

Potansiyel ağır metal kirliliğinin belirlenmesinde akuatik organizmaların biokullanılabilirliği

Zeynep Seda TAYLAN^{1,*}, Hülya BÖKE ÖZKOÇ¹

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü 55139-
Kurupelit/Samsun

Özet

İçinde bulunduğumuz sanayi ve teknoloji çağında mevcut üretim faaliyetleri, nüfus artışı, kırsal bölgeden kentsel bölgelere göç, çarpık şehirleşme, doğal alanların tahribi gibi faaliyetler sonucunda su ortamları hızla kirlenmektedir. Kirlenme suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini etkilemektedir. Su ortamındaki kirlilikleri belirlemede günümüze kadar en yaygın kullanılan metotlar genelde suyun kimyasal analizleridir. Ancak kimyasal yöntemler su ortamındaki organizma üzerinde kirlenmelerin etkisini gösterememektedir. Akuatik organizmalar buldukları su ortamı ile denge içerisinde olduklarından su ortamının potansiyel kirlilik seviyesini biyolojik açıdan temsil edebilirler. Su ortamındaki besin zinciri de göz önüne alındığında kirlenmeler (organik kökenli olan PAH (poli aromatik hidrokarbonlar), PCB(poli klorlu bifeniller), pestisitler; inorganik kökenli olan ağır metaller..) bir organizmadan başka bir organizmaya ve insana kadar ulaşabilmektedir. Bu düşünceden hareketle, bu çalışmada insanda oluşabilecek birikim ve görülebilecek etkileri anlamak ve yorumlamak açısından akuatik organizmaların biokullanılabilirlik seçenekleri değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biomonitör, akuatik organizma, ağır metal, biobirikim, ekotoksikoloji, akut-kronik toksisite.

Bioavailability of aquatic organisms in determination of potential heavy metal pollution

Abstract

Water surroundings have been polluted at technology period which is to be in, because of remaining population, migration to urban area from rural areas, warped urbanization and destruction natural field. Pollution effects physical, chemical and biological characteristic of water body. Chemical analyses have occurred methods used the most common at determination of aquatic pollution till now. However, chemical methods aren't able to indicate effects of pollution on aquatic biota. Because aquatic organisms are in equilibrium with water body, they can represent pollution level of water body. When food-chain is considered, pollutions are able to reach to another organism from one, at the end human beings. From the opinion, in this study, it is evaluated organism usage alternatives point of view to understand and comment on usual effect and accumulation to may be form at the human beings.

Key Words: Biomonitor, aquatic organism, heavy metal, bioaccumulation, ecotoxicology, acute-chronic toxicity

* Zeynep Seda TAYLAN, staylan@omu.edu.tr.

1. Giriş

Su ortamlarından göl, nehir, deniz ve okyanuslar insanlar tarafından uzun bir süredir görmezden gelinerek sınırsız kapasitedeki atık bölgeleri olarak görülmektedir. Endüstriyel atık suların, zirai kaynaklı suların ve evsel atık suların sahil sularına geniş ölçüde deşarjı dünyanın bir çok kesiminde giderek yaygınlaşmaktadır. Bunun sonucu olarak, sahil ve iç kesimlerdeki su ortamlarında kirlilik hızla artmaktadır.

Su ortamları, günümüzde atıkların çoğu için ideal bir deşarj yeri olarak kabul edilmiş, basit ve ucuz bir bertaraf seçeneği olarak geniş uygulama görmüştür. Gelişmiş ülkeler de dahil olmak üzere kabul edilen bu kavram zehirli kimyasal maddelerin biyolojik birikiminin ve bazı kirleticilerin su ortamlarında uzun süre kalması nedeniyle ekolojik zehirlenmenin artarak bugünkü vahim duruma gelmesine yol açmıştır. Bu kirlenme suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini etkilemektedir. Akuatik kirliliği belirleyici bu özellikler izlenerek problemlerin çeşitli çözüm yollarına gidilmektedir. Bunun için kirleticilerin konsantrasyonları kimyasal olarak belirlenmektedir. Ancak bu yöntemler su ortamındaki potansiyel kirliliği belirlemede yetersiz kalmaktadır. Yapılacak izlemelerde yeni tekniklerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır ve bu da zaman almaktadır.

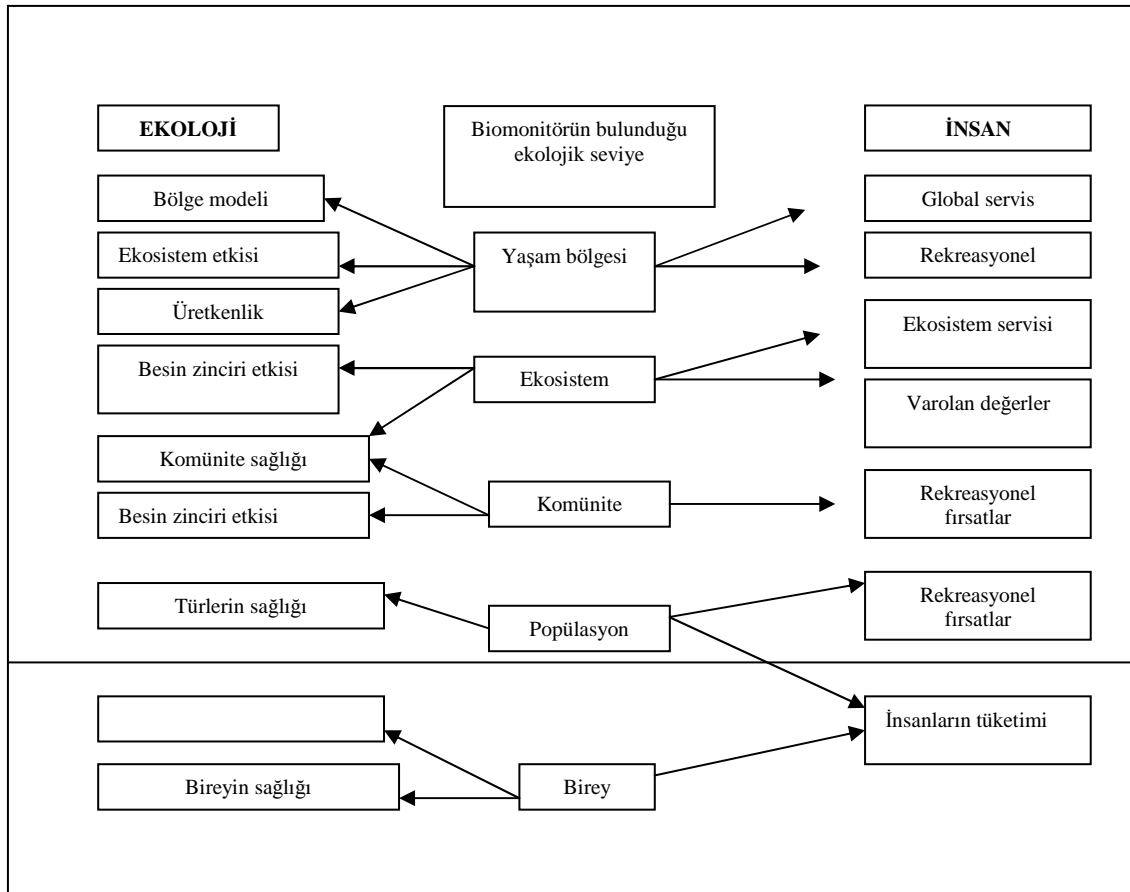
Günümüze kadar, su ortamındaki kirlilikleri izlemede geleneksel metotlar suyun kimyasal analizleri idi. Ancak bu veriler su ortamında yaşayan biota üzerindeki kirleticilerin etkisini gösterememektedir [12, 21]. Bu nedenlerle son yıllarda yapılan çalışmalarla akuatik kirliliği belirlemede organizmalardan yararlanılmaktadır. Organizmalar onları çevreleyen ortam ile denge halinde yaşadığından bütünleştirici örnekleme aracı olarak düşünülebilir. Organizmalar kirleticilerin organizma içi konsantrasyonları ve bunun sonucunda oluşan biyolojik etkiler arasındaki ilişkinin özelliklerinin anlaşılmasını sağlayabilirler.

