toprak zenginleştirme ve verim arttırma amacıyla, katkı maddeleri olarak kullanılan, fosfatlı gübrelerden çinko ve kadminyum gibi metaller toprağa karışmaktadır. Yeraltı suyundan, kanalizasyon çamurundan, arıtma çamurundan ise, kurşun, kadminyum, çinko, krom, arsenik gibi ağır metaller toprağa ulaşmaktadır (Salunke ve Shirale, 2021).

Çizelge 2.1. Ağır metallerin antropojenik kaynakları (Pathania, 2016)

Krom	Krom kaplama, petrol rafinasyonu, elektrokaplama endüstrisi, deri, tabaklama, tekstil üretimi ve kağıt hamuru işleme üniteleri.
Nikel	Galvanizleme, boya ve toz, pil işleme üniteleri ve süper fosfatlı gübreler
Kurşun	Petrol bazlı malzemeler, pestisitler, kurşunlu benzin ve mobil piller
Bakır	Elektrokaplama endüstrisi, plastik endüstrisi ve endüstriyel emisyonlar
Çinko	Kauçuk endüstrileri, boyalar, ahşap koruyucuları ve merhemler. Piller, elektrokaplama endüstrileri, fosfatlı gübreler, deterjanlar
Kadmiyum	Rafine edilmiş petrol ürünleri, boya pigmentleri, pestisitler, galvanizli borular, plastikler, polivinil ve bakır rafinerileri.
Demir	Metal rafinesinden, motor parçalarından.
Alüminyum	Yalıtımlı kablolar, seramikler, otomotiv parçaları ve böcek ilaçları.
Arsenik	Otomobil egzozu/endüstriyel toz, ahşap koruyucular ve boyalar



Resim 2.1. Ağır metallere örnekler (İnternet)

2.1.2. Ağır metallerin çevreyle etkileşimleri

Ağır metaller, doğal olarak toprak yapısında bulunmasının yanı sıra çeşitli doğal taşınma yollarıyla ve insan faaliyetleri ile farklı ortamlardan da toprağa ulaşabilirler. En yaygın olarak toprak kirliliğine sebep olan elementler arasında kurşun, nikel, bakır, civa, çinko, kadmiyum, arsenik sayılabilir (Wuana ve Okieimen, 2011).

Toprağa dahil olan ağır metaller, toprağın fiziksel yapısına, bileşimine, toprak florasının kompozisyonuna ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak değişik davranışlarda bulunabilirler. Örneğin, çoğu ağır metal iyonları, toprak polimerleri ile bağlanmak suretiyle toprakta tutulabilirler. Toprağın özellikle humus açısından zengin, yüksek iyon değiştirme kapasiteli olması, metal bağlama kapasitesini yükselten bir faktördür. Bazı ağır metaller ise, toprakta karbonat tuzları, bikarbonatlar, fosfor, sülfat veya sülfür bileşikleri olarak kararlı halde tutulabilirler (Kara, Taciroğlu ve Sak, 2016).

Topraktaki ağır metal seviyeleri yükseldikçe, ortamdaki organik madde miktarı da azalmaktadır. Ortalama sıcaklık değerlerinin artışı bu süreçleri daha da hızlandırmakta, toprağın asit dengesi bozularak orman ekosistemlerinde ormansızlaşmaya ve erozyonların artmasına neden olmaktadır. Erozyon artışı ile de ağır metaller ormansızlaşan alandan sellerle taşınarak su ekosistemlerine kadar ulaşmaktadır. İçeriğinde ağır metal barındıran ürünlerin üretimlerinin yapıldığı tesislerin konumlarının tarımsal alanlara, meralara, su

kaynaklarına ve yerleşim yerlerine olan uzaklıkları da bu bakımdan büyük önem arz etmektedir. Bu tesislerin atıkları toprağa, suya ve havaya karışarak; soluma, temas ve birçok yolla besin zincirine girmekte ve giderek daha çok canlıda birikim yapmaktadır (Echevarría ve diğerleri, 2024).

Ağır metaller fiziksel, kimyasal veya biyolojik yollarla ayrışmazlar, bu nedenle uzun süreler için ortamda varlıklarını sürdürürler ve canlılara ulaştıklarında toksisitelerini uzun süre sergileme imkânı bulurlar. Bu, ağır metallerin çevre kirliliğinde önemli rol oynadıklarının bir göstergesidir. Toprağın metal bağlama ve filtrasyon özellikleri ise canlıları ağır metallerin toksisitesinden korumaktadır. Topraktaki ağır metaller, adsorpsiyon, filtrasyon, kolloidal yapılarla bağlanma, toprak enzimleri ile kompleks oluşturma gibi işlemlerle, canlı organizmalardan uzak tutulmuş olurlar. Topraktaki metaller, devam eden yaşam döngüsü ile tekrar suya geçerek sucul sistemlere giriş yaparlar (Atabeyoğlu ve Atamanalp, 2010).

Son yıllarda özellikle madencilik faaliyetlerinin gerçekleştirildiği nehir, göl gibi tatlı su ve okyanus, deniz gibi tuzlu sulara yakın bölgelerde metal atıklarının öncelikle kıyı kesimlerinden su kaynaklarına kolaylıkla giriş yaptığı bilinmektedir. Toprak üzerinde biriken metal atıklar ise yağışların etkisiyle yeraltı sularına kolaylıkla geçebilmektedir. Tek tek veya kombine şekilde birikerek kirliliğe sebep olabilen metal birikimi, su ekosistemleri için endişe verici boyutlara çok hızlı ulaşmaktadır (Wang ve Liu, 2022).

2.1.3. Ağır metallerin canlılara etkileri

Sucul ekosistemlerde canlıların ağır metal etkisine maruz kalması temel olarak iki yolla gerçekleşir. Birinci yolda; kimyasallar su içinde çözünür ve besin zinciri yoluyla ilerler. Yani, besin piramidinde üretici canlılar (ototroflar) yoluyla ilk basamağa girebilen ağır metaller, birbiri üzerinden beslenen herbivor ve karnivor canlılar yoluyla her trofik basamakta miktar olarak katlanarak artar ve üst basamaktaki canlılarda çok büyük miktarlarda birikim seviyesine erişebilirler ve bu olaya biyomagnifikasyon denir. Örneğin fitoplanktonla beslenen bir üst trofik seviyedeki midyeler, bu elementleri kolayca ve katlanan değerlerde bünyelerine alabilmektedirler. İkinci yol ise; trofik basamaklardaki her bir canlı türünün vücudunda zamana bağlı olarak bazı toksik maddeler, örneğin ağır

metaller birikmektedirler ve bu olay biyoakümülasyon olarak isimlendirilir (Saidon ve diğerleri, 2024).

Doğrudan veya dolaylı yollardan akuatik sistemlere ulaşan ağır metaller, sucul organizmalar için ciddi bir tehlike oluştururlar. Genellikle suda çözünmeyip tortu olarak dibe çöken bu maddeler, uzunca bir süre sudaki diğer maddelerin varlığına da bağlı olarak, askıda ya da tortu şeklinde bulunarak ortamda bozulmadan kalırlar. Suda çözünmeden kalabildikleri için de, su hareketleri ile seyreltmeye çok daha az uğrarlar ve bulundukları ortamdaki dip canlılarının vücuduna, aktif ya da pasif işlemlerle (biyosorpsiyon, absorpsiyon, adsorpsiyon gibi) geçebilirler ve böylece kısa veya uzun sürelerde atılmadan kalarak biyobirikime uğrayabilirler. Bu toksik maddeler, su sistemlerindeki ekolojik piramit düşünüldüğünde, en alt trofik seviyedeki üretici canlılardan en üst trofik seviyedeki yırtıcı canlılara kadar ulaşıp, besin ağına dahil olan türlerin tamamını etkilemektedir. Ağır metalin türüne, miktarına, çevresel faktörlerin durumuna ve maruz kalan canlının türüne, yaşına bağlı olarak, kısa veya uzun vadede ortaya çıkan toksik etkilerin sonucunda, canlı türlerinde fonksiyon bozuklukları, doku, organ, hücre hasarı ve ölüm durumu ortaya çıkmaktadır (Connell, Lam, Richardson ve Wu, 2009).

Başta su ekosistemleri olmak üzere, bütün ekosistemlerde en ağır kirleticilerin başında metallerin olmasının önemli bir biyolojik nedeni vardır: Neredeyse tüm canlılar enzimatik faaliyetlerinde bazı metallere ihtiyaç duyarlar. Ekosistemlerde miktarlarının artmasıyla toksik özellik kazanmalarının nedeni; seviyesi artmış olan bazı metallerin toksik özellikler kazanarak enzimatik faaliyetlerde canlılara zarar vermeye başlamasıdır. Böylece, canlıların dokularına, üreme, dolaşım, solunum gibi sistemlerine, kimyasal veya biyolojik özelliklerinde hasarlara hatta ölümlere neden olurlar (Kayhan, 2019).

Kurşun, arsenik ve krom başta olmak üzere birçok ağır metal, canlılar için yüksek kanserojen etkileri nedeniyle dikkat çekmektedir ve çevrede kalıcı kirletici olarak yer almaktadırlar. Özellikle sucul ortamlarda daha hızlı şekilde çözünebilen/dağılabilen ağır metaller; balık türleri, omurgasız canlılar (örneğin midye türleri) tarafından hızla emilir ve bunların dokularında, organlarında birikmeye başlarlar (Saidon ve diğerleri, 2024). Akuatik organizmaların vücutlarına dahil olduktan sonra, besin zinciri yoluyla insanlara kadar ulaşır (Xu, Zhan, Hong ve Chen, 2020).

Sucul ekosistemde bulunan canlılarda ortama metal salınmasıyla birlikte bu canlılarda özellikle hayvanlarda metal stresi oluştuğu bilinmektedir. Bu stres sonucunda canlıların solunum, sindirim, hareket, üreme, beslenme gibi organ ve sistemlerinde fizyolojik ve kimyasal değişiklikler görülür. Bu da doku hasarı, DNA hasarı, genotoksisite ve canlı ölümü gibi sonuçlar doğurmaktadır (Wang ve Liu, 2022).

2.1.4. Kurşun (Pb) ağır metali

Periyodik cetvelde atom numarası 82 olan ve 4A grubunda yer alan kurşun (Pb), sanayide yoğun kullanılan ve işlenmesi kolay bir elementtir. Ayrıca yumuşaklığı nedeniyle sünek olduğundan kolayca tel ve levha haline getirilebilme, korozyona dayanıklı olma, radyasyonu önleme gibi özellikleri vardır. Bu önemli özellikleri nedeniyle birçok üretim alanında kullanımı yaygındır (Resim 2.2) (Demir, Ozan ve Temizer Ozan, 2015).



Resim 2.2. Kurşun (Pb) elementi (İnternet)

Kurşun kirliliği küresel ölçekte yaygın bir çevre sağlığı sorunudur. Çok sayıda uygulama alanında kullanılmakta ve bunun sonucu olarak ekosistemlerde fazlaca bulunmaktadır. Bir ekosisteme bırakılan kurşun, atmosfere, toprağa ve sucul ortamlara taşınabilir (Xu ve diğerleri, 2020).

Kurşun emisyonlarının en önemli kaynakları arasında madencilik faaliyetleri, dökümhaneler, akümülatörler, pil üretimi, motorlu araçlar, balata ve lastikler, kömür

yakma, tekne ve traktör yakıtları, kurşun bazlı boyalar (tekstil boyaları, dış cephe boyaları, saç boyama ürünleri), seramikler, borular, lehimleme, mühimmatlar, ilaçlar, kozmetikler, plastikler ve X ışınlarından koruyucu cihazlar sayılabilir.

Tüm bu kaynaklar arasında, en yüksek hacimli kaynaklar ise, kurşunlu benzin ve boyalardır. İlk kez 1922 yılında kullanılmaya başlayan tetrametil ve tetraetil kurşun bileşikleri içeren benzin, bazı ülkelerde 1970'lerden itibaren yasaklanmaya başlanmıştır. Kurşunlu benzin kullanımı, ancak 2021 yılında Cezayir'in elindeki stokların tüketilmesiyle tüm dünyada 99 yılın sonunda tamamen sonlandırılabilmiştir (Algarni ve Al-Mohaimeed, 2022).

Kurşunun erime noktasının 327,5 ˚C olduğu ve 500 ˚C'nin üzerinde de duman olarak yayıldığı bilinmektedir. Bu yayılmanın etkisi ile havaya salınımı gerçekleşir. Organik olan kurşunların uçucu özellikleri nedeniyle su kaynaklarına daha kolay ulaşarak canlıları etkilerler. Organik kurşunlar inorganik kurşunlara göre canlılar için daha tehlikeli olabilmektedir. İnorganik formdaki kurşunlar ise atmosferde asılı halde partikül şeklinde bulunurlar (Özbolat ve Tuli, 2016).

Büyük şehirlerde yaşayanlar trafikte yoğun karşılaşılan ve solunan egzoz dumanıyla, içme suları ve besinlerle bile günlük belli bir dozda kurşuna maruz kalmaktadırlar. Kırsal kesimde yaşayanlar ise yerleşim yerlerine yakın fabrika atıklarının içme sularına ve tarımsal sulamada kullandıkları sulara karışmasıyla birlikte bu kirlilikten doğrudan etkilenirler.

İnsanların kurşun maruziyet yollarında en büyük payı kurşun içeren toz ve aerosollerin solunması oluşturmaktadır. Bunu kurşunla kontamine olmuş su ve gıdaların tüketilmesi ve çocukların kurşun içeren toprak, boyalı oyuncaklar gibi gıda dışı materyalleri ağızlarına almaları oluşturmaktadır. Kurşun aynı zamanda deriden de emilebilir. Kurşun emilmesi yaşa bağlı olarak değişmektedir, su ile alınan kurşunun emilme oranı çocuklarda erişkinlerdekinden çok daha yüksektir (Tchounwou, Yedjou, Patlolla ve Sutton, 2012).

Canlılar için tehlikeli olan kurşun ağır metaline, uzun veya kısa süreli maruz kalınmayla kurşun zehirlenmesi gerçekleşir. Kısa süreli ve yüksek doza maruz kalmayla, akut zehirlenme; uzun süreli maruz kalmayla ise kronik zehirlenmeler ortaya çıkar ve etkileri

geniş zamanda görülür. Vücuttan atılma hızı yavaş olan kurşunun özellikle insan vücudunda başta böbrekler olmak üzere, karaciğer, kalp, beyin, omurilik, hematopoetik sistem, endokrin sistem organları gibi yumuşak dokuların haricinde, en çok mineral dokuda yani dişlerde ve kemiklerde birikerek uzun yıllar vücutta depolandığı bilinmektedir (Özbolat ve Tuli, 2016).

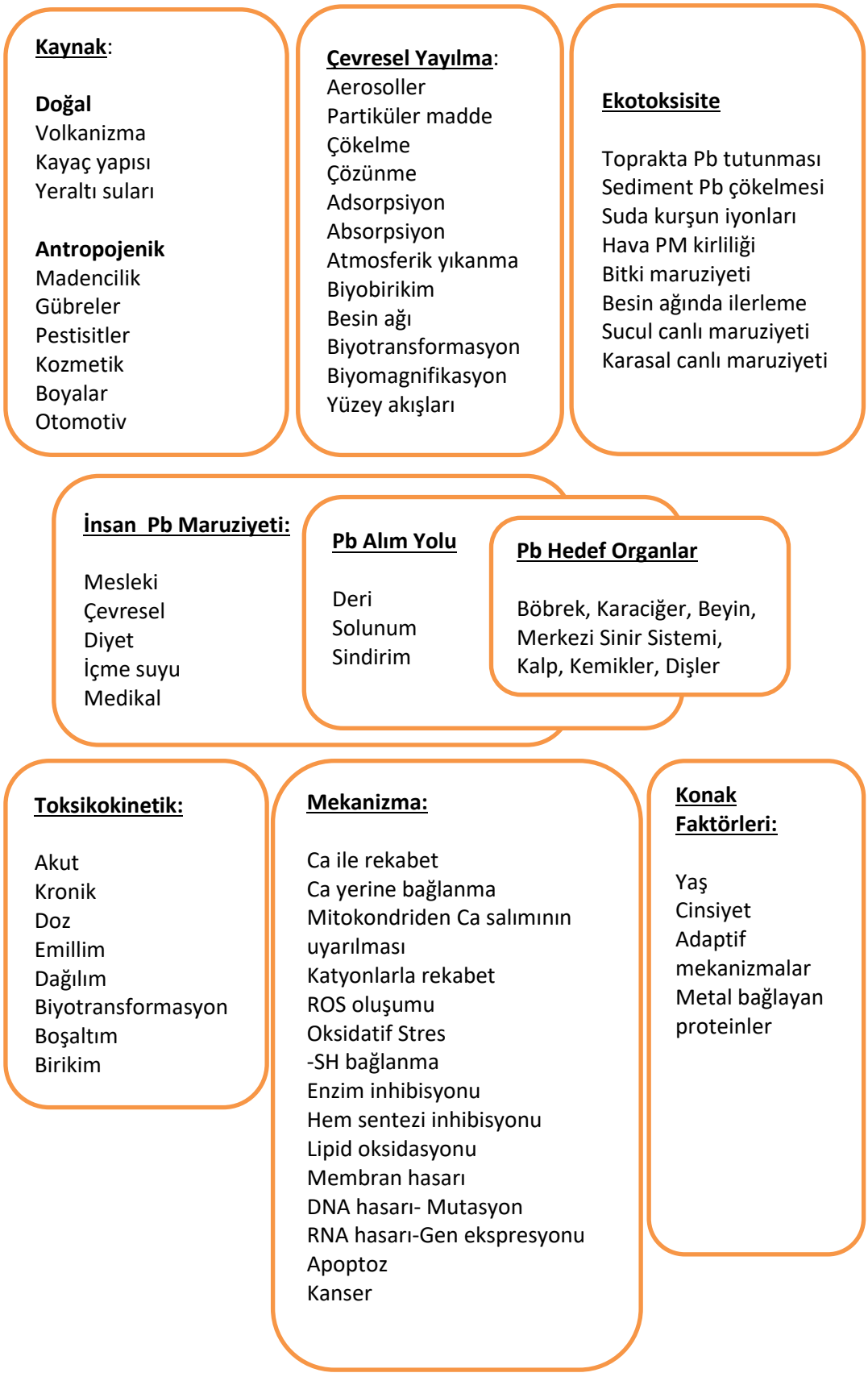
Nörotoksik ve immünotoksik etkileri olduğu bilinen kurşunun, özellikle çocuklarda gelişim geriliği, kas rahatsızlıkları, üreme sistemi bozuklukları, sinir siteminde ve bağışıklık sisteminde fonksiyon bozuklukları, hematolojik, gastrointestinal değişiklikler gibi çeşitli sağlık problemlerine yol açtığı bildirilmiştir. Erişkinlerde ise üreme sistemi bozuklukları, beyin hasarı, böbrek hasarı, merkezi sinir sitemi, kardiyovasküler sistem rahatsızlıklarına sebep olmaktadır (Mobarak ve Sharaf, 2011).