Doğal ekosistemde sürekli, dengeli bir madde ve enerji döngüsü vardır. Ekosistemi oluşturan canlı grupları birbirine besin zinciri ile bağlıdır. Aldıkları besinleri enerjiye dönüştürüp kullanır, bir kısmını da depolayıp besin zincirinin bir üst halkasındaki canlıya aktarırlar. Canlılardan herhangi birinin kirleticiler ile zarar görmesiyle, madde ve enerji döngüsündeki bu zincirler kırılmakta, canlılar arasında varolan karşılıklı etkileşim bozulmaktadır. Zincirin farklı basamaklarında bulunan canlı grupları arasındaki besin ve enerji transferi engellenmektedir.(Şekil 1).

Ekosistemde canlılar arasındaki dengeyi bozan kirleticileri organik ve inorganik kirleticiler olarak sınıflandırmak mümkündür. Bu kirleticiler metaller, pestisitler, Poli Klorlu Bifeniller (PCB), Poli Aromatik Hidrokarbonlar (PAH) 'dır. Bunlar organizmalara toksik etki yapmaktadırlar [21]. Toksik bir madde “ **herhangi bir organizmada veya onun yavrularında ölüme, hastalığa, anormal davranışlara, fiziksel veya üreme bozukluklarına ya da fiziksel deformasyonlara neden olabilen, besin zinciri veya diğer maddelerle birleşmesi durumundaki konsantrasyonlarda zehirlenme etkisi oluşturabilen madde**” olarak tanımlanmaktadır. Bir maddenin toksisitesi ise hedef bölgede maruz kalınan biyolojik olarak kullanılabilir konsantrasyonu ile belirlenir. Biyolojik olarak kullanılabilir bölüm ise; hedef bölgedeki etkili konsantrasyonun tam olarak belirlenmesi oldukça güç olan vücut hasarları ile belirlenebilir. Verilen bir etki altında kalma konsantrasyonundaki kullanılabilir kısım farklı organizmalar için organizmanın morfoloji ve fizyolojisine bağlı olarak farklılık gösterebilir. Toksik etki oluşturabilen maddeler çok çeşitli konsantrasyonlarda olabilir. USEPA tarafından ters etki

şu şekilde tanımlanmaktadır: Organizmanın tepkisinde ek bir müdahale gerektiren, verimi veya tüm organizma performansını etkileyebilen ve fonksiyonel bozulma ile sonuçlanan herhangi bir biyokimyasal, psikolojik, anatomik, patolojik ve/veya davranış değişikliğidir [5].

Kirleticilerden organik kontaminantların aksine, inorganik kökenli olan ağır metaller konsantrasyon ya da toksisitelerini azaltan parçalanma işlemine uğramazlar. Bazı ağır metaller akuatik organizmalara doğrudan zehirli olan çoğu deniz ve nehir organizması tarafından önemli seviyelerde birikirler. Bu birikim, hem sahil ortamındaki canlılar üzerinde metallerin muhtemel zararlı etkileri, hem de insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri açısından bir fikir verir. Bu sebeple izleme programları hem nehir hem de sahil bölgelerinde metallerin geçici ve kalıcı biokullanılabilirliklerini belirlemek için gereklidirler [16].



Şekil 1. İnsan ve ekolojik sağlık etkisini değerlendirmek için kullanılan biomonitör akış şeması [1].

İndikatör organizmalar ağır metalin alımı, atılımı ve biyokullanılabilirliğinin izlenmesinde ve toksik etkilerin belirlenmesinde kullanılabilir, buldukları su ortamları ile doğrudan temas halinde olduklarından su ortamındaki kirleticileri alarak bünyelerinde biriktirebilirler ve bu sayede ortamın kirlilik seviyesi hakkında bilgi verebilirler.

2. Ağır metal kaynakları

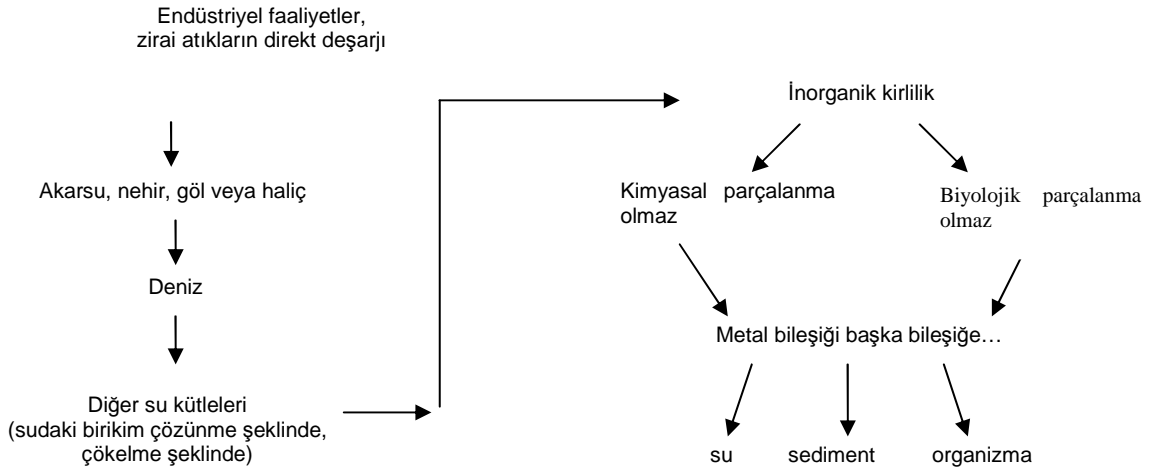
Metaller ve bileşikleri yer kabuğunda değişik konsantrasyonlarda bulunurlar. İz metaller çevre kirlenmesi bakımından yüksek konsantrasyonlu metallerle oranla çok daha tehlikelidirler. Tabii minerallerdeki metaller normal olarak çözünmeyen bileşikler halinde olup canlı organizmalara zararsızdır. Buna karşılık bunların çözünen türevleri, genellikle organizmalar için toksiktirler. Ağır metaller çevrede özellikle biyosferde geniş bir yayılım gösterirler, bu sebeple zararlı formdaki konsantrasyonları önemli boyutlara ulaşır [4].

Kirleticiler, genelde iki ana kaynaktan sucul ortama ulaşırlar. Noktasal deşarjlar; atık su deşarjları, endüstriyel kaynaklardan gelen atık sular; noktasal olmayan deşarjlar; tehlikeli atık bertaraf bölgeleri ve kaza sonucu sızmalardan salınan maddeler şeklinde olmaktadır. Noktasal kaynakların tiplerini karakterize etmek genelde kolaydır. Aksine noktasal olmayan deşarjlar, zirai alanlardan gelen pestisitler, kontamine olmuş topraklar, ve akuatik sedimentlerden, atmosferik birikimlerden ve yerleşim alanlarından gelen sızıntı kaçaklarını karakterize etmek daha zordur. Çoğu durumda noktasal olmayan kaynaklardan gelen deşarjlar kompleks karışımlardır, toksik maddelerin miktarını, deşarjların miktarını ve zamanlamasını tahmin etmek zordur. Noktasal olmayan deşarjlardaki en zor görüşlerden biri bileşenlerin toksik karakterlerini değiştirebilmesidir [7].

Noktasal olan ve olmayan kaynaklardan gelen atık sularda bazen eser miktarlarda bazen de yüksek miktarlarda metaller bulunabilir. Bu metaller deşarjın yapıldığı noktadan itibaren akarsu, nehir, göl ve haliçlerden deniz ve okyanuslara kadar ulaşabilirler. Deniz ortamına giren kirletici maddelerin çoğu karasal kaynaklıdır. Bunlar karadan denizlere; akarsular, yağmur ve kıyı bölgelerdeki atıklar ile taşınır.

Tabii şartlar altında denizlerdeki ağır metallerin en önemli kaynağı olarak nehirler görülmektedir. Genel olarak nehirlerle taşınan ağır metallerin büyük bir kısmı çözülmüş halde taşınmaktadır. Partiküler formdaki ağır metal formlarının ise sadece bir kısmı denizlere ulaşmaktadır. Çünkü akarsuyun hızı azaldıkça çökme meydana gelir ve körfezlerde tuzlu su ile tatlı su karıştığı zaman çeşitli fiziko-kimyasal değişimler olur. Metal kirlenmesi iletim, rüzgar ve sularla bir yerden başka bir yere sürüklenirler. Bu şekilde bir dağılmanın yararlı yönleri yanında konsantrasyon azalımı gibi zararlı yönleri de vardır. Böylelikle hiç kirlenmemiş bölgelere kirlilik taşınabilir.

Sonuçta metal kirliliğinin çoğu sularda birikir. Sulardaki birikim, çözünme şeklinde olabileceği gibi, çözünmeden suların dibinde çökme şeklinde de olabilir. Bu şekilde bir kirlenme endüstriyel ve zirai atıklardan meydana geldiği gibi herhangi bir yolla atmosfere verilen metal türü maddelerden de meydana gelebilir. Atmosfere verilen metal türü maddeler sonunda yeryüzüne dönerler ve akarsular yolu ile su yataklarına sürüklenirler. Metal kirlenmesi, organik kirlenmeler gibi kimyasal ve biyolojik yollarla parçalanmazlar, bir metal bileşiği başka bir metal bileşiğine dönüşür. Dönüşme ne olursa olsun metal iyonu kaybolmaz (Şekil 2) [13].



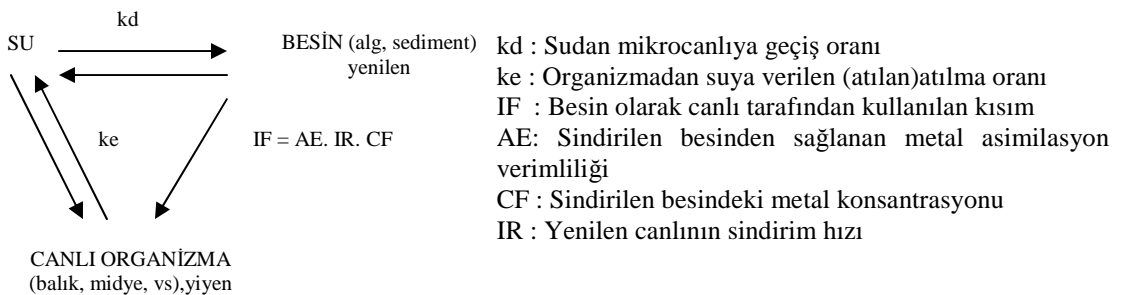
Şekil 2 Metalin su ortamında izlediği yol [13]

3. Su ortamında metal kirliliğinin belirlenmesi

Günümüze kadar su ortamındaki kirlilikleri belirlemede çoğunlukla suyun kimyasal analizleri kullanılmaktaydı.. Ancak bu ölçümler tek başına yeterli olmamakta, tamamlayıcı diğer analizlerin de yapılmasını gerekli kılmaktadır [20].

Su ortamları tek başına su kütlelerinden ibaret olmayıp, bünyesinde bir çok hayvan ve bitki kökenli yüzen veya dipteki sediment tabakasında yaşayan organizma grupları ihtiva etmektedir. Kirleticiler sadece suda çözünmekle kalmayıp, ortam şartlarına göre organizmaya geçmekte, besin zincirinde birikmekte veya dibe çökmektedirler. Dolayısıyla bir kirletici sadece suda değil, aynı zamanda o su ortamında bulunan tüm canlıların yapısına geçmektedir.

Su ortamlarında ağır metal üç şekilde ölçülebilir; suda, sedimentte ve canlıda [13] (Şekil 3). Suda, sedimentte ve organizmalarındaki kirlilik seviyelerinin belirlenmesiyle ve izlenmesiyle ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Bu üç bileşen ya kirletici seviyelerini izlemek ya da kirleticilerin çevresel davranışlarını tanımlamak için kullanılmıştır [3, 8, 9, 20].



Şekil 3. Su-sediment-canlı arasındaki etkileşim[20].

3.1. *Biyointikatör organizmalar ve biyolojik izleme*

Belli bir habitatta metallerin biyolojik olarak kullanılabilirlikleri (birikimleri)'nde "biyomonitör", biyo-indikatör" gibi terimler tercih edilir. Biyointikatör, bir türdeki ekolojik etkinin yalnızca yokluğunu ya da var olduğunu tanımlamak için, biyomonitör ise organizmanın solunum hızı, büyümedeki değişiklikler gibi biyolojik-kimyasal-fiziksel ya da davranışsal değişkenlikler ile ekolojik değişkenliğin derecesini gösterirler [13].

Biyomonitörler, sularda mevcut metal seviyelerinin zamana dayalı ölçümünü sağlayan, bölgenin sadece ölçülen zamanda değil daha öncesindeki kirlilik durumunu da yansıtan, rüzgar, dalga, akıntı hareketleri gibi fiziksel etmenlerden etkilenmeyen, metali sürekli depolayan ve bu sayede eser metalleri yüksek konsantrasyonlarda bünyesinde biriktiren organizmalardır. Bu özellikleri de ağır metalin organizmadaki ölçülebilirliğini nispeten kolaylaştırır. İdeal biyomonitörler su ortamında aynı yerde kalmalı (yerleşik, sabit konumda olmalı), yaşadıkları ortamda bol miktarda bulunmalı, tanımlanması kolay olmalı, analiz için yeterince büyük olmalı, fazlasıyla doku sağlamalı, uzun ömürlü, yer değişimine ya da laboratuvar çalışmalarına dayanıklı, ortamdaki fiziko-kimyasal değişimlere dayanıklı (tuzluluk, sıcaklık, pH.vs), geniş tuzluluk, pH, sıcaklık aralığında çalışabilmeli, en önemlisi de, metali net olarak biriktirebilmelidir. Bunlara ilave olarak canlı farklı bir metalin biyolojik kullanılabilirliğine maruz kaldığında yeni metal vücut dokularındaki önceden birikmiş metal elementinin toplam konsantrasyonunu değiştirmemeli, laboratuvar yapılacak metal kinetik çalışmalarına karşı dirençli, yıl boyunca örneklemeye elverişli , herhangi bir forma, şekle vücudunu değiştirmemeli ve yüksek miktardaki kirleticileri tolere edebilmelidir [12, 13, 16, 22].