Kurşunun vücutta birikmesi için temel mekanizma, diş ve kemiklerdeki kalsiyum yerine kurşunun bağlanmasıdır. Aynı mekanizma, bu çalışmanın model organizması olan midyelerin kalsiyum içeren kabuklarında kurşun birikimi için de geçerlidir. Kurşun ayrıca enzim zehirlenmesine sebep olur. Enzim yapısındaki sistein kalıntılarının -SH gruplarına kurşun bağlanır ve enzimin işlevine engel olur. Bunun yanında, kurşun iyonları kendisi gibi metal katyonları ile yarışmalı inhibisyona girerek enzimi inhibe eder. Kurşun, sinir iletiminde hücre içi kalsiyum düzeylerinin değişmesine yol açar, sarkoplazmik retikulum ve mitokondriyal kalsiyum salımını değiştirir (Flora, Saxena, Gautam, Kaur ve Gill, 2007).

Kurşun iyonları, reaktif oksijen türlerinin oluşumuna sebep olarak, hücre zar yapılarında hasara sebep olur ve hücre bütünlüğünün bozulmasına yol açar. Antioksidan sistem enzimlerinin (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi) aktivitelerinde değişmeyi tetiklediği ve apoptoz için kaspaz-3 aktivasyonu gibi önemli moleküler mekanizmaları etkilediği bildirilmiştir (Yedjou, Steveerson, Tchounwou ve PB, 2006).

Kurşunun kanserojen etkiye sahip olduğu bazı hayvan deneylerinde gösterilmekle birlikte, insanlar için Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından muhtemel insan karsinojeni olarak sınıflandırılmaktadır. Ancak kurşunun gen mutasyonlarına ve kardeş kromatid değişimlerinde bozulmalara sebep olduğu, DNA tamir mekanizmasının inhibe edilmesi ve tümör baskılayıcı genlerde mutasyonlara sebep olduğu bildirilmiştir (Şekil 2.1) (Tchounwou, Yedjou, Patlolla ve Sutton, 2012).

Şekil 2.1. Kurşun maruziyeti ve toksisitesinin aşamaları



2.1.5. Kurşun II asetat

Kurşunun kullanımı diğer ağır metallerde olduğu gibi sanayi devrimi öncesinde, Romalılar dönemine kadar dayanmaktadır ve çeşitli bileşik formatlarında günümüzde de sıklıkla kullanılmaktadır. Kurşun asetat ise suda çözünebilirliği nedeniyle tercih edilen bir bileşiktir.

Beyaz kristal yapıda (Resim 2.3), çözünebilirliği diğer kurşun bileşiklerinden yüksek olan kurşun (II) asetat, birçok kurşun bileşiğine kıyasla 1,5 kat daha hızlı emilen zehirli bir bileşiktir ve biyoyararlılığı en yüksek kurşun formlarından biridir. "Kurşun şekeri" olarak da bilinen bu madde suda çözünür. Antik Roma'da içkileri tatlandırmak için kullanılmış ve bu nedenle de pek çok zehirlenmeye neden olmuştur. Yasaklanmasına rağmen gıdalarda kullanımı uzun süre devam etmiştir (İnternet).



Resim 2.3. Kurşun II asetat (İnternet)

Zehirli bir bileşik olan kurşun II asetatın ticari formu olan kurşun asetat trihidrat [$Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$], günümüzde kurşun yerine alternatif olarak kullanılmaya devam etmekte, diğer kurşun bileşikleri gibi boya, tekstil, kozmetik, gıda sanayisinde ve endüstride (kozmetik ürünlerde koruyucu, bazı saç boyalarında ana madde, boya ve vernik kurutucusu, hidrojen sülfür gazı tespit maddesi, böcek ilacı içeriği, gıda koruyucusu ve tatlandırıcısı olarak) kullanılmaya devam etmektedir. Bu nedenle hem çevresel etkenlerle maruz kalma hem de üretimde çalışan kişilerin bu bileşiğe mesleki maruziyeti olmaktadır (Ghazi ve Millette, 1964).

2.2. Midyeler

2.2.1. Midyelerin biyolojik ve morfolojik özellikleri

Sınıflandırmaları itibariyle; Hayvanlar (Animalia) aleminin, Yumuşakçalar (Mollusca) şubesinin, Bivalvia (Çift Kabuklular) sınıfına dahil olan midyeler iki kabuklu yumuşakçalardır. Bu sınıfa giren canlılar belirgin bir baş bölgesine sahip olmadıkları halde, balta şeklinde ayakları vardır. Çok sayıda (en az 75 bin) tür içeren Bivalvia sınıfındaki canlıların sınıflandırmalarında; kabuk yapısı, renk, boyutlar, iç organlar, manto ve balta şeklindeki ayak yapıları rol oynar (Demirsoy, 1998).

Bivalvia, iki menteşeli parçadan oluşan bir kabukla çevrelenmiş yanal olarak sıkıştırılmış bir gövdeye sahip olduklarından "çift kabuklular" da denilen bu sınıftaki deniz ve tatlı su yumuşakçalarının baş kısımları yoktur. Deniz tarağı, istiridye, deniz midyesi gibi tuzlu sularda yaşayan birçok türün yanı sıra tatlı sularda yaşayan çok sayıda türü de mevcuttur. Kalsiyum karbonattan oluşan iki parça halindeki valf denilen kabuklar, bir kenar boyunca esnek bir bağ ile birleşir ve bu bağ genellikle her bir valf üzerindeki birbirine kenetlenen "dişler" ile birlikte menteşeyi oluşturur. Bu düzenleme sayesinde, iki kabuk parçası birbirinden ayrılmadan açılıp, kapanabilir. Solungaçları beslenme ve solunum için kullanılan "ctenidia" denilen özel organa dönüşmüştür (İnternet).

Unionidae familyasına ait midye türleri, diğer familyalarda bulunmayan ayak organına sahiptirler. Bu sayede bulundukları yüzeyde ayak organının uzantılarını kabuklarını açarak dışarı çıkarır ve yüzeye temas ederek yer değiştirebilirler. Bu familyadaki midyelerde kabuk çeşitliliği fazla olduğu için kabuk fenotipleri de çok önemli yer tutar. Yaşam alanlarındaki farklılıklara ve zorluklara bu kabukları sayesinde adapte olurlar. Suyun akıntı hızından etkilenmemek için kabuğun dorsal özelliği ile gömülür ve düşme risklerini azaltırlar. Kabuğun ayrıca midyelerin üzerindeki halkaların sayılması ile yaş hesaplama çalışmalarında kullanılması gibi önemli bir özelliği daha vardır (Batmaz, 2019).

2.2.2. Midyelerin ekolojik önemleri

Midyeler su ekosistemlerinde daha çok bentik bölgede yaşarlar. Çoğunluğu suyu filtre ederek beslenirler. Bulundukları su içerisindeki askıda kalan maddeleri, solungaçlarında

bulunan ince kirpikler yardımıyla sindirim sistemlerine taşıyarak beslenirler. Bu nedenle ağır metaller açısından riskli gruba girerler (Gagné ve diğerleri, 2019).

Yapılan toksikoloji çalışmalarında, şehirleşmenin ve sanayileşmenin fazla olduğu bölgelere yakın kıyı kesimlerde yaşayan midyelerde, toksik düzeyde daha çok metal birikiminin olduğu tespit edilmiştir (Canlı, Bayköse, Hızarcı Uslu ve Canlı, 2023).

Midyelerin yaşadıkları habitatların başında olan denizler (özellikle de kıyılar, haliçler) ve sucul ekosistemler son yıllarda iklim değişikliği ve kirlilik gibi çevresel etkilerin en yoğun şekilde hissedildiği alanlardır. Suda çözünmeyen metallerin, midyeler tarafından suyun absorpsiyonuyla vücut içine alındığı ve bunun sonucunda doku ve organlarında birikerek toksik özellik gösterdiği bilindiğinden, kirlenme ve birikim konusunda yapılan araştırmalarda midyeler çok tercih edilmektedir.

Örneğin bu konuda yapılan bir çalışmanın sonucuna göre; insanlar için kirliliğe açık olarak görülen akuatik sistemlerin kirliliklerinin belirlenmesi için, analiz çalışmalarından ziyade günümüzde artık akuatik canlı organizmaların kullanıldığı ve daha verimli sonuçların alındığı çalışmaları tercih etmektedirler. Bu çalışmalar ile kirliliğin etkilediği hedef canlıların üzerindeki etkiler histolojik, genetik ve enzimatik parametreler ile değerlendirilmektedir. Su ekosistemlerinde yaşayan omurgasız canlılar kısa yaşam döngüleriyle, yapılan toksisite çalışmalarına hızlı yanıt verdikleri için, bu çalışmalara önemli katkı sağlamaktadırlar. Çift kabuklular gibi bazı omurgasız canlılar, çok sayıda olmaları ve yaşadıkları alanda geniş yayılım göstermeleri nedeniyle çok kolay temin edilebilen biyobelirteçtirler (Wang ve Liu, 2022).

Başka bir araştırmaya göre de midyeler, tatlı ve tuzlu su ortamlarında sessil veya kısmi hareketli olarak yaşayabilen ve yaşadıkları su ortamındaki maddeleri filtreleme özelliklerinden ötürü toksikoloji çalışmalarında en çok tercih edilen ve biyoindikatör görevi gören canlılardır. Midyeler insanlar tarafından besin maddesi olarak tüketildikleri için bu canlılarla yapılan çalışmalar yüksek öneme sahiptir (Delgado A. I. ve diğerleri, 2023).

Biyolojik ve çevresel faktörler midyeler üzerindeki ağır metal konsantrasyonunu doğrudan etkilemektedir. Midyelerde bulunan Pb, Hg gibi ağır metallerin konsantrasyonları; pH,

sıcaklık, mevsim, suyun kirlilik ve tuzluluk oranı gibi çevresel faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterir. Ayrıca midyelerin cinsiyetleri, üreme durumları, boyutları, yaşı gibi biyolojik etkenler de midyelerin ağır metal biriktirme kapasitelerini etkilemektedir (Delgado A. I. ve diğerleri, 2023).

Özellikle tatlı su döngüleri söz konusu olduğunda midyelerin, su ekosistemlerinin temizliği ve devamlılığında önemi çok büyüktür. Örneğin (Unionid grupları midye türleri başta olmak üzere) suyu filtre eder ve aynı zamanda bulundukları ortamdaki fitoplanktonla beslenerek aşırı artışlarını engelleyip ötrofikasyonun önüne geçmiş olurlar. Bu sayede fosforu sudan arındırıp suyun daha kaliteli hale gelmesine yardımcı olurlar (Odabaşı, 2011).

Benzer şekilde, "Unionid" tatlı su midyelerinin geniş dağılıma sahip olmaları, sessil yaşamaları, suyu filtreleme özellikleri, dayanıklı türleri barındırmaları ve su kalitesini iyileştirme özelliklerinden dolayı biyobelirteç türler olarak anıldığını bildirmektedir. Ayrıca midyelerin, doğal su kaynaklarında özellikle balıkların temel besin kaynaklarından biri olduklarını, insanların ise bu balıkları yemeleri nedeniyle besin zincirine dahil olduklarını, midyelerin birikim konusunda yüksek bir toleransa sahip olmalarının ise onları yiyen canlıları (öncelikle de insanları) riske soktuğunu belirterek; midyelerdeki birikimin analiz edilmesinin; su kalitesinin ve kirliliğinin tespiti için önemli bir rol oynadığını açıklamaktadır (Batmaz, 2019).

Mollusca phylumunun tatlı sulara en başarılı şekilde adapte olabilen sınıfları Gastropoda ve Bivalvia sınıflarıdır. Bivalvia sınıfının içerisinde yer alan Unionidae familyası ise Dünya üzerindeki tatlı su midyeleri familyaları arasında çeşitliliği en fazla olanıdır (Odabaşı, 2011).

2.2.3. *Unio delicatus* sistematiği

Tatlı su midyesi olan *Unio delicatus* Lea 1863 türünün, taksonomisinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar 20. yüzyılın başlarına kadar daha çok morfolojik ve fiziksel özellikleri değerlendirilerek yapılmaktaydı. Fakat 20. yüzyıldan itibaren hızlanan moleküler ve teknolojik gelişmeler sayesinde taksonomi çalışmalarında sadece morfolojik

özellikleri değil, genetik, moleküler, histolojik ve filogenetik düzeyde çalışmalarla daha etkili ve doğru sınıflandırmalar yapılmaya başlanmıştır.

Her midye türünün kendine özgü fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle yapılan deney ve çalışmalara verdikleri yanıtlar da farklı olmaktadır. Örnek olarak maddeleri bünyelerinde biriktirme süreleri ve yapılan dozlamalara verdikleri yanıtlar birikim düzeylerindeki farklılıklara bakılarak anlaşılmaktadır.

Unio delicatus türü tatlı su midyelerinin taksonomisi (Lea, Jeanes, Vaux ve Bridges, 1863)'e göre aşağıda verilmiştir.

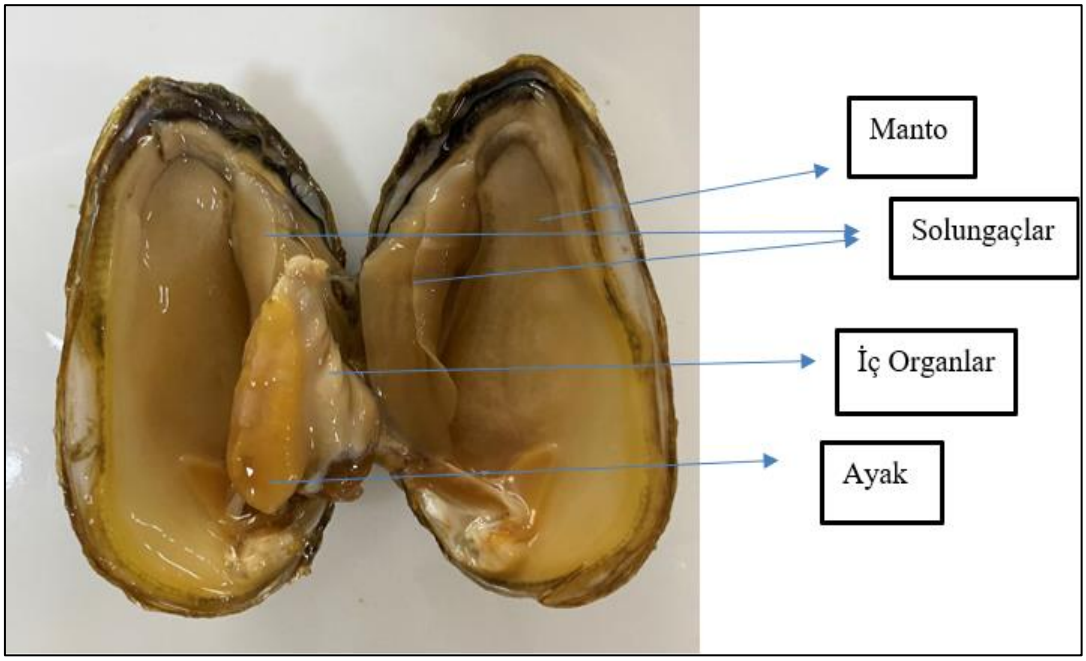
Alem (Kingdom) : Animalia
Şube (Phylum) : Mollusca
Sınıf (Classis) : Bivalvia (Pelecypoda = Lamellibranchia)
Alt sınıf (Subclasiss) : Autobranchia
Takım (Ordo) : Unionida
Aile (Familia) : Unionidae
Cins (Genus) : Unio
Tür (Species) : *Unio delicatus* Lea I.1863



Resim 2.4. *Unio delicatus*



Resim 2.5 *Unio delicatus* kabuk görüntüsü

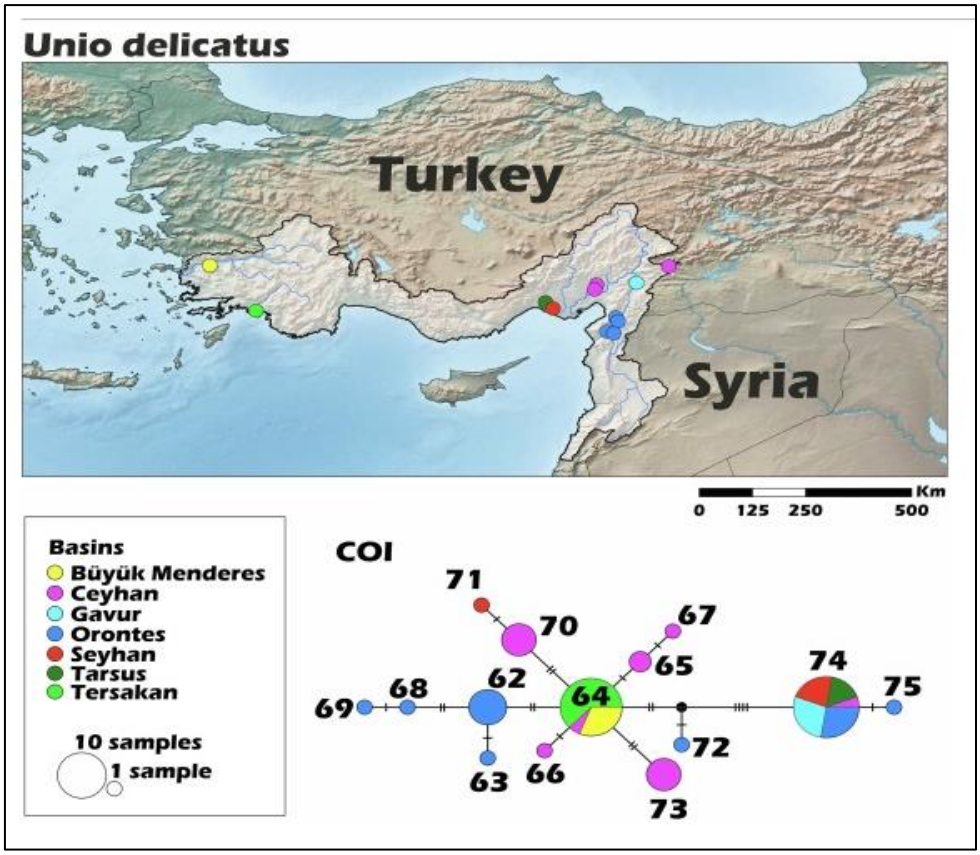


Resim 2.6. *Unio delicatus* anatomisi

2.2.4. Tatlı su midyesinin dağılımı ve habitatı

Unionidae familyası dünya üzerinde geniş bir yayılıma sahip olup, Kuzey Amerika başta olmak üzere, Asya, Avrupa gibi birçok ülkede bu familyaya ait yaklaşık 1000 civarında tür bulunmaktadır. Üç kıtanın kesişme noktasında bulunan ülkemizin ekolojik açıdan değerli coğrafi konumu nedeniyle Türkiye'deki midyelerin tür çeşitliliği fazladır. Tatlı su, tuzlu

su, acı su gibi çok çeşitli su ekosistemlerine sahip olduğu için sulak alanlarda yaşayan canlı sayısı ve tür çeşitliliği de fazladır. Unionidae familyasına ait türlerden biri olan tatlı su midyesi *Unio delicatus,* Türkiye'de Çine Çayı, Ceyhan ve Seyhan nehirlerinin bulunduğu havzalar ve güneyde Suriye sınırına kadar olan kıyı kesimlerinde ve nehirlerde yayılış göstermektedir (Lima ve diğerleri, 2021).