Biyomonitör organizma çevre kirleticileri için erken belirleyici indikatör organizmalardır, hasar önceden doğrudan ölçülebilir, diğer yöntemlerde olduğu gibi tahmin gerektirmez, kirleticiler biyolojik olarak incelenebilir, deneyler daha basit ve hızlı, maliyet ise azami derecede azdır [11]. Biyomonitör seçiminde, canlının biyolojisi, beslenme şekli, solunum şekli, solunum ürünü, yaşam şekli (suda yüzen, kayaya yapışık yaşayan vs.), üreme sezonu, yaşam süresi, popülasyon yaşı, yetişkinliğe ulaşma süresi, metal birikim kinetiği incelenir [12].

3.1.1. *Ağır metal biriktiren organizmalar*

Sucul omurgasız canlılar, geniş bir ağır metal birikim konsantrasyonu gösterirler. Belirli omurgasızlar, belirli ağır metalleri farklı oranlarda kullanıp biriktirirler. Omurgasız canlılarda birikmiş metal konsantrasyonları, sucul ortamdaki toksik metalin bio-kullanılabilirliğinde coğrafik ve geçici değişimler hakkında bilgi potansiyeli sağlarlar [14]. Bu canlıları şu şekilde gruplamak mümkündür;

* **Midyeler ve İstiridyeler**, epibentik süspansiyon ile beslenirler ve bu sebeple hem suda asılı partiküllerdeki hem de suda çözünmüş olan metali alırlar. İki kabuklu midyeler aynı zamanda sedimentler ile ilişkili olan metallerin biyomonitörü olarak da önemli bir potansiyele sahiptirler [12, 13].

* **Makroalg ve Deniz Otları / Deniz Yosunları(seaweed)**, toksisitede alg kullanımı, algerin diğer pek çok bileşiminin de üzerinde organik maddenin birincil üreticileri ve besin zincirinin bir parçası olduklarından önemlidir. Bu canlılar, oksijeni önemli seviyelerde

temin ederler ve bu sebeple de aerobik çürüme prosesine katkıda bulunurlar; su ortamındaki varlıkları bu sebeple gereklidir [12, 17].

Makroalglerin çözülmüş metali hem aktif, hem de pasif bir şekilde almaları sebebiyle thallus'larındaki metal konsantrasyonu, sudaki değerinin bir kaç katı olabilir. Bu organizmaların kullanımındaki sakıncalar, ışık yoğunluğu ve sıcaklık gibi etmenlerin canlıların büyüme hızlarını değiştirmesi ve biomonitör olarak kullanılabilirliklerini de ters yönde etkilemesidir. Diğer bir problem, alglerin yüzeyine bitişik toz partiküller ile oluşan kontaminasyondur.

* **Midyeler, Kabuklular (yengeç, istakoz, karides,..vs.),** kabuklular arasında, barnacles, en uygun biomonitör özelliklerine sahip olan canlılardır. Kabuklular arasında buldukları yere en sabit yaşayan ve yılda bir kez belli bir periyot boyunca larvalarını suya salarak ve larvalarını ebeveyn konumuna getirmesi en kolay olan organizmalardır. Ayrıca barnacle'lar eser metalleri su ortamından ya doğrudan ya da askıdaki partikül kaynaklarından adsorblayarak net olarak biriktirip, geçici olarak vücudunda detoksif metal depolarına atarlar. Bu sebeple, bünyede birikmiş olan metal içeriği, bir barnacle'ın yaşamı boyunca tüm almış olduğu (biyolojik olarak kullanmış-depolamış olduğu) toplam ölçümü verir [13].

* **Talitrid amphipods,** diğer kabul edilebilir kabuklu grubu olan talitrid amphipods ağır metal biomonitörü olarak uygun canlılardır. Sahilin kıyı kesiminde, kıyıya oturmuş vaziyette denizin alçalıp yükselmesi ile birikmiş, çürüyen makro algler ile beslenirler. Bu canlılar, ağır metali solüsyondan ve yedikleri besinlerden alırlar [13]. Daha çok kıyı sularında iz metalin biomonitörü olarak düşünülebilirler [12].

* **Polychaetes**'lar, su ortamındaki metali bünyelerine solunum yolu ile alabilirler. Bu yapılarında mukusların olması ya da olmamasına bağlıdır. Faunal polychaetes'lar da sedimentler, suda süspanse maddeler..vs. ile beslenirler. Polychaete'ların oldukça farklı beslenme stratejileri vardır; alınan besinleri depolayan, sedimentte gömülü yaşayan, etobur olan, sedimana çökmüş çöpleri yiyen ve hatta yaydığı salgılar vasıtasıyla süspanسیون formlardan beslenen..vs. Çoğu polychaete türleri oldukça yaygındır ancak uzman olmayanlarca tanımlanmaları problemdir. Yine de biyolojisi bilinen polychaetes'lar belli bir bölgede biyolojik olarak kullanılabilir farklı metal kontaminasyonları arasındaki seçime yardımcı olabilir [12, 13].

4. Ağır metalin organizmaya alımı ve taşınımı

Yüksek konsantrasyonda bulunan elementler, organizmalarda çözeltileri halinde bulunurlar ve hücreler arasındaki elektronötralliği sağlarlar. Eser ağır metaller ise canlı yapısında eser oranda bulunurlar ama görevleri çok önemlidir. Bunlardan bazıları proteinlerin bazıları da enzimlerde bulunurlar. Metallerin toksik etkileri metalden metale organizma içinde değişiklik gösterir. Sonuçta gerekli olsun veya olmasın ağır metallerin çoğu canlı organizmalar için toksik potansiyele sahiptir [2].

İnsanlar ağır metalleri su, hava ve yiyecek zinciri yoluyla alırlar. Özellikle toksik organik atıkların metallerle birleşerek veya başka bileşiklere dönüşerek daha toksik hale geçmeleri önemli sorunlar yaratmaktadır. Metallerin toksik etkileri; kimyasalın özelliklerine,

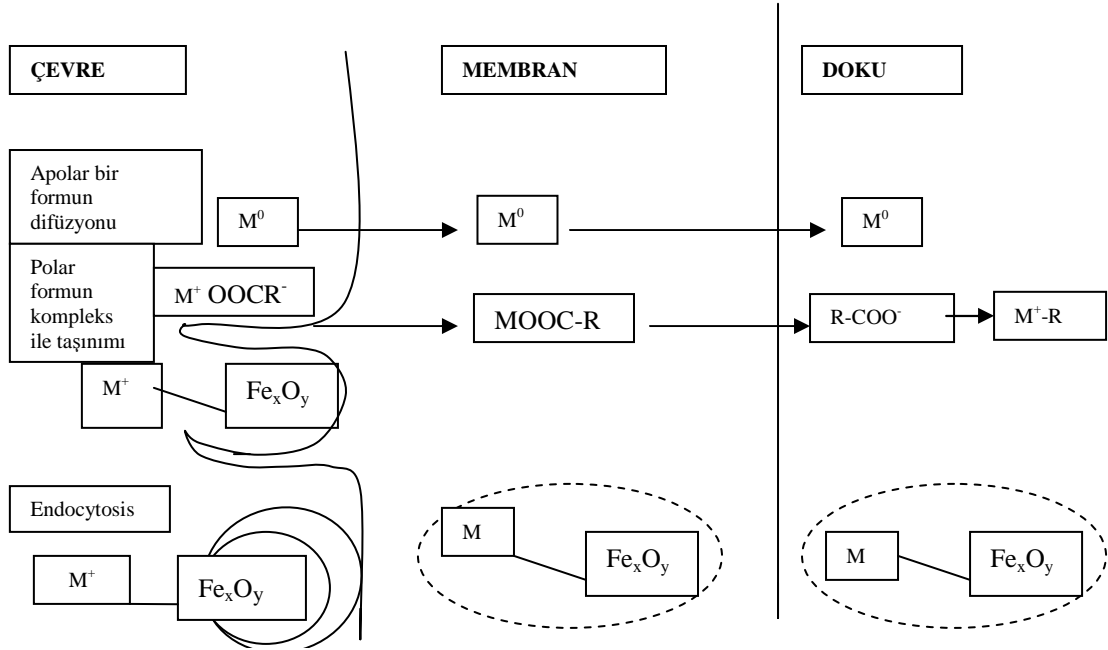
organizmaya giriş yollarına, alıcı organizmanın yaş ve gelişim durumuna, organizmaya giren miktarına, süresine bağlı olarak değişmektedir. Metal toksisitesi ile ilgili iki mekanizma mevcuttur. Birincisi, enzimin aktif bölgesinde yararlı olan metal, toksik metal ile yer değiştirir. İkincisi, toksik metal moleküle bağlanır ve metalik katyonun değişmesi enzimin aktivitesini değiştirir [12, 13, 14].

Yüksek konsantrasyonda bulunan elementler, organizmalarda çözeltileri halinde bulunurlar ve hücreler arasındaki elektronötrallığı sağlarlar. Eser ağır metaller ise canlı yapısında eser oranda bulunurlar ama görevleri çok önemlidir. Bunlardan bazıları proteinlerin bazıları da enzimlerin içinde bulunurlar [2]. Organizmanın ihtiyacı olan besinler arasında olan metaller organik moleküllerle ve daha çok proteinlerle birlikte fonksiyon gösterirler. Hemoglobin, hemosiyanin ve enzimler oksijen taşıyan metaloproteinlerdir. Enzimlerin çoğu spesifik metallerin bulunmaması halinde katalitik aktivitelerini yapamazlar. Bazı ağır metaller, uygun konsantrasyonlarda enzim aktiviteleri için gerekli olmasına karşılık, doğal konsantrasyonlar (organizmaya özgü eşik konsantrasyonu) aşıldığında enzim aktivitelerini inhibe ederler. Ag, Hg, Cu, ve Pb gibi metaller özellikle toksiktirler, enzim aktivitelerini durdururlar.

Akuatik omurgasızlardaki birikmiş ağır metal konsantrasyonunu iki kategoride toplayabiliriz. Birincisi; metabolizmada elverişli form (canlı tarafından kullanılan), ikincisi; detoksikleşmiş metal (metabolizma için esas rolü olmayan vücuttan atılacak form). Bu kategorizasyon metalin izleyeceği yolun modellenmesinde kolaylık sağlar. Detoksif metal kategorisindeki metal, granül ve/veya metallothionein ile birleşerek halkalı kimyasal formları oluşturabilir. Yine de ters yöndeki kimyasal reaksiyonların olması ile detoksif bileşiklerin oluşumu ihmal edilebilir. İkinci kategorideki detoksifiye sınıfında olan metal miktarı için teorik bir limit yoktur. Bu miktar eşik konsantrasyonunu aştığında, ilk olarak birikime ancak sonunda öldürücü etkiye sebep olur. Birikmiş metalden metabolizmanın kullandığı kısım ve detoksifiye formu olarak depolanan metalin eşik konsantrasyonu arasında bir bağlantı bulunmaz. Metabolizma için uygun toplam birikmiş metal konsantrasyonu ve toksik etkiye başlama konsantrasyonu arasında da ilişki kurmaya gerek yoktur. Toksik etkinin başlangıcı metabolik açıdan uygun formlarda olan birikmiş metalin konsantrasyonuna bağlıdır. Vücuda girecek metalin giriş hızı, vücuttan atılma hızını geçtiğinde, metal metabolizma için toksik etki oluşturur. Akuatik omurgasızlardaki toplam metal konsantrasyonu, metalin daha önceden vücuda girmiş ve birikmiş olmasına bağlıdır. Metabolizma tarafından metalin vücuttan atılma hızı, giriş hızından az ise, vücuttaki detoksifiye metal konsantrasyonu belli bir değere kadar artar. Ağır metalin bölgesel biyo-kullanılabilirliğindeki herhangi bir artış, çözünmüş formda ya da beslenme yoluyla vücuda giren metalin giriş hızının artmasına sebep olur. Eğer ki giriş hızı maksimum kombine atılma hızını aşarsa, metabolik açıdan uygun vücut konsantrasyonu artacak ve eşik konsantrasyonuna ulaşılacaktır ki bu konsantrasyon, canlıya toksik etki yaparak ölümüne sebep olur [14].

Combs, George(1978); Jackson, Morgan(1978); Luoma(1983), Tessier ve diğ.(1994) tarafından ağır metallerin biyolojik membran boyunca taşınım yolları açıklanmıştır. Eser metallerin çoğunun taşıyıcı ortam yoluyla sitoplazmik membran boyunca taşınabileceği vurgulanmıştır [9]. Metaller, hücre tarafından sorbsiyonundan sonra plazma membranı boyunca hücrenin iç kısımlarına ilerleyerek membranın lipid tabakasındaki seçici proteinler ile kompleks yaparak hücrenin daha iç kısımlarına taşınıp diffüze olurlar, sonrasında da sitosoller (stoplazmanın daha sıvı kısmı) içerisinde dayanıksız hidrofilik

kompleksler olarak çözünürler. Simkiss ve Taylor (1989,1995) tarafından da başka bir metal alım modeli ileri sürülmüştür. Buna göre ortamdaki metal iyonları ile membranın hidrofilik porları arasında bir etkileşim oluşmakta, metal membran boyunca protein kanalları içerisine sızmaktadır (Şekil 4) [10].