Harita 2.1. *Unio delicatus* Türkiye üzerindeki dağılımı (Renkler havzadaki birey oranlarıdır) (Lima ve diğerleri, 2021)

Genellikle akışın az olduğu ve çamurlu sulak alanları yaşam alanı olarak seçtikleri değerlendirilmiştir. Ayrıca kentsel, tarımsal ve ormancılık faaliyetlerinin yapıldığı alanlardaki atıklar, kurutulan sulak alanların ve kuraklığın tür üzerindeki önemli tehditler arasında olduğu belirtilmiştir. Yaşadıkları sulak anların kurutulması, su çekilmesi, nüfus artışından kaynaklı artan tarımsal faaliyetlerden ve şehirleşmeden dolayı su kullanımının artması ve kirlilik ile birlikte tür üzerindeki habitat kaybı riskini arttırmaktadır. Tüm canlılar için habitat kaybı, türlerin bulunduğu popülasyonun dengesini bozan ve popülasyon sayısının azalmasına neden olan en büyük etkenlerden biridir. Habitat kaybı türlerin devamlılığını ve yaşam alanlarını riske atan bir tehlikedir.

2.3. Literatür Araştırması

Yeryüzünde değişik formlarda ve konsantrasyonlarda bulunan metaller, biyolojik ya da kimyasal olarak ayrışmaya uğramazlar, başka bileşiklere dönüşürler ve bulundukları alanda yok olmazlar. Bu nedenle metal kirliliği ulaştığı ortamda sürekli olarak kalır ve uzun süre ekolojik dengeyi ve tür çeşitliliğini tehdit eder. Atmosfere veya toprağa yayılan metaller, devam eden yaşam döngüsü ile tekrar suya geçerek sucul sistemlere giriş yaparlar (Atabeyoğlu ve Atamanalp, 2010).

Ağır metallerin bazıları girmiş oldukları sucul sistemlerde çok düşük derişimlerde bile toksik olabildiği gibi, bazıları ise miktarlarının artmasıyla toksik özellik kazanırlar. Tüm canlılar enzimatik faaliyetlerinde bazı metallere ihtiyaç duyarlar. Seviyesi artmış olan bu metaller toksik özellik kazanarak enzimatik faaliyetlerde bu canlılara zarar vermeye başlarlar. Proteinlere negatif yüklü grupları üzerinden bağlanarak, enzimatik aktivitelerini inhibe ederler. Bu canlıların dokularına, üreme, dolaşım, solunum gibi sistemlerine, kimyasal veya biyolojik özelliklerinde hasarlara hatta ölümlerine neden olurlar (Kayhan, 2019).

Sucul ekosistemde bulunan canlılarda, özellikle hayvanlarda, metal maruziyeti ile birlikte metal stresi oluştuğu bilinmektedir. Bu stres sonucunda canlıların solunum, sindirim, hareket, üreme, beslenme gibi organ ve sistemlerinde fizyolojik ve kimyasal değişiklikler görülür. Bu da DNA hasarı, genotoksisite, doku hasarı ve canlının ölümü gibi sonuçlar doğurmaktadır.

Aynı zamanda, metaller besin zincirinde üst trofik basamaklardaki canlılara aktarılır ve su ürünlerinin tüketilmesiyle insanlara ulaşır. Son yıllarda midye gibi deniz ve tatlı su ürünlerinin tüketiminin artması ile dünya genelinde bu canlılar ticari olarak da önem kazanmıştır (Liu ve diğerleri, 2022).

Olması gerekenden fazla miktarda yani toksik olabilecek düzeyde ortamda birikmeleri nedeniyle Hg, Mn, Cu, Fe, Pb gibi eser düzeyde bulunan ağır metaller, giriş yaptıkları sularda yaşayan canlıların üreme, gelişim, nöroloji, solunum, boşaltım gibi önemli sistemlerine zarar vererek böbrek, akciğer, karaciğer, beyin gibi hayati önem taşıyan organlarında genetik hasarlar, kanser, doku kaybı gibi sağlık sorunlarına yol açmalarına ve

biyolojik işleyişlerini kaybetmelerine neden olurlar (Algarni ve Al-Mohaimeed, 2022). Sucul ekosistemlerdeki canlıların kurşun gibi ağır metallere potansiyel maruz kalma riskini en aza indirebilmek için biyobelirteç türler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (Xu, Zhan, Hong ve Chen, 2020).

Kurşun II asetatın, *Unio delicatus* türü üzerine etkilerinin çalışıldığı makale sayısı son derece az olduğundan; bir fikir verebilmesi açısından farklı midye türlerinde yapılan ağır metal çalışmaları kıstas olmak üzere alınmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan ve bizim çalışmamızdan farklı olan bazı ağır metal türlerinin, bizim kullandığımız model organizmamızdan farklı türdeki midye türlerinin doku ve organlarında oksidatif strese, hücre içi bozukluklara, kemik ve kıkırdak yapılarında değişikliklere yol açtığı belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada, kömür ve metal işletmelerinin yakınında bulunan nehirlerde yaşayan (*Villosa iris*) tatlı su midyesinin bakır, nikel ve çinko metallerine ayrı ayrı ve karışım halinde farklı dozlarda 42 gün süreyle maruziyet sonuçları iki farklı deneyle incelenmiştir. Karışım halde bulunan metallerin canlılar için daha toksik olup olmadıklarının araştırıldığı bu çalışma ile midyelerin yaşama ve büyüme değerlerine bakıldığında karışım halindeki Cu, Ni, Zn' nin (7,2 ± 1,2, 65,3 ± 6,1, 183 ± 32 μg/L) % 61 oranında büyümeyi engellediği sonucuna varılmıştır (Timpano ve diğerleri, 2022).

Madencilik faaliyetlerinden kaynaklı denizlerdeki metal kirliliğinin etkileri üzerine yapılan çalışmada, *Bathymodiolus platifron* türü deniz midyesi Cu (100 μg/L) ve Cd (500 μg/L) metallerine ayrı ayrı ve karışım halde (100 μg/L Cu ve 500 μg/L Cd) 7 gün süreyle maruz bırakılmışlardır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) ve metallotiyonin (MT) değerleri incelenmiştir. Özellikle karışım halindeki dozlamada midyenin fizyolojik işleyişlerinde değişmeler, yağ asidi, karbonhidrat, amino asit düzeylerinde düşüş, oksidatif stres, solungaçlarında fazla metal birikimi ve hücresel hasara yol açtığı sonucuna varılmıştır (Zhou ve diğerleri, 2021).

Akdeniz midyesi olan *Mytilus galloprovincialis* ile yapılan bir çalışmada ise 14 gün süre ile bulundukları ortama polisiklik aromatik hidrokarbonun (PAH) bulunduğu ve bulunmadığı iki ayrı deney ortamına, ZnO ve TiO_2 metalik nanopartikülleri de eklenerek kalıcı organik kirleticilerin etkileri ve toksik durumlarını izlemişlerdir. Çalışma sonucunda

midyelerde PAH, Ti ve Zn nanopartiküllerinin biyolojik olarak bünyelerine alınıp biriktiği ve midyenin asetilkolin esteraz aktivitelerinde, solunum ve filtreleme sistemlerinde etkilere yol açtıkları belirlenmiştir (Bouzidi ve diğerleri, 2023).

Yapılan bir başka çalışmada ise tatlı su midyesi olan *Anodontites trapesialis,* maden kirleticileri olarak bilinen Zn, Fe ve Mn partiküllerine 96 saatlik kısa süre ile tek tek, ikili ve kompleks şeklinde maruziyetleri sonucundaki metal biyobirikimleri, oksidatif stres ve etkileri ölçülmüştür. Solungaçlarında kısa süreli maruziyetten kaynaklı olduğu düşünülen bir etki görülmediği yalnız sindirim bezi ve manto organlarında hassasiyet, oksidatif hasar oluştuğu ve özellikle yüksek dozda uygulanan Zn testinde çok miktarda mukus salgılanarak etkiye tepki oluştuğu gözlemlenmiştir (Oliveira, Cabral, Risso ve Martinez, 2018).

(Morais ve diğerleri, 2023)'nin *Mytilus galloprovincialis* midyesi ile yaptıkları deneyde, endüstriyel atık olarak kıyı şeritlerinden çevreye fazla salınan ve yüksek toksik özellikleri bulunan Hg (gümüş), Ni (Nikel) ve Co (Kobalt) metallerine maruziyetlerinin etkilerini incelemişlerdir. Bu metaller Hg (25 µg/L), Co (200 µg/L) ve Ni (200 µg/L) konsantrasyonlarda olacak şekilde *Mytilus galloprovincialis* midyelerine, tek tek ve üçlü kombinasyon halinde 28 gün süre ile maruz bırakılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde tekli maruziyetlerden ziyade üçlü metal karışımına karşı midyenin daha hassas tepki verdiği, oksidatif hasarın oluştuğu ve enerji rezervlerinin düşüşe geçerek hücresel hasarın görüldüğü belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Unio delicatus* tatlı su midyelerinin temin edildiği bölge

Deneyde kullanılan *Unio delicatus* türü tatlı su midyeleri, Hatay İli Kırıkhan İlçesi Gölbaşı Gölü'nden temin edilmiştir. Gölbaşı Gölü, Hatay İli Kırıkhan İlçesi sınırları içerisinde ve Doğu Akdeniz Havzasında yer almaktadır. Göl, Hatay'a yaklaşık 50 km uzaklıkta ve 12.000 m² alana sahip olmakla birlikte 36°30'17.9" kuzey enlemi ve 36°29'08.5" doğu boylamı koordinatları arasında yer almaktadır. Deniz seviyesinden 75 m yükseklikte yer alan Gölbaşı Göl'ünde çeşitli balık, amfibi, kuş ve midyeler olmak üzere çeşitli canlı türleri yaşamaktadır. Gölün üzerinde iki adet ada bulunmaktadır. Göl çevresinde daha çok mısır, pamuk, buğday gibi ürünlerin tarımsal faaliyetleri gerçekleştirilmekte ve balıkçılık yapılmaktadır (Özşahin, 2011).



Resim 3.1. Gölbaşı Gölü (İnternet)

3.1.2. *Unio delicatus* tatlı su midyelerinin laboratuvara ulaştırılması ve uyum çalışmaları

Hatay İli Kırıkhan İlçesi Gölbaşı Gölü'nden, yerel balıkçılardan satın alınan *U. delicatus* tatlı su midyeleri, ışık geçirmeyen strafor kutularda, su dolu poşetler içinde ve serin ortamda muhafaza edilerek laboratuvara ulaştırılmıştır. Temin edilen 200 adet *U. delicatus* türü tatlı su midyelerinin laboratuvar koşullarına uyum sağlaması amacıyla, en az 48 saat dinlendirilmiş ve kloru giderilmiş şebeke suyunun bulunduğu 20'şer litrelik akvaryumlara konulmuştur. Her bir akvaryuma havalandırma cihazı yerleştirilmiştir (Resim 3.2).



Resim 3.2. Deney ortamına adaptasyon

Tüm midyeler 14 günlük adaptasyon süreci boyunca kontrol edilmiştir. Akvaryum sularının temizlik durumları, canlılıkları ve havalandırmaları kontrol edilerek, fitoplankton (*Spirulina sp.*) ile beslenmişlerdir. Akvaryum suyunun çözünmüş oksijen, pH, iletkenlik ve sıcaklık değerleri beş günde bir ölçülmüştür. Adaptasyon sürecinde ölü kaydedilen midyeler bulundukları ortamdan uzaklaştırılmış ve sağlıklı kalan midyelerin deneyler öncesinde laboratuvar koşullarına uyumları sağlanmıştır.

3.1.3. Kurşun II asetat stok çözeltisinin hazırlanması

Kurşun II asetat tuzu (CAS No. 6080-56-4; ACS Reag. Ph Eur) Merck (KGaA, Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. 10 g/L'lik Pb stoğunun hazırlanması için 18,3 gram kurşun II asetat hassas terazide tartılarak, volümetrik cam balon jojede 1 litre ultra

saf suda çözülmüştür. Akvaryum suyuna yapılan tüm dozlamalar bu ana stoktan yapılmıştır. Dozlama işlemi için stok çözeltisinden ilave edilmesi gereken hacimde su, akvaryumdan dışarı alındıktan sonra kurşun çözeltisi otomatik mikropipet ile akvaryuma ilave edilmiş ve cam baget ile karıştırılmıştır. 14 günlük deneyler boyunca, her gün midyelerin canlılık durumları ve su bulanıklığı takip edilmiştir.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Deney tasarımı

Biyodeney sistemi OECD (OECD, 1993) ve APHA standartlarına ve tavsiyelerine göre gerçekleştirilmiştir (APPA, AWWA ve WEF, 1998). Ön deneyler için iki litrelik cam kavanozlar içine, 48 saat dinlendirilerek kloru giderilmiş şebeke suyundan 1'er litre konularak 10'ar adet midye yerleştirilmiştir (Resim. 3.3). Ana deney öncesinde *U. delicatus* midyelerinin kurşun II asetat ağır metal karışımına maruziyet süreleri ve uygun doz aralıklarının belirlenmesi için bir ön deney çalışması yapılmıştır. Bu deneyde kurşun II asetatın geniş bir konsantrasyon aralığında kısa süreli (24 saat) etkileri gözlenmiştir. Ön deneyin sonuçlarına göre ana deneyde kullanılacak kurşun II asetata midyelerin uygun maruziyet sürelerinin ve hangi doz aralıklarında çalışmanın yapılması gerektiğinin tespiti sağlanmıştır.



Resim 3.3. Statik biyodeney düzeneği

3.2.2. *Unio delicatus* için LC_{50} değerinin belirlenmesi

Kurşun II asetatın midyeler üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla, bu çalışmada ilgilenilen organizma (*U. delicatus*) için akut toksisite değerlerinin (LC_{50}) hesaplanması yapılmıştır. Deney öncesinde akvaryumlarda bulunan suyun kimyasal parametrelerinin ölçümleri yapılmıştır. Deneylerin başlamasından bir gün önce ve deney süresince midyeler beslenmemiştir. Akut toksisite testi, 1 litre kloru uzaklaştırılmış şebeke suyunda 10 adet midye ile 20-1000 mg/L konsantrasyon aralığında gerçekleştirilmiştir. Adaptasyon süresinden sonra dozlamalar yapılmıştır. Deney gruplarının yanında, kurşun içermeyen su ortamına midyeler yerleştirilerek kontrol grubu oluşturulmuştur. Her konsantrasyon üç tekrar halinde çalışılmıştır. Deneyler statik koşullar altında 96 saat boyunca sürdürülmüştür, 24 saatte bir canlılıkları kontrol edilerek kaydedilmiştir. Midyelerin canlılıklarının tespit edilmesi için, midyelerin kabukları açılmaya zorlandığında, kabuklar geri kapanmıyorsa ölü olarak kabul edilmiştir (Resim 3.4).



Resim 3.4. Canlı ve ölü midyelerin tespiti

3.2.3. Subletal konsantrasyonlarda immünolojik etkilerin araştırılması

Akut toksisite testlerinden sonra, midyeler 1,5 litrelik kloru giderilmiş şebeke suyu içeren iki litrelik kavanozlara alınmıştır. Her bir kavanoza, 12 adet midye yerleştirilmiştir. 3 ve 14 günlük süreler için, 1-100 mg/L konsantrasyon aralığında, ölümcül olmayan konsantrasyonlara maruz bırakılmıştır. Çalışmada, kontrol grubu (kurşun dozlanmayan şebeke suyu) ve 1,0 mg/L; 2,0 mg/L; 5,0 mg/L; 10,0 mg/L; 20,0 mg/L; 50,0 mg/L ve 100,0 mg/L‘lik kurşun II asetat konsantrasyonları olacak şekilde dozlama yapılan deney grupları olmak üzere toplam 8 grup kurulmuştur. Dozlaması yapılan midyelerin deney boyunca beslenmeleri sonlandırılmış ve her gün su kalitesi ve midyelerin canlılık durumları kontrol

edilerek kayıt altına alınmıştır. 3 ve 14 günlük deneylerin sonrasında midyelerin fiziksel ölçümleri ve hemosit sayımları gerçekleştirilmiştir. Ölü tespit edilen midyeler ise deney ortamından uzaklaştırılarak kayıt altına alınmıştır.

3.2.4. Midyelerin fiziksel ölçümleri

14 günlük deney sonunda canlı kalan midyeler, kağıt havlu ile kurulanarak fazla suları alınmıştır. Sonrasında hassas terazi ile ağırlık ölçümleri yapılarak kaydedilmiştir. Midyelerin ağırlık ölçümlerinden sonra, uzunluk (boy), genişlikleri (en) ve kalınlıkları (yükseklik) ölçümleri de dijital kumpas cihazı kullanılarak kaydedilmiştir (Resim 3.5).



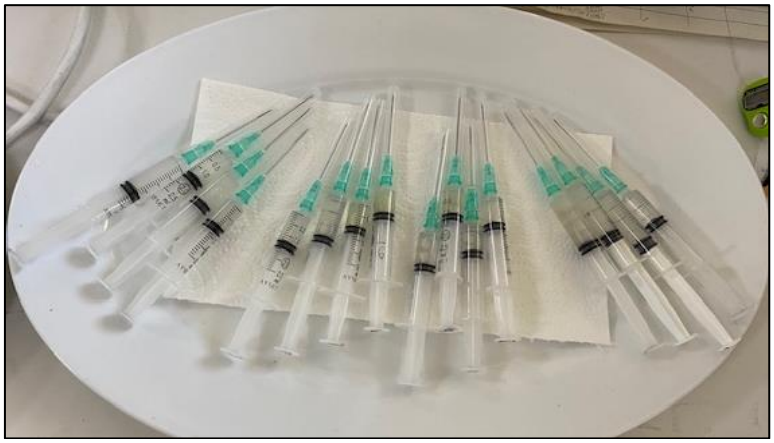
Resim 3.5. Midyelerin fiziksel ölçümlerinin alınması

3.2.5. Toplam hemosit sayımı

Subletal dozlarda 3 ve 14 günlük maruziyet süresi sonunda, tek tek numaralandırılmış 2,5 ml'lik enjektörler ile midyelerin addüktör kasından hemolenf sıvıları alınmıştır (Resim 3.6) Hemolenf sıvıları 1:1 oranında % 4'lük formaldehit ile karıştırılarak fikse edilmiştir. Işık mikroskobu altında, Thoma lamı kullanılarak incelenmiş ve her bir örnek 3 tekrarlı şekilde tek tek hemositleri sayılarak kaydedilmiştir (Resim 3.7-3.9). Hemolenfte toplam hemosit hücrelerinin sayımı (Dinçel ve diğerleri, 2013) metodunun modifikasyonu ile hesaplanmıştır.



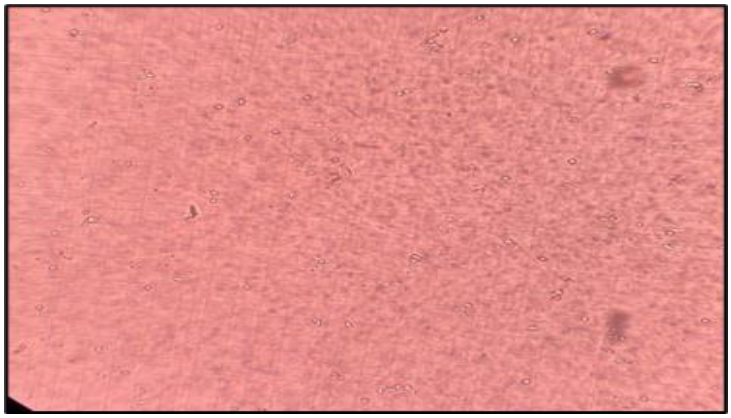
Resim 3.6. Hemolenf numunelerinin alınması



Resim 3.7. Formaldehit ile fikse edilen hemolenf numuneleri



Resim 3.8. Thoma lamı ile hemosit sayımı



Resim 3.9. Işık mikroskobunda hemosit sayım alanı

3.2.6. Kurşun birikimi deneyleri



Resim 3.10. Kurşun birikim analizi için öğütülen kabuk örnekleri

Unio delicatus'un subletal dozlarda gerçekleştirilen maruziyet deneylerinin sonunda, kabuklarında ve yumuşak dokularında kurşun birikimi olup olmadığının incelenmesi için ICP-OES analizleri yaptırılmıştır. Midyeler 1,0 mg/L; 2,0 mg/L; 5,0 mg/L; 20 mg/L; 50 mg/L ve 100 mg/L derişimlerde kurşun II asetat içeren çözeltilerde 14 gün beslenmeksizin maruz bırakıldıktan sonra ortamdan çıkarılmıştır. Her konsantrasyondan üç adet midye rastgele seçilmiş, kabukları ve yaş dokuları ayrılmıştır. Kabukların ve dokuların fazla suyu havluyla kurutulmuştur ve tartımları yapılmıştır. 3 midyenin kabukları yaklaşık 2,0-3,0 mm çapında eş boyutlu parçalara öğütülmüştür, homojen hale gelene kadar karıştırılmıştır. Üç midyenin yumuşak dokuları ise homojenize edilip 4 g örnek alınmış ve 40 mL HNO_3 ilave edilmiştir ve 70 °C'de 30 dakika inkübe edilerek çözdürülmüştür. Homojen kabuk karışımlarından ve yumuşak doku örneğinden, ICP-OES analizi yapılarak biriken kurşun miktarı tespit edilmiştir (Resim 3.10).

3.2.7. ICP-OES Analizi

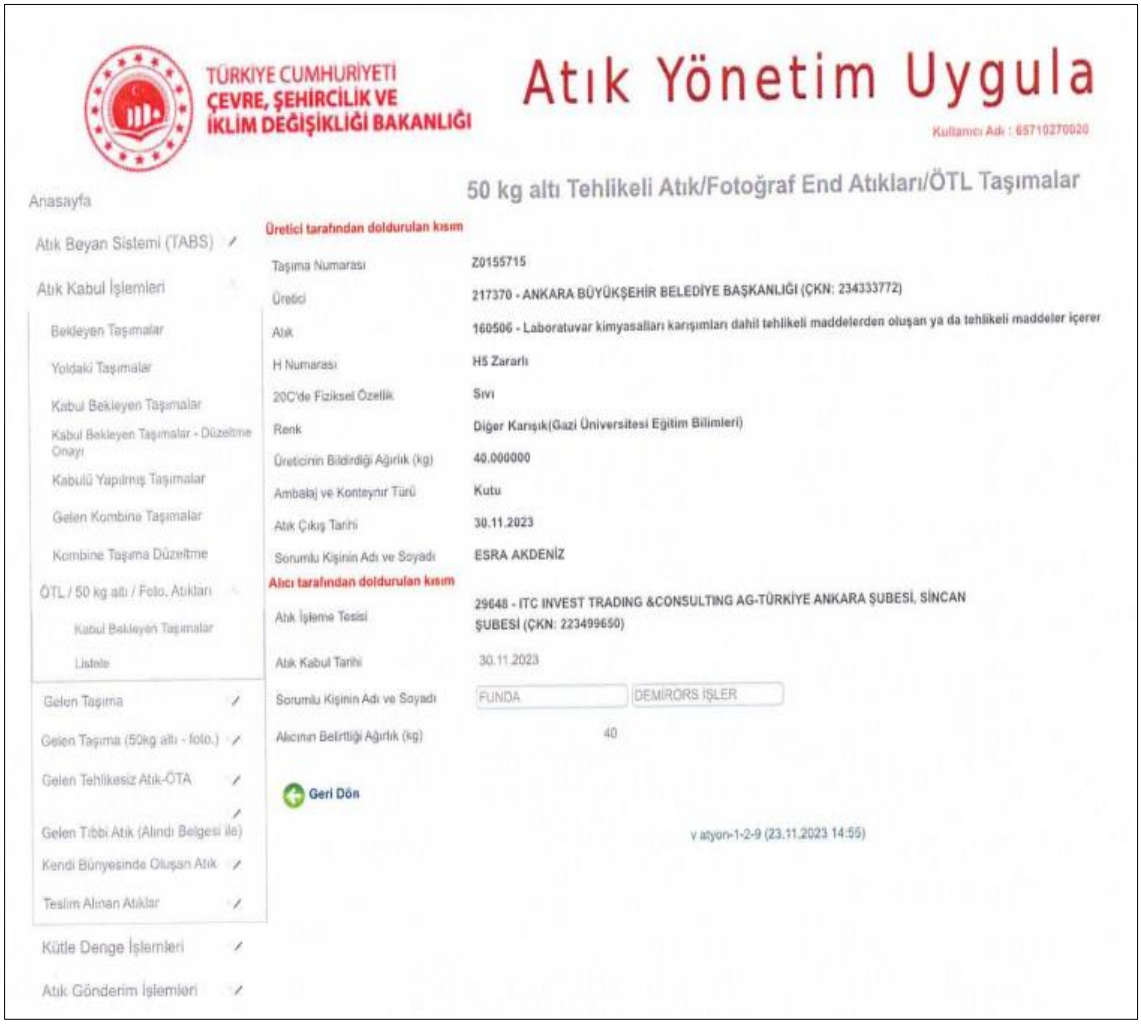
Homojen kabuk karışımları ve asitte çözdürülen yumuşak doku örnekleri, Süleyman Demirel Üniversitesi'ne bağlı olan YETEM Uygulamalı Temel Bilimler Araştırma Birimi bünyesindeki ICP-OES cihazında analiz ettirilmiştir. Numunelerin hazırlık işlemleri için EPA 3015A metoduna göre (EPA, 2007), Milestone, ETHOS ONE modeli mikrodalga yakma ünitesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Numune hazırlama aşamasında 0,5 g numuneye HNO_3 (8 mL) ve H_2O_2 (2 mL) ilave edilmiştir ve yaş yakma metoduyla asitle muamele edilmiştir. Numune ve asit karışımına saf su ilave edilerek son hacmi 20 mL'ye tamamlanmıştır. ICP-OES ölçümleri için EPA 6010 metodu takip edilmiştir ve Çizelge 3.1'de sunulan çalışma şartlarında Perkin Elmer OPTIMA 5300 DV cihazı kullanılarak analizler yapılmıştır (Çizelge 3.1) (EPA, 2007).

Çizelge 3.1. ICP- OES cihazı koşulları

Cihaz Marka ve Modeli	Perkin Elmer OPTIMA 5300 DV
Plazma gaz akış hızı	15 L/dak
Yedek gaz akış hızı	0,2 L/dak
Nebulizer gaz akış hızı	0,6 L/dak
Güç	1450 Watts
Hamlaç (torç) Kaseti Pozisyonu	-3
Pompalama hızı	1,5 mL/dak
Tahliye (Purge)	Normal
Çözünürlük (Resolution)	Normal
Entegrasyon zamanı	10 saniye minimum / 20 saniye maksimum
Okuma gecikmesi (Read delay)	60 saniye
Replikasyon sayısı	3

3.2.8 Atıkların bertarafı

Deney çalışmamız boyunca tatlı su midyeleri farklı konsantrasyonlarda kurşun II asetata maruz bırakılmıştır. Çalışma süresi tamamlanan atık kimyasal sular, sızdırmaz pet kaplara, kabın toplam hacminin %90'ını aşmayacak hacimde doldurulmuştur ve ağzı parafilmle kapatılarak ikinci bir kap içinde kutulanmıştır. Ankara Büyükşehir Belediyesi ile irtibata geçilerek atık sular, belediye ekipleri tarafından teslim alınmıştır. Atık kodu 16 05 06 olup, "Laboratuvar kimyasalları karışımları dahil tehlikeli maddelerden oluşan ya da tehlikeli maddeler içeren laboratuvar kimyasalları" olarak nitelenmektedir (Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2015). Atık sular bertaraf edildikten sonra Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı tarafından hazırlanan 'atık kimyasal motat bilgisi'ni içeren belge (Resim 3.11), belediye tarafından bize gönderilmiştir. Çalışmamız çevreye zarar vermeden tamamlanmıştır.



Resim 3.11. Atık Kimyasal Motat Belgesi

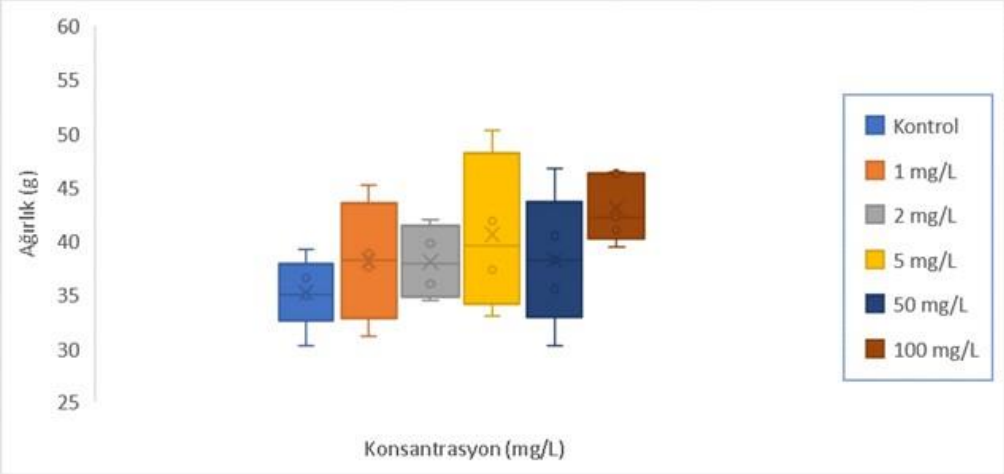
4. BULGULAR

4.1. Midyelerin Boyut Ölçümleri

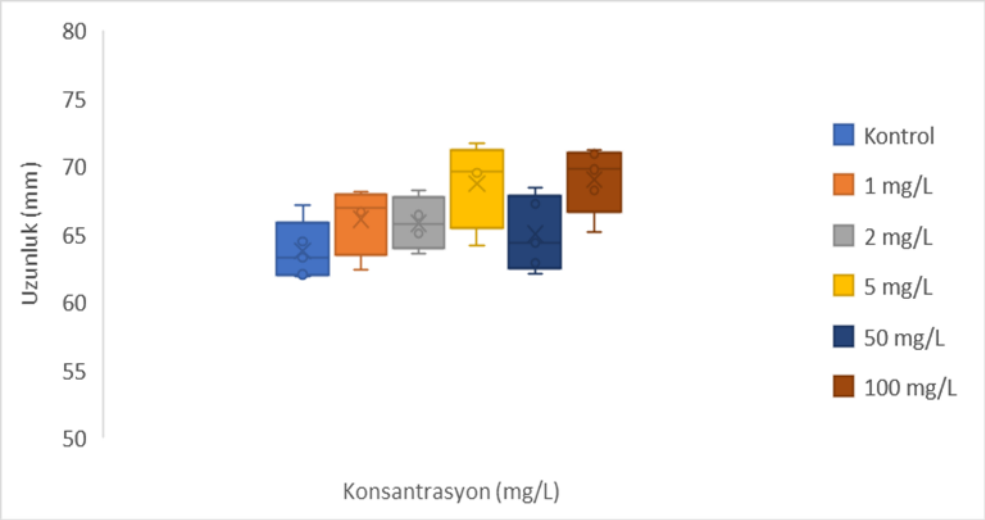
Midyelerin fazla suyunun kurulanmasından sonra, hassas terazi ile yapılan ağırlık ölçümlerinde, midyelerin ortalama ağırlığı 36,99±1,04 gram olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Dijital kumpas ile ölçülen uzunluk, genişlik ve kalınlık ölçümlerinin ortalama sonuçları şu şekilde elde edilmiştir: Ortalama uzunlukları 64,80±0,72 mm, genişlikleri 33,64±0,35 mm ve kalınlıkları 25,60±0,27 mm olarak ölçülmüştür (Şekil 4.2 – 4.4). Ağırlık ve boyut ölçümlerinin deney gruplarındaki ortalamaları çizelgeler halinde sunulmuştur (Çizelge 4.1-4.4). Deney grupları arasında, 10 ve 20 mg/L konsantrasyon haricindeki deney grupları arasında, istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmamıştır, bu nedenle verilere grafiklerde yer verilmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.1. Midyelerin ağırlık ortalamaları

Konsantrasyon (mg/L)	Ağırlık Ortalaması (g)
Kontrol	35,16 ± 1,47
1	38,16 ± 2,88
2	38,02 ± 1,72
5	40,60 ± 3,70
10	28,63 ± 3,30
20	32,70 ± 0,92
50	38,23 ± 2,72
100	43,06 ± 1,41



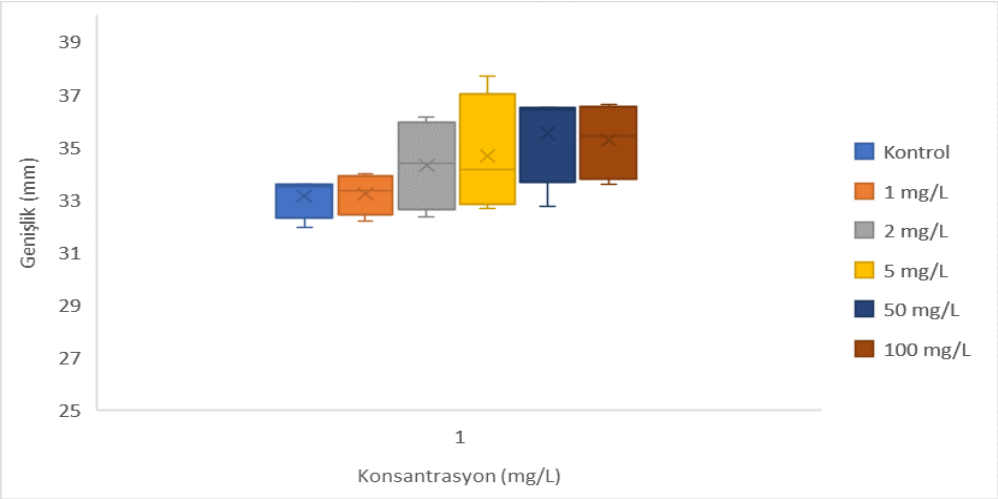
Şekil 4.1. Midyelerin ağırlık dağılımı



Şekil 4.2. Midyelerin uzunluk dağılımı

Çizelge 4.2. Midyelerin uzunluk ortalamaları

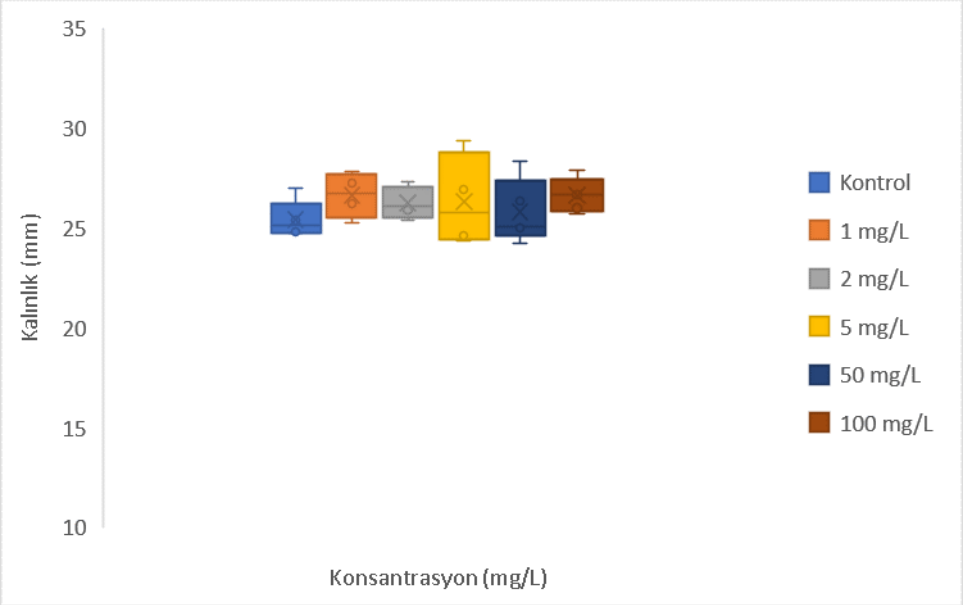
Konsantrasyon (mg/L)	Uzunluk (mm)
Kontrol	63,76 ± 0,97
1	66,09 ± 1,28
2	65,82 ± 0,99
5	68,75 ± 1,61
10	58,04 ± 2,35
20	61,05 ± 1,12
50	65,00 ± 1,23
100	69,05 ± 1,10