Şekil 4. Organizma ile çevresindeki ara yüzeyde biyolojik dokulara metalin taşınım mekanizması [9]

5. Ağır metalin organizmadaki birikimi

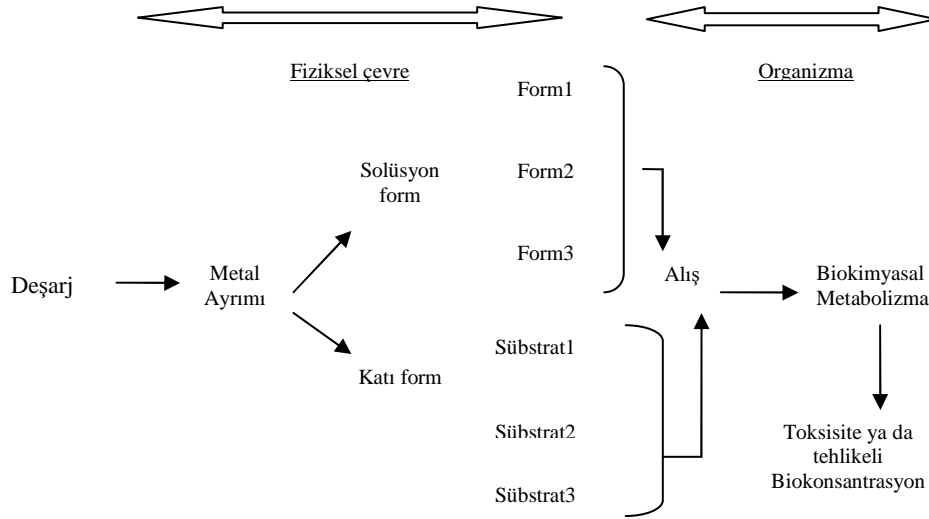
Tüm sucul omurgasızlar, metabolizmaları için esas olsun ya da olmasın, metalleri dokularında, organlarında biriktirirler. Farklı omurgasızlar da, ağır metalleri bünyelerinde farklı konsantrasyonlarda biriktirirler. Aynı sucul habitatta yaşayan ve hatta aynı cinsten olan yakın türler bile eser metalleri bünyelerinde çok farklı konsantrasyonlarda biriktirebilirler. Belli bir türde anormal derecede yüksek olan ağır metal konsantrasyonu, başka bir tür için düşük olabilir. Örneğin istiridyede düşük olan çinko konsantrasyonu bir midye türünde yüksek olabilir. Philip Rainbow (2002), temiz ve metal ile kontamine olmuş bölgelerden topladığı *kabuklu* türlerinde birim kuru ağırlık başına çinko, bakır ve kadminyumun konsantrasyonlarını belirlemiştir. Buna göre bölgelere, organizmaya ve metallerin çeşidine göre organizmalarda biriken metal miktarlarında farklılıklar gözlemlenmiştir. Her organizmanın metali kullanımında farklı metabolik amaçlar söz konusu olduğundan metalin kullanılan, atılan ve biriken miktarları farklı çıkmıştır. Ayrıca esas metal olan çinko ve bakırın biriken miktarları, esas olmayan kadminyum metal miktarından daha fazladır. Örneğin *Balanus amphitrite* için bu değerler; Zn: 9353 µg/g kuru ağırlık, Cu: 3472 µg/g kuru ağırlık, Cd: 7.3 µg/g kuru ağırlık'tır [14].

Ağır metalin, metabolik amaç ile kullanımı, vücuttan atılımı ya da depolanması, omurgasız canlının fiziksel özelliklerine bağlıdır. Bununla birlikte metalin alımı ya da biobirikim

organizma ile çevresindeki ara yüzeyde oluşan prosesler tarafından belirlenir. Organizma kesitinin özellikleri, her bir metalin biyolojik arakesitle reaktivitesi, diğer metallerin varlığı ya da metal alımını uyaracak ya da zıt yönde etkileyebilecek ana katyonlar, biyolojik ya da kimyasal reaksiyonların hızını etkileyen sıcaklıktır. Ayrıca biyodokulara taşınan metal miktarı organizmanın fiziksel durumuna ya da biyolojik faktörlere bağlıdır [9, 12, 13].

Bir ağır metal kendisine benzerlik gösteren herhangi bir moleküle bağlanma eğilimindedir. Hücreler içerisindeki iz metaller, sülfür ve azota benzerlik gösterdiğinden çoğu sülfür ve azot içerikli aminoasitlerden yapılmış proteinlere bağlanma potansiyeli gösterirler. Bu tür benzerlikler potansiyelde toksik olan tüm iz metalleri proteinlere ya da diğer moleküllere bağlar ve onların normal metabolik aktivitelerini önler. Başlangıçta ağır metallerin vücuttan dışarı atılana kadar moleküler bağlı olanları en azından “metabolik açıdan kullanılan” metallerdir, toksik değildirler. Detoksifikasyon metallothioninler ya da çözünmeyen metaliferous granülleri gibi proteinlere bağlı olmayı gerektirirler [14]. Çoğu ağır metal, metabolizmada esas rol oynadıklarından hemen atılmaz ya da detoksifiye olmaz. Örneğin çinko karbonik anhidrat çoğu enzimde anahtar bileşendir. Bakır bazı kabuklu canlılarda, ahtapotlarda ve bazı midyelerde bulunan hemosiyanin proteini, solunum için gereklidir. Bu yüzden belli miktarlarda metal, metabolizmanın ihtiyacını karşılamaktadır. Bu gösterebilir, ya da yanlış biomolekül olarak faaliyet yapar ki bu da toksik etkiye sebep olur [9, 14].

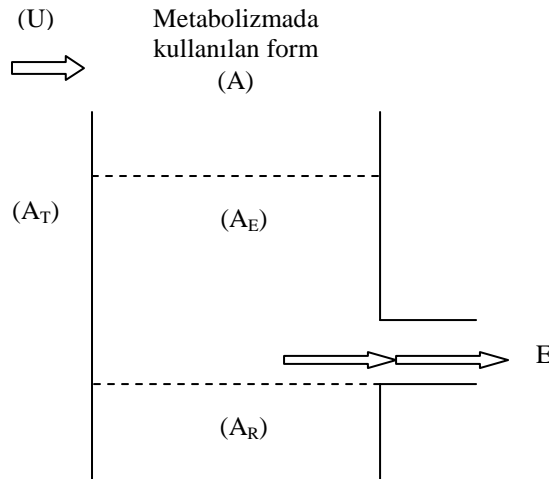
Buna göre organizma su ortamındaki metali ya çözünmüş halde solüsyondan ya da metali daha önceden bünyesine almış başka bir organizmanın besin olarak tüketilmesiyle alır. Alınan metalin organizmada kullanım ihtiyacının teorik olarak tahminini yapmak mümkündür. Ancak metabolizmada kullanılmayan, potansiyel formdaki (birikme eğiliminde) metal toksik olur ve sonuçta toksikliğin azaltılması ya da metalin vücuttan atılması gerekir. Bünye için gerekli olmayan kadmilyum, kurşun, civa gibi metaller minimum konsantrasyonda dahi canlıya gerekli değildirler, metabolizmadan detoksifiye olmalıdırlar [14]. Su ortamında bir metal değil, birden fazla metal vardır ve metallerin sudaki formları metal-ligand kompleksleridir. Bu sebeple bir organizma tek bir metal varlığına asla maruz kalmaz, her bir metalin çeşitli fiziko-kimyasal formlarına maruz kalır. Maruziyet hem partiküler formdan, hem de solüsyon formdan kaynaklanır. Her akuatik omurgasız, metali yaşadıkları ortamdan suda iyon halinde, ya da besinlerden alırlar. Eser metal bünyeye girdikten sonra, esas metabolik amaçlar için kullanılır, vücutta depo edilebilir, atılır, eser metal, kendisine benzeyen herhangi bir moleküle bağlanma potansiyeli, atılım şeklindeki bir dizi biyokimyasal işlemlerden geçer. Ancak metalin arta kalan kullanılmayan kısmı ise organizmaya ya anında toksik etki yapabilir ya da canlının bünyesinde birikerek potansiyel toksik etki oluşturur (Şekil 5), [9].