Şekil 4.3. Midyelerin genişlik dağılımı

Çizelge 4.3. Midyelerin genişlik ortalamaları

Konsantrasyon (mg/L)	Genişlik (mm)
Kontrol	32,92 ± 0,38
1	33,22 ± 0,39
2	34,31 ± 0,86
5	34,66 ± 1,12
10	30,91 ± 1,43
20	32,22 ± 0,49
50	35,05 ± 0,86
100	35,24 ± 0,57



Şekil 4.4. Midyelerin kalınlık dağılımı

Çizelge 4.4. Midyelerin kalınlık ortalamaları

Konsantrasyon (mg/L)	Kalınlık (mm)
Kontrol	25,07 ± 0,13
1	26,64 ± 0,57
2	26,24 ± 0,41
5	26,32 ± 1,18
10	23,35 ± 0,65
20	24,60 ± 0,53
50	25,80 ± 0,72
100	26,65 ± 0,38

4.2. Su Kalite Parametreleri

Akvaryum suyunun ortalama pH değeri 7,06±0,51; sıcaklık 23^{o}C±0,43; çözünmüş oksijen 8,01±0,22 mg/L ve iletkenliği 324,7±134,2 µS/cm olarak ölçülmüştür.

4.3. Akut Toksisite Bulguları

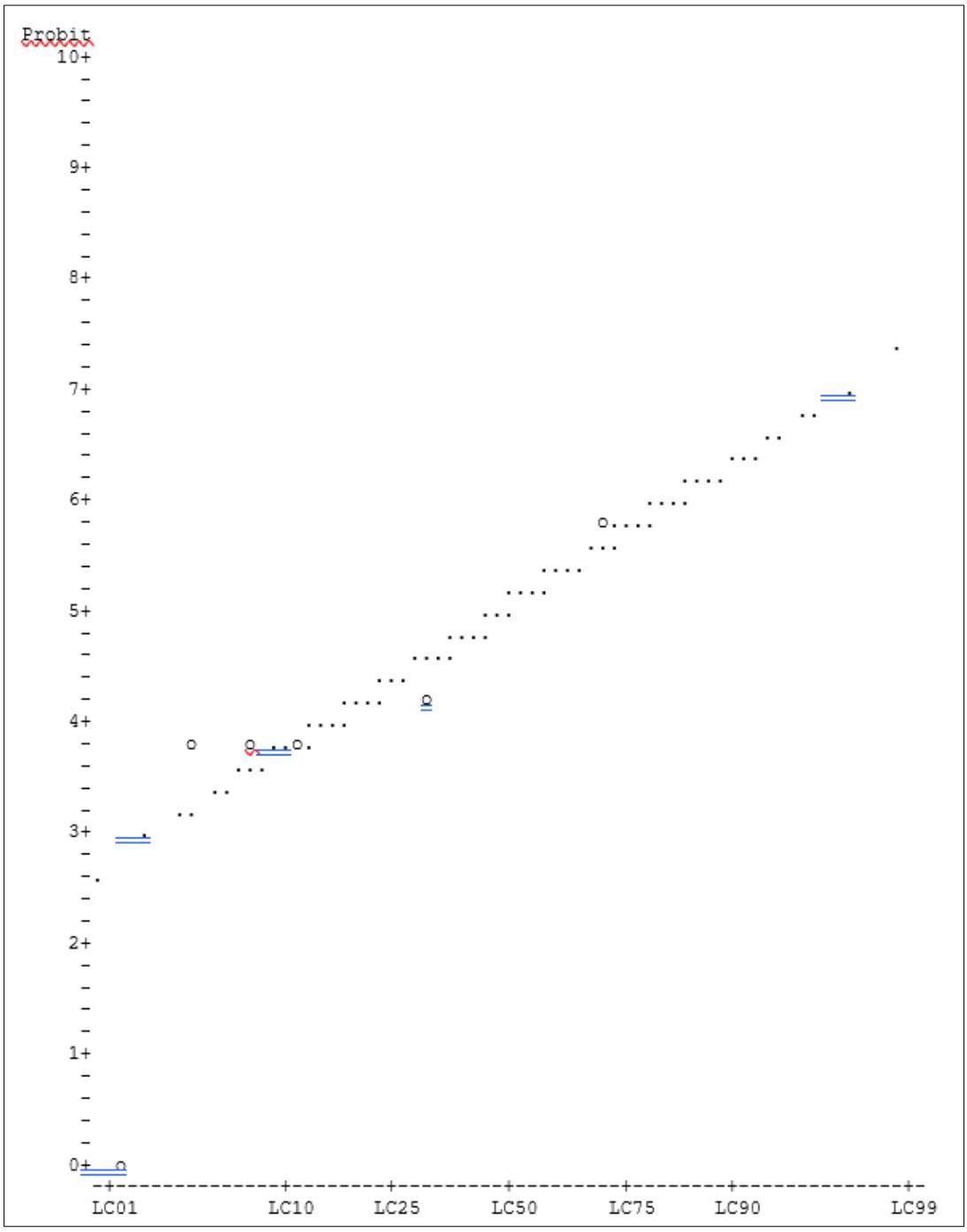
Kurşun II asetatın, *Unio delicatus* Lea 1863 midyesi üzerine akut toksisitesinin araştırılması için, statik biyodeneyler gerçekleştirilmiştir. 72 saatlik ortalama öldürücü konsantrasyon (LC_{50}) değeri araştırılmıştır. Kurşun içermeyen kontrol gruplarında ölüm saptanmamıştır. Deney gruplarında ise ölen tatlı su midyeleri kaydedilmiştir. Ölü ve canlı midyelerin ayırt edilmesi için, kapakların hafifçe el ile açılmasından sonra, kapakların kapanamaması durumu ölüm olarak değerlendirilmiştir. 72 saat sonunda hesaplanmış olan probit değerleri çizelge olarak sunulmuştur (Çizelge 4.5). 72 saatlik maruziyet deneyleri sonunda, Finney'in probit analiz yöntemine göre, % 95 güven aralığında, LC_{50} değeri 259,8701 (97,4482-1651,0114) mg/L olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.6). 72 saatlik süre için hesaplanan probit değerleri ile regresyon grafiği şekilde verilmiştir (Şekil 4.5).

Çizelge 4.5. Kurşun II asetat için LC değerleri ve güven aralığı limitleri

Nokta değeri	Konsantrasyon (mg/L)	% 95 Güven aralığı	
LC 1.00	1,3726	0,0294	6,0732
LC 5.00	6,3762	0,5087	19,4686
LC 10.00	14,4610	2,1715	38,8165
LC 15.00	25,1318	5,4570	65,5395
LC 50.00	259,8701	97,4482	1651,0114
LC 85.00	2687,1326	621,3160	116487,2660
LC 90.00	4669,9858	927,5689	331076,9700
LC 95.00	10591,3184	1662,3525	1572385,2500
LC 99.00	49200,9220	4867,2856	29805936,0000

Çizelge 4.6. Akut toksisite bulguları (72. Saat)

LC_{50} (mg/L)	Güven Aralığı Limitleri (%95)	Eğim ± S.E.M	Kayma ± S.E.M
259,8701	97,4482 - 1651,0114	1,021554 ± 0,252769	2,533196 ± 0,504464



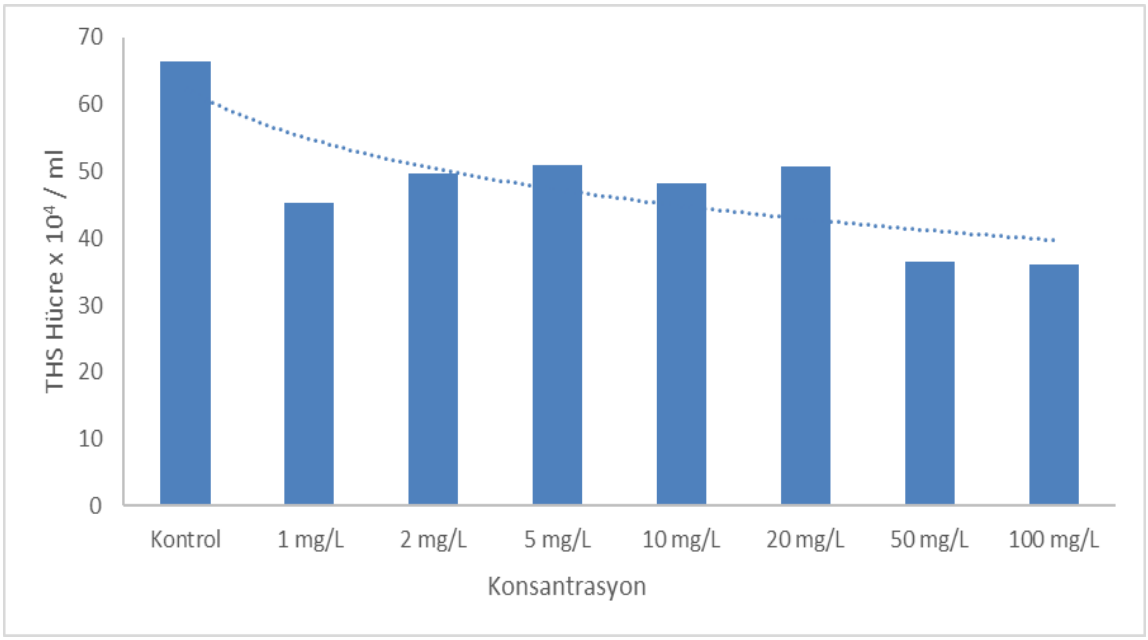
Şekil 4.5. Kurşun II asetat için 72 saatlik probit değerleri ile regresyon grafiği

4.4. Toplam Hemosit Sayımları

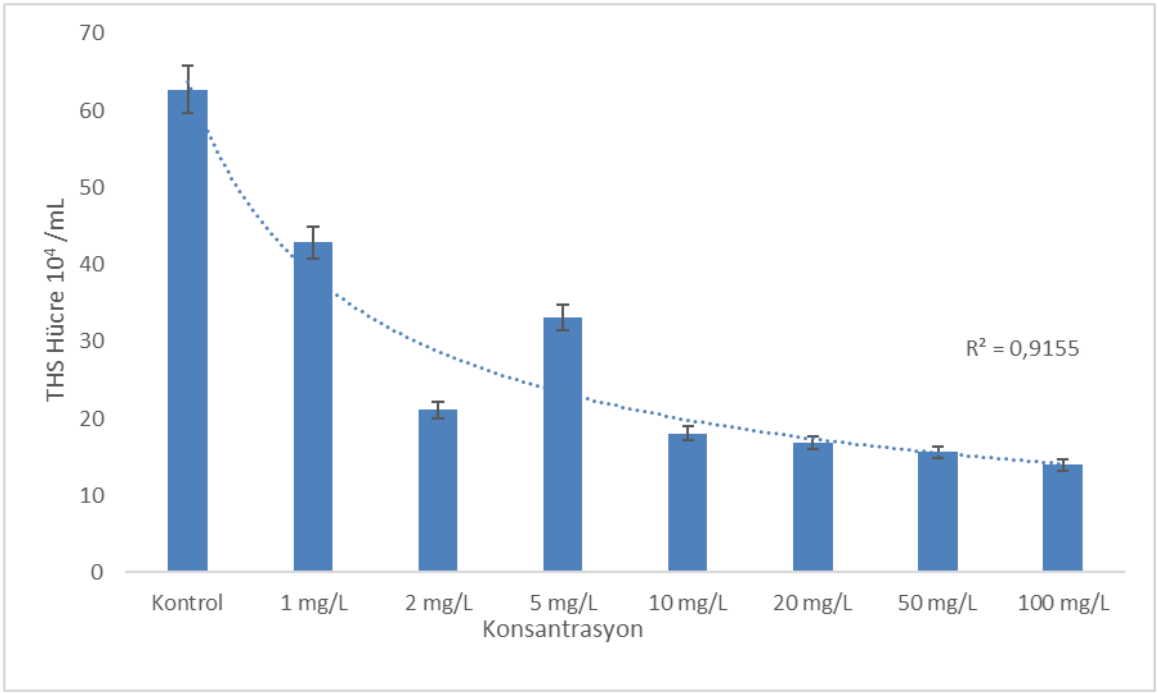
Subletal konsantrasyonlara maruziyet deneyleri, 12 adet midye ile 3 ve 14 günlük süreler için 1-100 mg/L konsantrasyon aralığında çalışılmıştır ve deneylerin sonrasında midyelerin hemosit sayımları gerçekleştirilmiştir. 3 ve 14 gün süreyle, kontrol grubu (kurşun dozlanmayan şebeke suyu) ve 1,0 mg/L; 2,0 mg/L; 5,0 mg/L; 10 mg/L; 20 mg/L; 50 mg/L ve 100 mg/L'lik kurşun II asetat konsantrasyonlarına maruz bırakılan midyelerin hemosit değerleri ortalamaları çizelgede sunulmuştur (Çizelge 4.7). Üç günlük maruziyet sonucunda toplam hemosit sayılarında doza bağlı olarak istatiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.6). 14 günlük maruziyet sonucunda toplam hemosit sayılarının doza bağlı değişimi grafikle ifade edilmiştir (Şekil 4.7). Farklı maruziyet süreleri için, toplam hemosit sayılarındaki değişiklikler grafikte sunulmuştur (Şekil 4.8). Toplam hemosit değerleri, tek yönlü ANOVA istatistik yapılarak, karşılaştırma Tukey-Kramer Multiple Comparisons Testi ile yapılmıştır. Kontrol grubuna göre, 1 mg/L konsantrasyon haricindeki diğer tüm 2-100 mg/L arasındaki konsantrasyonlar için elde edilen fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmuştur ($p < 0,001$). Toplam hemosit sayıları, kontrol grubuna ve 1 mg/L konsantrasyonuna göre istatistiksel açıdan önemli bir azalma göstermiştir ($p < 0,05$). 14 günlük deney süresince subletal konsantrasyonlarda kurşun II asetata maruz kalan tatlı su midyelerinin kontrol grubu ve deney gruplarında hesaplanan toplam hemosit sayıları THSx10^4/ml değişimi, istatistiki açıdan anlamlı bir değişim göstermiştir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.7. Toplam hemosit değerleri (Hücre x 10^4)/ml

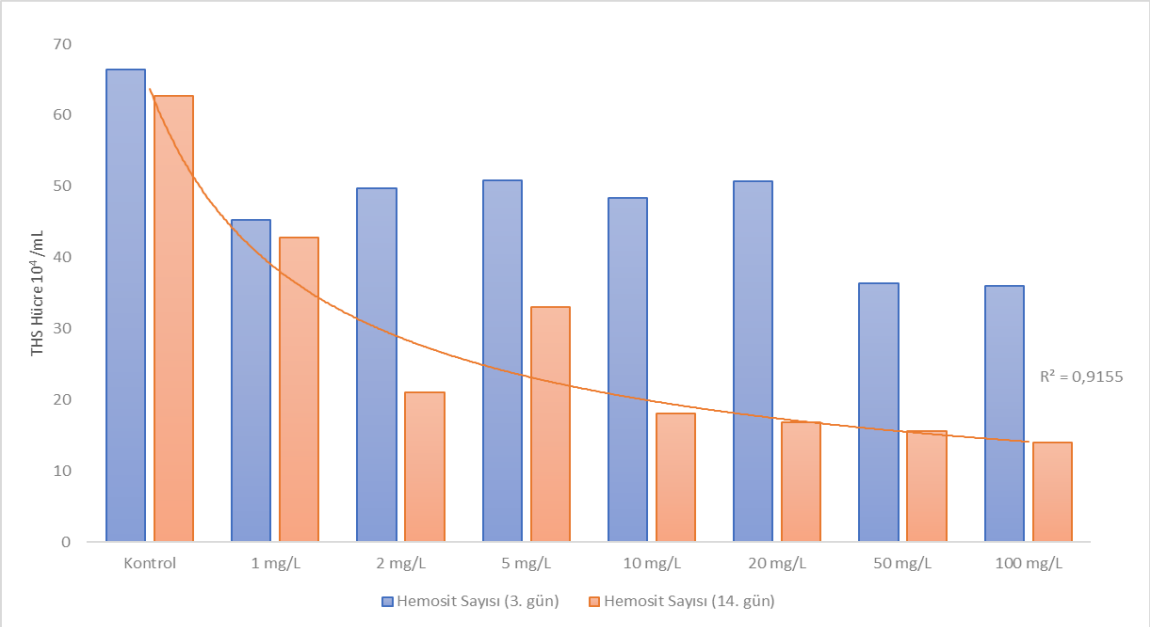
Deney grubu	Hemosit Sayısı (3. gün)	Hemosit Sayısı (14. gün)
Kontrol	66,42 ± 6,09	62,75 ± 7,19
1 mg/L	45,29 ± 5,44	42,83 ± 4,78
2 mg/L	49,67 ± 6,39	21,08 ± 2,07
5 mg/L	50,88 ± 4,05	33,08 ± 4,99
10 mg/L	48,30 ± 3,63	18,05 ± 3,44
20 mg/L	50,71 ± 8,27	16,78 ± 2,50
50 mg/L	36,42 ± 6,75	15,62 ± 3,63
100 mg/L	36,00 ± 6,68	13,95 ± 2,59



Şekil 4.6. Kurşun II asetata 3 gün maruziyette doza bağlı toplam hemosit sayısının değişimi



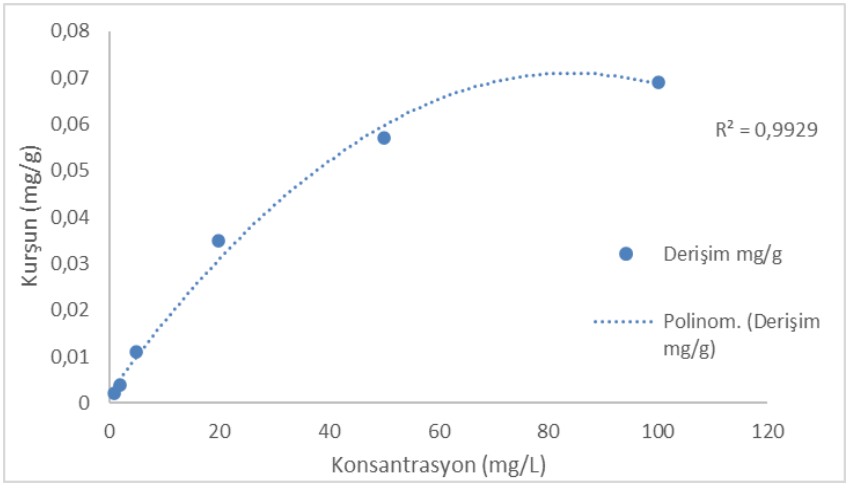
Şekil 4.7. Kurşun II asetata 14 gün maruziyette doza bağlı toplam hemosit sayısının değişimi



Şekil 4.8. Kurşun II asetata 3 ve 14 günlük maruziyette toplam hemosit sayısının değişimi

4.5. Kurşun Birikimi

Midyelerin 1,0 mg/L; 2,0 mg/L; 5,0 mg/L; 20 mg/L; 50 mg/L ve 100 mg/L derişimde kurşun II asetat içeren çözeltilerde, 14 günlük maruziyeti sonrasında toplanan midyelerin kabuk ve yumuşak doku örneklerinde biriktirilen kurşun miktarı ICP-OES analizi ile tespit edilmiştir ve elde edilen veriler Şekil 4.9-4.10 ve Çizelge 4.8-4.9'da sunulmuştur. Maruz bırakılan kurşun konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak, biriktirilen kurşun miktarının da arttığı görülmektedir (Şekil 4.9-4.10) (Çizelge 4.8-4.9).



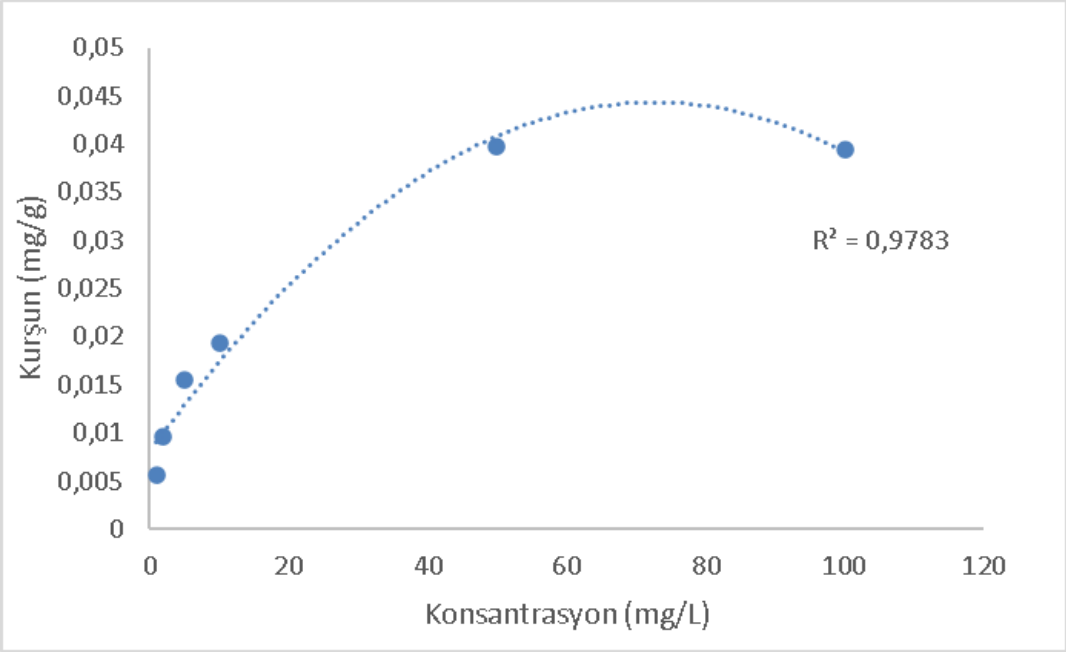
Şekil 4.9. Kabuk örneklerinde kurşun birikim analizi

Çizelge 4.8. Kabuklarda kurşun birikim sonuçları

Konsantrasyon (mg/L)	Kurşun (mg/g)
1	0,002 ± 0,0006
2	0,004 ± 0,0004
5	0,011 ± 0,0005
20	0,035 ± 0,0002
50	0,057 ± 0,0025
100	0,069 ± 0,009

Çizelge 4.9. Yumuşak dokuda kurşun birikim sonuçları

Konsantrasyon (mg/L)	Kurşun (mg/g)
1	0,0057± 0,01
2	0,0097 ± 0,01
5	0,0156 ± 0,02
10	0,0193 ± 0,02
50	0,0398 ± 0,11
100	0,0394 ± 0,10



Şekil 4.10. Yumuşak doku örneklerinde kurşun birikim analizi

5. DEĞERLENDİRME

Sucul organizmalar arasında midyeler, uzun yaşam süreleri, bentik organizmalar olmaları, filtreleme ile beslenmeleri nedeniyle kimyasallara çok fazla maruz kalmaktadırlar. Bu nedenle biyoindikatör tür olarak çevresel izleme çalışmalarında önemlidirler. Kurşunun sucul canlılara olan etkisinin aydınlatılması için, bu çalışmada kurşun II asetatın tatlı su midyesi *Unio delicatus* Lea 1863 üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Gerçekleştirdiğimiz subletal derişimlere maruziyet deneyleri sonucunda, midyelerin boyut ölçümleri alınmıştır. Kontrol grubuna kıyasla, deney gruplarında ağırlık, uzunluk, genişlik ve kalınlık ölçümlerinde istatistiki olarak önemli bir fark görülmemiştir. Bu sonuçtan hareketle, araştırdığımız derişim aralığındaki kurşun maruziyetinin büyüme üzerindeki etkisi hakkında ileri çalışmalara gerek görülmemiştir.

Bu çalışmada tatlı su midyeleri için kurşun II asetatın 72 saatlik LC_{50} değeri Finney'in probit analiz yöntemine göre 259,8701 mg/L olarak hesaplanmıştır. Sucul canlılar için 100 mg/L üzerindeki LC_{50} değerleri pratik olarak non-toksik olarak değerlendirilmektedir.

Literatürde çeşitli ağır metallerin ve kurşunun; çevresel alımı, biyobirikimi, farklı dokulardaki dağılımı, hematolojik ve histopatolojik etkileri, DNA hasarı, akut ve kronik toksik etkisine ilişkin olarak, farklı su canlılarında gerçekleştirilmiş çok sayıda çalışma bulunmaktadır.

Balıklar ile yapılan bir çalışmada, *Phalloceros caudimaculatus* Guaru balığının, ağır metal biyoindikatörü olup olamayacağını tespit etmek için deneyler gerçekleştirilmiştir. LC_{50} değerlerinin belirlenmesi için 96 saat süre ile 144 adet *P. caudimaculatus* sekiz grup halinde ayrılarak potasyum dikromat tuzu (20-25 mg/L), kurşun II nitrat (5, 10, 15 mg/L), kadmiyum nitrat (24; 27; 30; 33 ve 36 mg/L) ve çinko sülfat (30; 45; 60; 75 ve 90 mg/L) ile kurşun, çinko, kadmiyum ve krom metallerine maruz bırakılmıştır. Maruziyet sonucunda LC_{50} değerleri sırasıyla, kurşun nitrat için 15,5 ± 0,47 mg/L, potasyum dikromat için 164,58 ± 18,75 mg/L, çinko sülfat için 62,8 ± 2,81 mg/L ve kadmiyum nitrat için 29,5 ± 1,21 mg/L olarak belirlenmiştir. Deney sonuçlarına göre *P. caudimaculatus'un*

metallere karşı direnç gösterdiği ve özellikle kurşun nitrata karşı hassasiyet gösterdiği tespit edilmiştir (Filho, Caldas, Rosa ve Pereira, 2017).

Afrika tatlı su balığı *Oreochromis niloticus* ile yapılan bir çalışmada, balıklar, 7, 14 ve 28 gün süre ile Pb (0,1 ve 0,5 mg/L), Pb+Zn (0,1 mg/L Pb + 0,5 mg/L Zn) ve (0,5 mg/L Pb + 2,5 mg/L Zn) metal konsantrasyonlarına maruz bırakılmışlardır. 28 günün sonunda balığın dokularındaki protein seviyeleri UV spektrofotometrik yöntemle incelenmiş ve dokularda Pb ve Pb+Zn birikiminin etkisinin artması ile kontrol grubuna göre protein düzeyinin arttığı ve Zn'nin Pb birikimini büyük ölçüde azalttığı belirlenmiştir (Firidin, 2016).

Sucul canlılarda kurşun II asetatın etkisinin araştırıldığı çalışmalardan biri, gümüş molly balığı (*Poecilia latipinna*) ile gerçekleştirilmiş olup solungaçlarda ve sindirim sisteminde kurşun II asetat kaynaklı histopatolojik değişiklikler araştırılmıştır. 96 saat için LC_{50} değeri 1,1 mg/L olarak tespit edilmiştir. Kurşun II asetat maruziyetinin, gümüş mollylerin solungaçlarında ve seçilen sindirim organlarında ciddi histopatolojik değişikliklere yol açtığı sonucuna varmıştır (Mobarak ve Sharaf, 2011).

Başka bir çalışmada da, *Oreochromis niloticus* (Nil tilapya balığı) üzerine kurşun II asetatın solungaç, karaciğer ve böbreklerde histopatolojik değişikliklere neden olduğu tespit edilmiştir (Osman, El-Fiky, Soheir ve Abeer, 2009).

Kurşun II asetatın *Hoplias malabaricus* türü balıklar üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, kurşun II asetatın kromozomal anormallikleri indüklediğini ve balıkların eritrositlerinde kuyruklu nükleoidlerin önemli bir artışını göstererek DNA hasarına neden olduğunu tespit etmişlerdir (Ramsdorf, Ferraro, Ribeiro, Costa ve Cestari, 2008).

Toksikolojik çalışmalarda su pireleri *(Daphnia sp.)* ile yapılan çalışmalar çok önemlidir. Ağır metallerin etkilerine yönelik bir çalışmada, Pb, As ve Cd ağır metallerinin *Daphnia celebensis* (acı su piresi) üzerindeki toksisitesi ile ikili ve üçlü sinerjistik etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 48 saatlik maruziyetle akut toksisite testi yapılmış, Cd ve As ağır metallerine Pb eklenerek toksisite düzeyleri, enzim aktiviteleri, gen ekspresyonları belirlenmiştir. Kontrol grupları üzerinde ölüm gözlenmemiş ayrıca 48 saatlik LC_{50} değerleri 2,822 mg/L olarak belirlenmiştir (Yoo, Cho, Lee, Won ve Lee, 2021).

Metal kirliliğine yönelik olarak yapılan çalışmalar tarandığında, diğer sucul canlılara kıyasla Mollusca grubu üzerine literatürde çok daha kısıtlı sayıda yayın olduğu görülmektedir. Bu çalışmalarda tatlı su canlılarının deniz canlılarına nispeten daha fazla incelendiği dikkati çekmektedir.

Mytilus galloprovincialis midyeleri ile yapılan bir çalışmada, çeşitli arsenik iyonlarıyla bileşiklerinin [As(III), As(V), monometilarsonik asit (MMA), dimetilarsinik asit (DMA), arsenobetain (AB), arsenokolin (AC) ve dört arsenoşeker bileşiği] birikimi ve dokulardaki dağılımı incelenmiştir. Arsenik bileşiklerinin analizleri için HPLC-ICP-MS ve toplam arsenik konsantrasyonunun belirlenmesi için ICP-AES analizi yapılmıştır. Midyenin farklı vücut kısımlarındaki arsenik birikimini, hem hepatopankreasta (sindirim bezi) hem de geri kalan yumuşak dokularda araştırmışlardır ve midyenin diğer dokularına kıyasla sindirim bezinde daha yüksek arsenik bulunduğu tespit edilmiştir (Argese ve diğerleri, 2005).

Diplodon chilensis midyesiyle yapılan bir çalışma, ağır metal dağılımını değerlendirmek üzere, potansiyel kirleticilerin (Gümüş, Arsenik, Krom, Civa, Antimon ve Selenyum) ve dokuz ilgili elementin (Baryum, Brom, Kalsiyum, Kobalt, Sezyum, Denir, Sodyum, Stronsiyum, Çinko) düzeyleri incelenmiştir. Sindirim bezleri yumuşak dokulardan ayrı olarak analiz edilmiştir. Toplam yumuşak doku ve sindirim bezi örneklerinde arsenik ve Cr içerikleri, insan yerleşimlerinin bulunduğu bölgelere yakın örnekleme noktalarında daha yüksek tespit edilmiştir (Guevara, Bubach, Vigliano, Lippolt ve Arribére, 2004).

Bir diğer çalışmada, beş deniz omurgasız hayvanı üzerine, üç metalin (bakır, kadmiyum ve civa) etkisi araştırılmıştır. Çalışmada metallerin akut toksisitesi statik biyodeneyler ile araştırılmıştır. Bakır için hesaplanan 96 saatlik LC_{50} değerleri, *Gammarus aequicauda* (amfipod, dere bitleri) için 0,82 mg/L ve *Corophium insidiosum* (amfipod) için 0,47 mg/L olarak tespit edilmiştir. *Idotea baltica* (isopod) için 1,45 mg/L ve *Sphaeroma serratum* (isopod) için 4,60 mg/L olarak tespit edilmiştir. En düşük LC_{50} değerleri tüm türler için civa ile elde edilmiştir. Özellikle çalışılan türler arasında en düşük olarak *Sphaeroma serratum* için 1,38 mg/L düzeyinde bir LC_{50} değeri hesaplanmıştır. Kadmiyum için LC_{50} değerleri 0,71 mg/L – 4,79 mg/L arasında değişmektedir. Her üç metalin *Mytilus galloprovincialis* larvaları için ise, 48 saatlik en düşük EC_{50} değeri, $HgCl_2$ için elde edilmiştir. Civayı $CuCl_2$ ve $CdCl_2$ takip etmiştir. Civa larvalarda 6,25 µg/L seviyesinden

daha yüksek seviyelerde anormal gelişimi indüklediği tespit edilmiştir. Tüm türler için en yüksek toksisite gösteren metal civa olarak değerlendirilmiştir (Prato, Biandolino ve Scardicchio, 2006).

Literatür taraması yaptığımızda, midyelerde kurşunun birikimi ve toksik etkileri hakkında diğer metallere ve diğer sucul canlılara kıyasladığımızda oldukça sınırlı sayıda yayın bulunduğu dikkat çekmektedir. Mevcut çalışmalar genellikle birikim ve kurşunun dokulardaki dağılımına yoğunlaşmış görünmektedir, toksikolojik çalışmalar ise daha az sayıdadır. Bu çalışmalardan çeşitli midye türleri üzerinde kurşun ağır metalinin etkisine yönelik çalışmalara aşağıda değinilmiştir.

Deniz suyundaki bakır, kurşun ve çinkonun Akdeniz midyesi *Mytilus galloprovincialis'in* üzerindeki 96 saatlik akut ve 28 günlük kronik etkisini değerlendirmek için yapılan araştırmalarda; bu metallerin toksisitesi, farklı boyutlardaki midyeler için LC_{50} değerlerinin hesaplanmasıyla statik ve yarı statik biyolojik analizlerle değerlendirilmiştir. Hayatta kalmanın, Cu, Pb ve Zn konsantrasyonlarının artmasıyla azaldığı, ancak çözünmüş Cu, Pb ve Zn içeren deniz suyunda hayatta kalmanın, sediment varlığında sedimentsiz olduğundan daha yüksek olduğu bulunmuştur (Bat ve diğerleri, 2011).

Bir çalışmada, kurşun, kadmiyum ve çinkonun, tatlı su midyelerinin (*Lampsilis siliquoidea, L. rafinesqueana*) erken yaşam evrelerindeki toksisitesi, 5 günlük, 2 aylık ve 6 aylık midye larvalarıyla, 24, 48, 96 saatlik ve 28 günlük maruziyet deneyleriyle değerlendirilmiştir. Farklı evrelerdeki larvalar için kurşunun EC_{50} değerleri 142 - 426 µg Pb/L arasında tespit edilmiştir. Midyelerin bu üç metalin akut toksisitesine ve Pb'nin kronik toksisitesine karşı nispeten duyarlı olduğunu, ancak diğer tatlı su türleriyle karşılaştırıldığında Cd veya Zn'nin kronik toksisitesine karşı orta derecede duyarlı olduğunu ortaya konmuştur (Wang ve diğerleri, 2010).