Şekil 5. Metalin organizmaya alımı ve kullanımını etkileyen prosesler [9]

5.1. Vücuttaki metal konsantrasyonunun düzenlenmesi

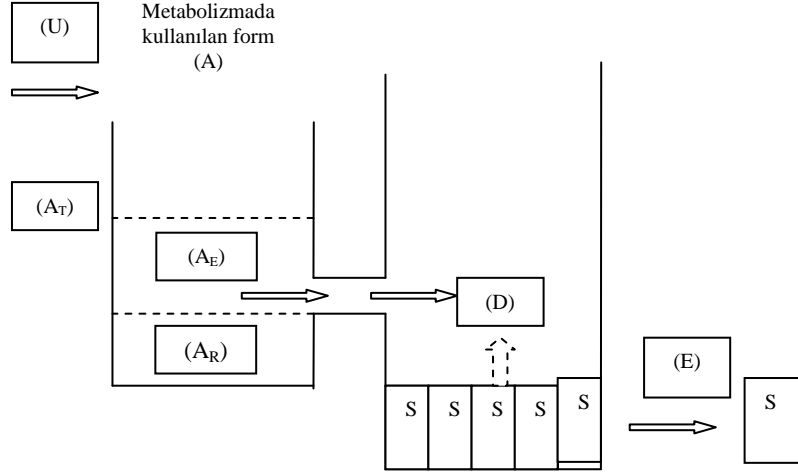
anlıdaki metal konsantrasyonunu belirlemek için littoral zonda yaşayan *Palaemon elegans* kabuklusunda esas metallere çinko kullanılmıştır. Canlı, çinkoyu yaşadığı solüsyondan alır. Çinkonun, ilk olarak vücuda girdiğinde artan bir hızda giriş yapmasına rağmen, *Palaemon elegans* canlısının vücudundaki metal konsantrasyonu, o metal için eşik konsantrasyonuna ulaşıncaya dek, herhangi bir değişiklik göstermez. Yeni çinko vücuda önemli miktarlarda girerken, aynı zamanda bu giren miktara eş değer çinko vücuttan atılır. Solüsyondan çinkonun alınış hızı, metabolizmadan atılma hızını aşarsa, çinkonun vücut konsantrasyonu $75-90 \mu\text{g Zn / g}$ kuru ağırlık arasındaki değerleri aşar. Vücuttaki çinko konsantrasyonu yaklaşık iki katına çıkar ki bu ölümcül etki yaratır. Bu kabuklu canlıdaki tüm birikmiş çinko konsantrasyonunun metabolik açıdan elverişli olduğunu (gerektiğinde organizma tarafından kullanılabilir) ve de potansiyel açıdan toksik olduğunu göstermektedir (Şekil 6). Çinko içeren enzimlerin sayısı, metabolik açıdan aktif dokunun toplam enzim içeriği vs. teorik olarak hesaplanmış ve dokuda enzim için gerekli olan çinko ihtiyacı $34.5 \mu\text{g Zn/g}$ kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Bu verilere göre canlının çinkoya duyduğu ihtiyaç teorik olarak tahmin edilebilir [14].



Şekil 6. Organizmaya giren çinkonun kullanım ve atılımı [14].

B -Detoksifiye Olarak Depolanan Kısımdan Dışarı Atılma

Metale maruziyetlerin tümünde net bir metal birikimi vardır, fakat bu seçenekte farklı olarak detoksifiye formundaki birikmiş metal deposundan atılım olmaktadır. Şekil 9, bu durumu şematik olarak açıklamaktadır. Diğer şekillerdeki detaylar burada da geçerlidir. Bu akümülyasyon doku örneklerinde, amphipod'ların beslenme yoluyla aldıkları bakır ve çinko örnek olarak gösterilmiştir [13, 14] (Şekil 9).



Şekil 9. Detoksifiye formlarında birikmiş esas metalin akuatik bir omurgasızın ağır metal birikim dokusundaki net birikimi [14].

6. Organizmada toksisite testleri

Laboratuarda toksisite çalışmalarının temeli II. Dünya Savaşı sırasında oluşan toplu balık ölümlerine dayanmaktadır ve kullanılan ilk test metodu “ kavanoz içindeki balık” ile yapılmıştır. Bazı ekotoksikoloji testleri, hücresel veya organizma seviyesindeki değişiklikleri izlemek için dizayn edilmiş ve insanlardaki toksisiteyi tahmin etmek için kabul görmüştür. Ekotoksikoloji, toksik madde salıverilmelerinden kaynaklanan potansiyel etkiyi değerlendirmek için toksikoloji prensiplerinin doğal sistemlere uygulandığı, nispeten genç bir bilimsel disiplindir. Geleneksel toksikoloji başta insanlar olmak üzere kimyasala maruz kalma, yetişkin türlerdeki etkileri üzerinde yoğunlaşırken, ekotoksikoloji fiziksel çevre ile karşılıklı etkileşimde bulunan populasyonlar üzerinde yoğunlaşmaktadır [5, 15].

Ekotoksisite çalışmaları bir ekosistemin fonksiyon ve yapısındaki değişiklikler ve ölçülebilir hücre içi etkiler arasında bağlantı kurucu bilgiler için yapılmaktadır. Bunun için ise çoğunlukla “Akut” ve “Kronik” toksisite testleri kullanılmaktadır [5].

6.1. Akut Toksisite Testleri

Akut toksisite testinin amacı, kontrollü şartlar altında, kısa süreli maruziyetler esnasında bir grup test organizması üzerinde oluşan pH, sıcaklık..vs gibi yıkıcı etkilerin seviyesini ya da test materyalinin (kirlenici madde) konsantrasyonunu belirlemektir. Akuatik organizmalarla yapılan toksisite testleri, canlının tükettiği yiyecekler içerisinde bulunan ya da enjeksiyon yoluyla direkt olarak yaşam ortamına eklenerek yürütülebilir. Çoğu testte, bir grup organizma su ortamına karıştırılmış olan farklı konsantrasyonlardaki birkaç uygulamaya maruz bırakılarak yürütülür. Ölüm, kolaylıkla belirlenebilir bir cevap

olacağından, en yaygın olanı “akut toksisite testi”dir. Ölüm koşulu genellikle hareketin, kontrolsüz, dengesiz yüzme vs., olmayışı (balıklarda özellikle solungaçların hareketi) ve verilen reaksiyonların giderek yavaşlamasıdır. Deneysel çalışmalarda test materyalinin toksisitesinin ölçümünde en fazla %50 oranında yanıt sağlanmıştır. Genelde akut lethal hareket periyodunu içine aldığından 96 saat (ya da daha az) standart maruziyet süresi boyunca yapılır. Bu sebeple, akut toksisite testlerinin çoğu balıklar üzerinde yapılmaktadır. Makro omurgasızlarda ortalama lethal konsantrasyon 96 saattir (96 saat / LC₅₀). Ancak ölüm bazı omurgasızlarda kolaylıkla belirlenemediğinden, EC₅₀ (ortalama etkili konsantrasyon) (Lethal Konsantrasyon)LC₅₀ değerine nazaran daha çok tercih edilir. Bazı omurgasızlarda (örneğin daphnids ve küçük larvalarda) (Etkileyen Konsantrasyon)EC₅₀ değerinin tahmin edilmesi için kullanılan etki canlının hareketinin azaldığı durum yani hareketsizliktir. Örneğin yengeç, tatlı su istakozu ve karides ile EC₅₀ değerinin tahmininde genellikle kullanılan etkiler hareketsizlik, normal gidişatı korumada yetersizlik olarak tanımlanan denge kaybıdır [6, 15]. Kısa süreli test sonuçları genelde;

- (1) Ölen organizmaların yüzdesi ya da uygulanan her bir test konsantrasyonunda hareketsiz olan organizmaların yüzdesi ya da uygulanan her bir test konsantrasyonunda olan organizmaların yüzdesi,
- (2) Gözlemlenmelerden elde edilen LC₅₀ ya da EC₅₀ değeri şeklinde ifade edilir [15, 18].