Çok hassas erken gelişme aşamalarındaki (döllenmeden sonraki 48-72 saat) *Mytilus galloprovincialis* ve *Mytilus trossolus* midyeleri ve *Strongylocentrotus purpuratus* deniz kestanesi ile yapılan bir çalışmada, kurşun için EC_{50} değerleri: *M. trossolus* 45 µg/L ; *M. galloprovincialis* 63 µg/L; *S. purpuratus* 74 µg/L olarak tespit edilmiştir ve tuzluluk

derecesine ve çözünmüş organik maddeye bağlı olarak kurşun miktarı değişimleri incelenmiştir (Nadella ve diğerleri, 2013).

Midyelerle yapılan bir diğer çalışmada, kurşunun yeşil midye (*Perna viridis*) üzerindeki olumsuz etkilerini belirlemek amacıyla akut ve kronik toksisite testleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, LC_{50} değerinin belirlenmesi amacıyla midyeler 96 saatlik kurşun maruziyetine bırakılmış ve LC_{50} değeri % 95 güven aralığı ile 2,62 ± 0,12 (2,62–3,24) mg/L Pb olarak tespit edilmiştir. Kronik toksisite testleri sonucunda maruz kalan organizmaların hayatta kalma oranlarının azaldığı ve iç organlarda yapılan gözlemlerde toksisite ile ilgili etkenlerin olduğu belirlenmiştir (Hariharan, Purvaja ve Ramesh, 2014).

Unio crassus ile yapılan bir çalışmada, kurşun II asetat birikimi incelenmiştir. Aras Nehri'nden toplanan *U. crassus* türü midyeler, kontrol grubu, 0,05g/L ve 0,1 g/L konsantrasyonlarında kurşun II asetat içeren tanklara yerleştirilmiştir. Uzun süreli (21 gün) maruziyet deneyleri yapılmıştır. Sürecin tamamlanmasından sonra, ICP-MS ile midyelerdeki kurşun birikim miktarı tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki kurşun birikim değeri 0,013 mg/kg ve 0,119 mg/kg aralığında ölçülmüştür. 0,05 g/L grubu için, kurşun birikim değerleri 0,564 mg/kg ve 1,811 mg/kg olarak hesaplanmıştır. 0,1 g/L grubunda ise biriken kurşun miktarı 0,439 mg/kg ve 5,217 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Deneyler boyunca herhangi bir ölüm gözlenmemiştir. Bu çalışmanın sonucunda, midyenin ağır metal kirliliğine duyarlı olması nedeniyle, tatlı sularda indikatör midye olarak kullanılabileceği değerlendirilmiştir (Kobaza, Parlak ve Atamanalp, 2021).

Yaptığımız çalışmada, *Unio delicatus*'un kurşun II asetat için 72 saatlik LC_{50} değeri 259,8701 mg/L olarak hesaplanmıştır. Literatürde benzer düzeyde LC_{50} değeri tespit edilen bir çalışmada, *Lamellidens marginalis* tatlı su incisi midyesi, kurşun metaline 21,93 - 87,72 mg/L arasındaki konsantrasyonlarda maruz bırakılmıştır ve bir kontrol grubuna göre değerlendirilmiştir. Bu maruziyetin ardından 14 farklı konsantrasyonlarda (0, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, 264, 278, 302, 326 ve 350 mg/L) maruz bırakılarak 96 saatlik akut toksisite testi ile LC_{50} değeri ise 219,32 mg/L olarak belirlenmiştir (Hossain ve diğerleri, 2023). Bu çalışmanın sonuçları, çalışmamıza yakın düzeyde LC_{50} göstermesi sebebiyle, bizim çalışmamızla benzerlik arz etmektedir.

Çalışmamızda *Unio delicatus* tatlı su midyeleri subletal derişimlerde kurşun II asetata maruz bırakılmış ve deney sonunda toplam hemosit sayıları arasındaki fark incelenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla 1 mg/L konsantrasyon haricindeki diğer tüm 2-100 mg/L arasındaki konsantrasyonlar için elde edilen fark istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Toplam hemosit sayılarında, hem kontrol grubuna, hem de 1 mg/L konsantrasyonuna kıyasla istatistiki açıdan anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p < 0,05$). 14 günlük deney süresince subletal konsantrasyonlarda kurşun II asetata maruz kalan tatlı su midyelerinin kontrol grubu ve deney gruplarında, toplam hemosit sayıları değişimi, istatistiki olarak anlamlı bir değişim göstermiştir ($p< 0,05$).

Yapılan bir çalışmada, *Lamellidens marginalis* midyesinin kurşuna maruziyeti sonucunda, midyenin böbrek, solungaç ve kas dokularında meydana gelen histolojik değişiklikler ve akut maruziyet sonrası canlı kalan midyelerden hemolenf sıvıları alınarak hemosit sayımı yapılmıştır. Hemosit sayım sonuçlarının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir (Hossain ve diğerleri, 2023).

Çalışmamızda tatlı su midyelerinde hemosit sayısı, kurşun maruziyeti sonucunda azalma göstermiştir ve bu durum önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kurşun, sanayileşmenin sonucu olarak çevreye yayılmakta ve başta besinler olmak üzere insanlara farklı mekanizmalarla ulaşmaktadır. Çevrede genellikle suda çözünürlüğü düşük olan, katı ve ağır bileşikler halinde çökelme göstermektedir. Kurşun sularda omurgalı ve omurgasızlar da dahil olmak üzere tüm canlı organizmalarda birikebilmekte ve besin zincirine dahil olmaktadır. Özellikle midye gibi kalsifiye dokulara sahip olan organizmalarda daha yüksek düzeyde birikmektedir. Midyeler besin olarak kullanıldığından, insanlara kurşun geçebilmektedir. Türk Gıda Kodeksinde balıkçılık ürünleri ve çift kabuklu yumuşakçalarda, kurşun için belirlenen üst limitler balık eti için 0,30 mg/kg yaş ağırlık; kafadan bacaklılar için, 0,30 mg/kg; kabuklular için, 0,50 mg/kg; ve çift kabuklu yumuşakçalar için ise; 1,50 mg/kg yaş ağırlık olarak tespit edilmiştir (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2023).

Bir canlı organizmanın vücuduna dahil olan kurşunun biriktirilmesi için temel hedef alanlar kemik, kıkırdak, dış iskelet, kabuk ve dişler gibi mineral dokulardır. Organizmada biriken toplam kurşunun çok büyük bir kısmı mineral dokularda, kalsiyum ile yer değiştirerek bağlanmakta, daha az bir kısmı ise organizmanın diğer dokularında tutulmaktadır. Midyeler kurşunu özellikle büyüme ve kabuk gelişimi sırasında kabuk yapısına dahil ederler. Pasif difüzyon, transmembran iyon pompaları yoluyla aktif alım ve endositoz yoluyla aktif alım olmak üzere, üç temel mekanizma rol oynamaktadır. Midyeler, filtrasyon yaparak beslenmelerinden dolayı, su ortamından aldıkları kurşunu doğrudan yumuşak dokularında da biriktirmektedirler (Kumar ve diğerleri, 2019).

Literatürde bazı biyoizleme çalışmalarında, sadece kabuk, bazılarında ise sadece yumuşak dokuya dayanan kurşun birikim analizleri mevcuttur. Bazı araştırmalarda ise, kabuğun farklı alt katmanları ayrı ayrı analiz edilmiştir ve kabuğun her katmanında kurşunun aynı seviyede bulunmadığı tespit edilmiştir. Dış kabuk katmanının, iç kabuk ve yumuşak dokulara kıyasla çok daha yüksek düzeyde kurşun biriktirdiği kaydedilmiştir (Zuykov, Pelletier ve Demers, 2011). Yaptığımız çalışmada, literatür bilgisiyle uyumlu olarak, tatlı su midyelerinin kabuklarındaki kurşun birikimi (maksimum 69,0 µg/g), yumuşak dokulardan (maksimum 39,8 µg/g) daha yüksek düzeyde tespit edilmiştir.

Biyobirikim, önemli bir biyoizleme aracı olarak ele alınmaktadır. Midyeler, yüksek biyobirikim yetenekleri sebebiyle, suda tespit edilemeyen seviyelerde bulunan kimyasalların takip edilebilmesi için biyoizleme çalışmalarında uzun zamandır tercih edilmektedir. Ancak kirleticinin başlangıç konsantrasyonuna, midyenin türüne ve ortamın sıcaklık, tuzluluk, gıda, mevsimsel değişim gibi fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak birikim düzeyleri büyük bir değişkenlik göstermektedir. (Zuykov, Pelletier ve Harper, 2013). Tüm etkenlerin eksiksiz değerlendirilmesi mümkün olmadığından, yalnızca midyenin biyobirikim düzeyleri ile ortamdaki seviyeleri değerlendirmek doğru sonuç vermemektedir. Bu nedenle, biyobirikim dışındaki diğer araçların da dahil edilmesine, biyobirikimin ortam, tür, biyotik ve abiyotik etkenler ile nasıl farklılaştığını gösteren biyodinamik model çalışmalarına ağırlık verilmesine ihtiyaç duyulmuştur (Freitas ve diğerleri, 2012). Araştırmacılar tarafından biyodinamik çalışmalarla bile, gerçek ortamın karmaşıklığının tam olarak yansıtılmasının mümkün olmadığı kaydedilmektedir. Bu konu araştırmacıların ilgisini çekmeye devam etmektedir ve gelecekteki çalışmalar için ağırlık verilmesi gereken bir alandır.

Midyelerin, sudan yüksek düzeyde kurşunu çekerek, bünyelerinde biriktirdikleri ve sağ kalım oranlarının yüksek olduğu iyi bilinmekle birlikte, literatürde biriktirilen kurşunun, midyenin sağlığı üzerindeki etkilerini açıklayan daha kapsamlı çalışmalara gerek duyulduğu görülmektedir. İlerleyen çalışmalarda, midyelerin kurşun birikimi kaynaklı kabuk deformasyonuna uğraması, biyokimyasal (örneğin, malondialdehit) ve sito-histolojik değişiklikler (örneğin, lizozomal değişiklikler, DNA bütünlüğü, kromozomal hasarlar) gibi etkilerin de incelenmesi ile büyük resmin tamamlanmasının mümkün olacağını değerlendirmekteyiz. Bahsedilen biyobelirteçler, midyelerde yüksek bir toksik etkinin görünür hale gelmesinden çok önce, henüz hücre altı düzeylerde yakalanmasına olanak tanımaktadır (Mussali-Galante, Tovar-Sánchez, Valverde ve Rojas del Castillo, 2013).

Kirlenmiş alanlarda arıtıma yardımcı olması yanında, midyelerin kurşun birikimi yeteneğinden faydalanılabilecek bir diğer alan, balık yetiştiriciliğidir. Balık ve midyelerin birlikte yetiştirilmesi stratejisi, midyelerin balıkları ağır metallerden koruması için doğal ve etkili bir yöntem olarak düşünülmektedir. Bir çalışmada, tatlı su midyesi *Lamellidens marjinalis* ile birlikte *Heteropneustes fossillis* yayın balıklarının yetiştirilmesi bir arada gerçekleştirilmiş ve öldürücü olmayan $Pb(NO_3)_2$ konsantrasyonuna (0,75 mg/l) maruz

bırakılarak balıkların gelişimi ve histopatolojisi araştırılmıştır. Deneylerde dört grup kurulmuştur: T1 grubu kontrol grubu olup sadece 20 balık içermekte ancak midye içermemektedir. T2, T3 ve T4 deney grupları ise, yirmişer balık ve sırasıyla 5, 20 ve 40 midye içermektedir. 28 günlük deneyler sonunda, kontrol grubuna kıyasla, tüm deney gruplarında balıkların büyüme performansı artmış, balık dokularında kurşun miktarı azalmış ve düşük düzeyde karaciğer histopatolojisi ile sonuçlanmıştır. Tatlı su midyelerinin bu alanda kullanılmasının su ürünleri yetiştiriciliğinde Pb biyobirikiminin azaltılmasına yardımcı olacağı ortaya konmuştur (Hussain, Hossain, Begum ve Chandra Roy, 2023).

Sonuç olarak;

- Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre "toksik madde miktarı yükseldikçe, toplam hemosit sayısının azalma gösterme bulgusu" literatürle benzerlik taşımaktadır. Toplam hemosit sayımı midyelerde, stresin ve sağlık durumunun bir göstergesi olarak kullanılabileceği ve subletal konsantrasyonlarda kurşun II asetatın tatlı su midyelerinin sağlık durumlarını etkilediği ve stres yarattığı düşünülmektedir.

- Bu çalışma, kurşun kirliliğinin izlenmesi çalışmaları için tatlı su midyesi *Unio delicatus*'un biyoindikatör olarak kullanılma potansiyelini ortaya koymuştur.

- Kurşunun tatlı su midyeleri üzerindeki toksik etkisini açıklamak bağlamında, hakkında nispeten kısıtlı sayıda yayın bulunan bir alana değinmesinden dolayı, çalışmamızın literatüre katkı sağlayabileceği değerlendirilmektedir.

- Çalışmamızda midye kabuklarında ve yumuşak dokularında kurşun birikimi miktarının doza bağımlı olarak artış gösterdiği ve kabuklarda yumuşak dokudan daha yüksek kurşun biriktirildiği tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, ağır metallerin midyelerin toplam hemosit sayıları üzerine olan etkileri, birikim ve alım yollarının aydınlatılması gibi konularda daha sonra yapılacak olan çalışmalara altyapı teşkil edecektir.

KAYNAKLAR

Agarwal, S. and Darbar, S. (2023). *Environmental Applications of Microbial Nanotechnology*. (1. Edition). India: Elsevier, 127-148.

Ahire, S. A., Bachhav, A. A., Pawar, T. B., Jagdale, B. S., Patil, A. V. and Koli, P. B. (2022). The Augmentation of nanotechnology era: A concise review on fundamental concepts of nanotechnology and applications in material science and technology. *Results in Chemistry*, 4, 100633.

Ahmed, F., Kumar, S., Kabir, M., Zuhara, F. T., Mehjabin, A., Tasannum, N., Mofijur, M. (2022). Threats, challenges and sustainable conservation strategies for freshwater biodiversity. *Environmental Research*, 214(1), 113808.

Algarni, T. S. and Al-Mohaimeed, A. M. (2022). Water purification by adsorption of pigments or pollutants via metaloxide. *Journal of King Saud University - Science* 34(8), 102339.

Angrand, R. C., Collins, G., Landrigan, P. J. and Thomas, V. M. (2022). Relation of blood lead levels and lead in gasoline: an updated systematic review. *Environmental Health*, 21(38), 138.

APPA, AWWA and WEF. (1998). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association,* (20. Edition). Washington DC: American Water Works Association and Water Environmental Federation, 779509419.

Argese, E., Bettiol, C., Rigo, C., Bertini, S., Colomban, S. and Ghetti, P. F. (2005). Distribution of arsenic compounds in Mytilus galloprovincialis of the Venice lagoon. *Science Total Environment*, 348 (1), 267-277.

Atabeyoğlu, K. ve Atamanalp, M. (2010). Yumuşakçalarda (Molluska) Yapılan Ağır Metal Çalışmaları. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi,* 5(1), 35-42.

Barkaoui, T., Hamimed, S., Bellamine, H., Bankaji, I., Sleimi, N. and Landoulsi, A. (2020). Alleviated Actions of Plantago albicans Extract on Lead Acetate-Produced Hepatic Damage in Rats Through Antioxidant and Free Radical Scavenging Capacities. *Journal of Medicinal Food*, 23(11), 1201-1215.

Bat, L., Sezgin, M., Satilmis, H. H., Sahin, F., Üstün, F., Birinci Özdemir, Z. and Gökkurt Baki, O. (2011). Biological Diversity of the Turkish Black Sea Coast. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(4), 683-692.

Batley, G. E., Kirby J. K. and McLaughlin, M. J. (2013). Fate and risks of nanomaterials in aquatic and terrestrial environments. *Accounts of Chemical Research*, 46(3), 854-862.

Batmaz, G. (2019). *Zınc Pyrıthıone'un İki Tür Tatlı Su Bivalvi Üzerine Ekotoksikolojik Etkileri.* Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 16-17.

Bouzidi, I., Sellami, B., Boulanger, A., Joyeux, C., Harrath, A. H., Albeshr, M. F., Mougin, K. (2023). Metallic nanoparticles affect uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons and impacts in the Mediterranean mussels Mytilus galloprovincialis. *Marine Pollution Bulletin,* 188, 114641.

Canlı, E. G. (2022). Farklı Sürelerde Bakır Etkisinde Kalan Tatlısu Midyelerinde (Unio tigridis) Antioksidan Enzim Tepkilerinin Incelenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 25*(1), 31-41.

Canlı, E. G., Bayköse, A., Hızarcı Uslu, L. and Canlı, M. (2023). Changes in energy reserves and responses of some biomarkers in freshwater mussels exposed to metal-oxide nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *98*, 104077.

Connell, D. W., Lam, P., Richardson, B. and Wu, R. (2009). *Introduction to Ecotoxicology.* London: Wiley-Blacwell, 184.

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı (2015). Atık Yönetimi Yönetmeliği. *Resmî Gazete*, Tarih: 02.04.2015, Sayı: 29314.

Çitil, C. (2022). Kurşun Asetat İle Oksidatif Stres Oluşturulan Rat Karaciğer Dokuları Üzerine 3-Benzoil-7-Hidroksi Kumarin'in Lipit Peroksidasyon ve Mineraller Üzerine Koruyucu Etkisi. *Commagene Journal Of Biology, 6*(2), 141-145.

Delgado, A. I., Tibon, J., Silva, M. S., Lundebye, A. K., Agüera, A., Rasinger, J. D., Sele, V. (2023). Seasonal variations in mercury, cadmium, lead and arsenic species in Norwegian blue mussels (Mytilus edulis L.) – Assessing the influence of biological and environmental factors. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 76*, 127110.

Demir, F., Ozan, G. ve Temizer Ozan, P. (2015). Ratlara Uygulanan Kurşun Asetatın Karaciğer Arginazına Etkisi ve Enzimin Bazı Kinetik Özellikleri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veterinerlik Dergisi*, 29(1), 37-43.

Demirsoy, A. (1998). *Yaşamın Temel Kuralları Omurgasızlar/Böcekler-Entomoloji.* (2. Baskı). Ankara: Meteksan A.Ş., 955.

Dinçel, A., Alparslan, Z., Günal, A., Selvi, M., Sarıkaya, R., Özkul, İ. A. and Erkoç, F. (2013). Hemolymph biochemical parameters reference intervals and total hemocyte counts of narrow clawed crayfish Astacus leptodactylus (Eschscholtz, 1823). *Ecological Indicators,* 24(11), 305-309.

Duffus, J. H. (2009). "Heavy Metals"–A Meaningless Term. *Chemistry International-Newsmagazine for IUPAC,* 23(6), 793-807.

Echevarría, G., Lujan , N. K., Montoya, J., Albuja, M. G., Rivera, J. V., Sánchez , F., Touma, B. R. (2024). Abiotic and biotic factors influencing heavy metals pollution in fisheries of the Western Amazon. *Science of The Total Environment*, 908, 168506.

Efthimiou, I., Kalamaras, G., Papavasileiou, K., Papathanasi, N. A., Georgiou, Y., Dailianis, S., Vlastos, D. (2021). ZnO, Ag and ZnO-Ag nanoparticles exhibit differential modes of toxic and oxidative action in hemocytes of mussel Mytilus galloprovincialis. *Science of The Total Environment*,767, 144699.

EPA. (2007). Method 3015A (SW-846): Microwave Assisted Acid Digestion of Aqueous Samples and Extracts. *Method 3015A: Microwave Assisted Acid Digestion of Aqueous Samples and Extracts, part of Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods*. Washington, 1-30.

EPA. (2007). Method 6010C (SW-846): *Method 6010C (SW-846): Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry*. Washington, 1-30.

Filho, P. J., Caldas, J. S., Rosa, N. N. and Pereira, F. O. (2017). Toxicity test and Cd, Cr, Pb and Zn bioccumulation in Phalloceros caudimaculatus. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences,* 4(3), 206-211.

Firidin, G. (2016). Tilapia (Oreochromis niloticus) Balığı Dokularında Protein ve Pb Düzeyleri Üzerine Pb ve Pb+Zn Karışımının Etkisi. *Ecological Life Sciences*, 11(4), 19-27.

Flora, S., Saxena, G., Gautam, P., Kaur, P. and Gill, K. (2007). Response of lead-induced oxidative stress and alterations in biogenic amines in different rat brain regions to combined administration of DMSA and MiADMSA. *Chemico-Biological Interactions*, 170(3), 209-220.

Freitas, R., Ramos Pinto, L., Sampaio, M., Costa, A., Silva, M., Rodrigues, A. M., Figueira, E. (2012). Effects of depuration on the element concentration in bivalves: comparison between sympatric Ruditapes decussatus and Ruditapes philippinarum. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 110, 43-53.

Gagné, F., Auclair, J., Turcotte, P., Gagnon, C., Peyrot, C. and Wilkinson, K. (2019). The influence of surface waters on the bioavailability and toxicity of zinc oxide nanoparticles in freshwater mussels. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 219, 1-11.

Garbarino, J. R., Hayes, H. C., Roth, D. A., Antweiler, R. C., Brinton, T. I. and Taylor, H. E. (1995). Heavy Metals in the Mississippi River. *Contaminants in the Mississippi River, 1987-92. U.S. Geologıcal Survey Cırcular*, 202, 1133

Ghazi, A. M. and Millette, J. R. (1964). *Lead.* (1. Edition). Burlington: Academic Press, 55-79.

Guevara, S. R., Bubach, D., Vigliano, P., Lippolt, G. and Arribére , M. (2004). Heavy metal and other trace elements in native mussel Diplodon chilensis from Nothern Patagonia Lakes, Argentina. *Biological Trace Element Research*, 102(1), 245-263.

Gülşen Koca, N., Yıldırım, F., Yılmaz, M. and Günal, A. Ç. (2023). *Kurşun Asetatın Tatlı Su Midyesi Unio delicatus Lea 1863 Hemosit Sayıları Üzerine Etkisi.* II. Uluslararası Çankaya Bilimsel Çalışmalar Kongresi, 28-29 Eylül 2023, Ankara, 835-843.

Han, İ., Saeed, K. and Han, İ. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908-931.

Hani, U. (2023). Comprehensive review of polymeric nanocomposite membranes application for water treatment. *Alexandria Engineering Journal*, 72, 307-321.

Hariharan, G., Purvaja, R. and Ramesh, R. (2014). Toxic effects of lead on biochemical and histological alterations in green mussel (Perna viridis) induced by environmentally relevant concentrations. *Journal of toxicology and environmental health.* 77(5), 246-60.

Herawati, N., Suzuki, S., Hayashi, K., Rivai, I. F. and Koyama, H. (2000). Cadmium, Copper and Zinc Levels in Rice and Soil of Japan, Indonesia, and China by Soil Type. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 64(1), 33-39.

Hossain, M. A., Chowdhury, T., Chowdhury, G., Schneider, P., Hussain, M., Das, B. and Iqbal, M. M. (2023). Impact of Pb Toxicity on the Freshwater Pearl Mussel, Lamellidens marginalis: Growth Metrics, Hemocyto-Immunology, and Histological Alterations in Gill, Kidney and Muscle Tissue. *Special Issue Environmental Pollution and Related Aquatic Ecotoxicity*, 11(6), 475.

Hull, M. S., Vikingsland, P. J. and Schultz, I. R. (2013). Uptake and retention of metallic nanoparticles in the Mediterranean mussel (Mytilus galloprovincialis). *Aquatic Toxicology*, 140-141, 89-97.

Hussain, M., Hossain, M., Begum, M. and Chandra Roy, N. (2023). Freshwater mussel (Lamelliedens marginalis) to reduce the lead (Pb) bioaccumulation in aquaculture of stinging catfish, Heteropneustes fossilis. *Journal of Applied Aquaculture*, 35(3), 605-621.

İnternet: Greenway (2020). URL: https://satilmadanal.com/agir-metaller-nelerdir-dikkate-alinacak-oneriler/, Son Erişim Tarihi: 20.11.2023.

İnternet: PubChem (2023). Compound Summary for CID 9317, lead acetate anhydrous. National Center for Biotechnology Information. URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/lead-acetate-anhydrous, Son Erişim Tarihi: 20.11.2023.

İnternet: Soltek Solution Technology (2008). URL: https://www.soltekkimya.com/, Son Erişim Tarihi: 20.11.2023.

İnternet: Wikipedia (2023). *Bivalvia*. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Bivalvia, Son Erişim Tarihi: 20.11.2023.

İnternet: Anadolu Ajansı (2019). Kuş cenneti Gölbaşın turizmine kazandırılacak. URL: https://www.aa.com.tr/tr/pg/foto-galeri/-kus-cenneti-golbasi-turizme-kazandirilacak/0, Son Erişim Tarihi: 20.11.2023.

İnternet: Lopes-Lima, M. and Seddon, M. B. (2014). *Unio terminalis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2014: e.T164866A42466771. URL: https://www.iucnredlist.org/species/164866/42466771, Son Erişim Tarihi: 20.11.2023.

İnternet: John, J. S. and Marie, A. (2018). What makes lead poisonous? URL: https://www.thoughtco.com/what-makes-lead-poisonous-607898, Son Erişim Tarihi: 20.11.2023.

Kara, E., Taciroğlu, B. ve Sak, T. (2016). Toprakta Ağır Metal Gideriminde Solucanların Kullanımı. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi,* 19(2), 201-207.

Kayhan, F. E. (2019). Sucul Organizmalarda Kurşunun (Pb) Biyobirikimi ve Toksisitesi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi,* 8(3), 82-96.

Kobaza, K., Parlak, V. ve Atamanalp, M. (2021). Aras Nehri (Erzurum)'nden Örneklenen Tatlı Su Midyesinde (Unio crassus) Deneysel Ortamda Kurşun II Asetat Birikim Düzeylerinin Araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi,* 52(3), 344-350.

Kumar, V. R., Parihar, A., Sharma, P., Bakshi, G. P., Sidhu, A. S., Bali, I. and Karaouzas, E. A. (2019). Evaluation of Heavy Metal Content in Surface Water Bodies: A meta-Analysis Using Heavy Metal Pollution Indices and Multivariate Statistical Analysis. *Chemosphere,* 236, 124364.

Lea, M., Jeanes, M., Vaux, P. and Bridges, P. (1863). Orıgınal Research In Systematıcs, Evolutıon and Ecology. *Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 15, 189-190.

Lima, M. L., Gürlek, M. E., Kebapçı, Ü., Şereflişan, H., Yanık, T., Mirzajani, A., Froufe , E. (2021). Diversity, biogeography, evolutionary relationships, and conservation of Eastern Mediterranean freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 163, 107261.

Liu, Y., Xu, L., Wang, R., Qiao, F., Xiong, J. and Xu, Z. (2022). Study on the detection of heavy metal lead (Pb) in mussels based on near-infrared spectroscopy technology and a REELM classifier. *Microchemical Journal*, 178, 107394.

Lozet, J. and Mathieu, C. (1991). Dictionary of Soil Science. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 156(1), 348.

Lyman, W. J. (1995). *Fundamentals Of Aquatic Toxicology*. (2. Edition). Boca Raton: CRC Press, 44.

Mobarak, Y. M. and Sharaf, M. M. (2011). Lead Acetate-induced Histopathological Changes in the Gills and Digestive System of Silver Sailfin Molly (Poecilia latipinna). *International Journal of Zoological Research*, 7(1), 1-18.

Mohamed, A. S., Dajem, S. B., Al-Kahtani, M., Ali, S. B., Ibrahim, E., Morsy, K. and Fahmy, S. R. (2021). Silver/Chitosan Nanocomposites İnduce Physiological and Histological Changes in Freshwater Bivalve. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 65, 126719.

Morais, T., Moleiro, P., Leite, C., Coppola, F., Pinto, J., Henriques, B., Freitas, R. (2023). Ecotoxicological impacts of metals in single and co-exposure on mussels: Comparison of observable and predicted results. *Science of The Total Environment*, 881, 163165.

Mussali-Galante, P., Tovar-Sánchez, E., Valverde, M. and Rojas del Castillo, E. (2013). Biomarkers of exposure for assessing environmental metal pollution: from molecules to ecosystems. *Rev. Int. Contam, Ambie*, 29(1), 117-140.

Nadella, S. R., Tellis, M., Diamond, R., Smith, S., Bianchini, A. and Wood, C. M. (2013). Toxicity of lead and zinc to developing mussel and sea urchin embryos: critical tissue residues and effects of dissolved organic matter and salinity. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 158(2), 72-83.

O'Connell, D. W., Birkinshaw, C. and O'Dwyer, T. F. (2008). Heavy metal adsorbents prepared from the modification of cellulose: a review. *Bioresource Technology*, 99(15), 6709-6724.

Odabaşı, D. A. (2011). *Sarıçay, Karamenderes Çayı, Kocabaş Çayı ve Tuzla Çayı'nın Molluska Faunasının Mevsimsel Değişimlerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, 1-15.

OECD, (1993). OECD Guidelines for Testing of Chemicals. *OECD (Organization for Economic Co-operation and Development)*. Paris.

Ojovan, M. I., Lee, W. E. and Kalmykov, S. N. (2019). *An Introduction to Nuclear Waste Immobilisation.* (3. Edition). India: Elsevier, 1-7.

Oliveira, L. F., Cabral, M. T., Risso, W. E. and Martinez, C. B. (2018). Single and combined effects of Zn, Mn and Fe on the Neotropical freshwater bivalve Anodontites trapesialis: Bioaccumulation and biochemical biomarkers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161, 735-745.

Omidtorshiz, A., Benam, M. R., Momennezhad, M., Sabouri, Z. and Darroudi, M. (2023). Green synthesis of lead oxide nanoparticles using Ocimum basilicum extract: Photocatalytic assessment and cytotoxicity effects. *Inorganic Chemistry Communications*, 158(1), 111575.

Osman, M. M., El-Fiky, S. A., Soheir, Y. M. and Abeer, A. I. (2009). Impact of Water Pollution on Histopathological and Electrophoretic Characters of Oreochromis niloticus Fish. *Research Journal of Environmental Toxicology*, 3(1), 9-23.

Özbolat, G. and Tuli, A. (2016). Effects of Heavy Metal Toxicityon Human Health. *Archives Medical Review Journal,* 25(16), 502-521.

Özşahin, E. (2011). Gölbaşı (Balık) Göl'ünde (Hatay) Meydana Gelen Değişimin Coğrafi Analizi. *International Periodical For The Languages, Literature and History of Tukish or Turkic*, 6(1), 1657-1673.

Pathania, D. (Editor). (2016). *Heavy Metals: Sources, Toxicity and Remediation Techniques*. India: Nova, 101-130.

Prato, E., Biandolino, F. and Scardicchio, C. (2006). Test for Acute Toxicity of Copper, Cadmium and Mercury in Five Marine Species. *Turkish Journal of Zoology,* 30(3), 285-290.

Purvaja, R., Hariharan, G. and Ramesh, R. (2014). Toxic Effects of Lead on Biochemical and Histological Alterations in Green Mussel (Perna viridis) Induced by Environmentally Relevant Concentrations. *Journal of Toxicology and Environmental Health,* 77(5), 246-260.

Ramsdorf, W. A., Ferraro, M. V., Ribeiro, C. A., Costa, J. R. and Cestari, M. M. (2008). Genotoxic evaluation of different doses of inorganic lead (Pb II) in Hoplias malabaricus, *Environmental Monitoring and Assessment.* 158(1), 77-85.

Saidon, N. B., Szabó, R., Budai, P. and Lehel, J. (2024). Trophic transfer and biomagnification potential of environmental contaminants (heavy metals) in aquatic ecosystems. *Environmental Pollution,* 340(1), 122815.

Salunke, R. S. and Shirale, D. J. (2021). *Functionalized Nanomaterials Based Devices for Environmental Applications.* India: Elsevier, 349-378.

Sönmez, M. Ş. (2006). *Atık Kurşun Asit Akümülatörü Pastasının Değerlendirilmesi*, Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 58.

Şavran, G. ve Küçük, F. (2022). Sucul Canlılarda Ağır Metal Birikimi ve Etkileri. *Akademia Doğa ve İnsan Bilimleri Dergisi,* 8(1), 65-78.

Tchounwou, P., Yedjou, C., Patlolla, A. and Sutton, D. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology,* 101, 133-164.

Teyin, G. (2018). *Pişirme Ekipmanlarından Gıdalara Ağır Metal Geçişinin Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Gastronomi ve Mutfak Sanatları Anabilim Dalı, Konya, 18-22.

Tarım ve Orman Bakanlığı (2023). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. *Resmî Gazete,* Tarih: 05.11.2023, Sayı: 32360.

Timpano, A. J., Jones, J. W., Beaty, B., Hull, M., Soucek, D. J. and Zipper, C. E. (2022). Combined Effects of Copper, Nickel, and Zinc on Growth of a Freshwater Mussel (Villosa iris) in an Environmentally Relevant Context. *Aquatic Toxicology,* 242, 106038.

Todaro, N. M., Gusmerotti, N. M., Daddi, T. and Frey, M. (2023). Do environmental attitudes affect public acceptance of key enabling technologies? Assessing the influence of environmental awareness and trust on public perceptions about nanotechnology. *Journal of Cleaner Production,* 387, 135964.

Wang, N., Ingersoll, C. G., Ivey, C. D., Hardesty, D. K., May, T. W., Augspurger, T., Barnhart, M. C. (2010). Sensitivity of early life stages of freshwater mussels (Unionidae) to acute and chronic toxicity of lead, cadmium, and zinc in water. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(9), 2053-2063.

Wang, T. and Liu, W. (2022). Emerging investigator series: metal nanoparticles in freshwater: transformation, bioavailability and effects on invertebrates. *Environmental Science: Nano*, 9(7), 2237-2263.

Wu, F., Sokolov, E. P., Khomich, A., Fettkenhauer, C., Schnell , G., Seitz, H. and Sokolova, I. M. (2022). Interactive effects of ZnO nanoparticles and temperature on molecular and cellular stress responses of the blue mussel Mytilus edulis. *Science of The Total Environment,* 818, 151785.

Wuana, R. A. and Okieimen, F. E. (2011). Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2011, 1-20.

Xia, J., Lu, L., Jin, C., Wang, S., Zhou, J., Ni, Y. and Jin, Y. (2018). Effects of short term lead exposure on gut microbiota and hepatic metabolism in adult zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology,* 209, 1-8.

Xu, Ş., Zhan, L., Hong, C. and Chen, X. (2020). Metal–Organic Framework-5 as a Novel Phosphorescent Probe for the Highly Selective and Sensitive Detection of Pb (II) in Mussels. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 308, 127733.

Yavuz, O. ve Sarıgül, N. (2016). Toprak ve Sucul Ortamlardaki Ağır Metal Kirliliği ve Ağır Metal Dirençli Mikroorganizmalar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi,* 7(1), 44-51.

Yedjou, C., Steveerson, M. and Tchounwou, P. B. (2006). Lead nitrate-induced oxidative stress in human liver carcinoma (HepG2) cells. *Metal Ions in Biology and Medicine*, 11, 293-297.

Yıldırım, E. (2018). *Sapanca Gölü ve Derelerinde Yaşayan Balıkların Yenebilir Kısımlarındaki Bazı Ağır Metallerin ICP-OES İle Tayini*. Yüzsek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya, 1-8.

Yoo, J. W., Cho, H., Lee, K. W., Won, E. J. and Lee, Y. M. (2021). Combined effects of heavy metals (Cd, As, and Pb) Comparative study using conceptual models and the antioxidant responses in the brackish water flea. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 239, 108863.

Zhou, L., Li, M., Zhong, Z., Chen, H., Wang, X., Wang, M. and Li, C. (2021). Biochemical and metabolic responses of the deep-sea mussel Bathymodiolus platifrons to cadmium and copper exposure. *Aquatic Toxicology*, 236, 105845.

Zuykov, M., Pelletier, E. and Demers, S. (2011). Colloidally complexed silver and silver nanoparticles in extrapallial fluid of Mytilus edulis. *Marine Environmental Research*, 71(1), 17-21.

Zuykov, M., Pelletier, E. and Harper, D. (2013). Bivalve mollusks in metal pollution studies: From bioaccumulation to biomonitoring. *Chemosphere*, 93(2), 201-208.



Gazili olmak ayrıcalıktır