Akut Toksikite Testlerinde en çok kullanılan konsantrasyon değerleri şunlardır:

(% 50’sini öldüren konsantrasyon)LD₅₀ : Organizmaların %50 ‘sinin ölümüne sebep olan konsantrasyon. Grafikselleştirme ya da hesaplama yöntemi ile bulunabilir.

(% 50’sini etkileyen konsantrasyon) EC₅₀ : Test edilen organizmaların %50’sinin etkilendiği konsantrasyon. Grafikselleştirme ya da hesaplama yoluyla bulunabilir. Bu parametre ölüme yol açmayan etkiler için kullanılır.

(% 50’sini İnhibe Edici Konsantrasyon)IC₅₀ : Bir organizmanın normal tepkisini %50 oranında azaltan inhibitör konsantrasyonudur. Algler, bakteriler ve diğer organizmaların büyüme hızları için daha çok IC₅₀ değeri ölçülmektedir [6].

6.2. Kronik Toksikite Testleri

Akuatik test organizmalarına potansiyel tehlikeleri olan kimyasalların verebilecekleri muhtemel zararları değerlendirmek ve anlamak açısından önemli olan bir seçenek kronik ya da tüm yaşam döngüsü boyunca değişimleri izlemek için yapılan toksisite testleridir. Bu testten elde edilen veriler, tüm yaşam evresi boyunca sürekli bir kimyasala maruz bırakılan akuatik organizmalarda herhangi bir etkinin tahmininde ve bu kimyasalın canlıda hiçbir etkisinin olmadığı konsantrasyonların tahmininde kullanılabilir. Kronik toksisite testi, akuatik bir organizmanın yeniden üretim, üreme, normal gelişim ve büyümesine engel olacak bir kimyasalın konsantrasyonlarını gösterebilir. Genelde kronik etki oluşturan konsantrasyonlar, ölüm gibi hemen gözlemlenebilir akut etkilerinkinden daha düşüktürler. Bu yüzden, kronik toksisite testleri, akut toksisite testlerindeki kimyasal toksisitesinin ölçümünde daha duyarlı bir ölçüm sağlayabilirler Kronik toksisite testi, test canlısının tüm yaşam evresi boyunca yapılmalıdır. Canlının gamet evresi, embriyonun ilk gelişim evresi, yeni larva oluşum aşaması, yetişkin evre, olgunluk evresi..vs. [15].

Kronik toksisite testinde, kontrol olmaksızın tüm test popülasyonları, canlıların büyüme, gelişme, cinsel olgunluğa ulaşma ve üreme kabiliyeti açısından yeterli bir sürede kimyasala maruz bırakılırlar. Her bir popülasyon, farklı kimyasal konsantrasyonlarına maruz bırakılır ve düzenli aralıklarla kontrol popülasyonu ile kıyaslanarak normal büyüme, cinsel

olgunluğa erişme, doğurganlık ve ölüm oranları ölçülür [15]. Kronik toksisite testlerinde en çok kullanılan konsantrasyonlar,

MATC: Organizmada kabul edilebilir maksimum kabul edilebilir toksisite konsantrasyonu

NOEC: Hiçbir etkinin gözlemlenmediği konsantrasyon

LOEC : Etkinin gözlemlendiği en düşük konsantrasyon [6].

7. Metalin organizmalara etkisinin ölçümü

Biomonitör organizmalarda kirleticilerle alınan kimyasallar sonucunda hücre membranında değişimler, hücre hasarı, DNA ve protein hasarı, özel proteinlerde artışlar ve azalmalar, patolojik fiziksel değişiklikler, hareket ve davranışsal değişimler gözlenir [11]. Organizma hücrelerinin metal maruziyetine verdikleri cevap (tepki), mikroorganizmalarca metalin kullanımına karar vermede esas faktördür. Örneğin alg hücrelerinin verdiği tepki; canlının hücre yoğunluğunda değişme, biokütlenin yoğunluğunda değişme, klorofil içeriğinde değişme, dolayısıyla fotosentez hızında azalma sonucunda büyüme hızında değişme (genelde azalma)..vs şeklinde kendini göstermektedir [19].

Algler ile ilgili yapılan çalışmalarda organizmaların hücre yoğunlukları, sayıları, klorofil içerikleri, Karbon-14 asimilasyonları, ATP konsantrasyonlarının ölçümü vs... gibi çalışmalar yapılmaktadır. Alglerin kimyasal maddeler karşısında büyüme hızlarını karakterize eden pek çok parametre vardır. Bunun için zamana karşı organizmaların hücre yoğunluğu her 5-6 farklı konsantrasyon için ölçülür [15].

7.1. Klorofil İçeriği

Tüm algler klorofil –a içerir ve bu pigmentin ölçümü var olan alg kütesinin relatif miktarı konusunda bir fikir verebilir. Klorofil floresans ya da spektrofotometrik teknikler ile doku içinde ve doku dışında da ölçülebilmektedir. Floresans sistemler daha duyarlı olmakta ve $<1 \times 10^4$ hücre/ml hücre yoğunluğunda dahi kullanılabilir. Ayrıca in vivo tekniği duyarlı ve kesin sonuç verir ve analizden önce ön ekstraksiyon gerektirmez. Klorofil-a ölçümünde bir sınırlama, klorofil-a'nın çevresel değişimlerinin ve besi maddesi (nutrient) bir fonksiyonu olarak değişimidir [15, 19].

7.2. Karbon 14 Asimilasyonu

Karbon-14 asimilasyonuna dayalı bu metod, deniz ve tatlı su algleri için üretkenliğin ölçümünde kullanılmaktadır. Fotosentetik aktivitenin ölçümü olarak kullanılır ve algin büyüme hızları ile korelasyon kurulmasını sağlar [15].

7.3. Adenoz Trifosfat (ATP) Konsantrasyonu

Hücrede ATP/karbon oranı sabit olduğundan, yaşayan biokütlelerin varlığının duyarlı seviyede gösterimini sağlar. ATP ve biokütlenin direkt ölçümü arasında karbon 14'ü de gösteren iyi bir korelasyon vardır. ATP yaşayan biokütlenin ölçümünü sağladığından, atıklar, arıtma çamurları..vs ile enterfere olmuş ortamlar için uygun olmayabilir [6, 15].

8. Sonuç

Besin zinciri boyunca insana olan maruziyeti belirlemek için geliştirilen biomonitör organizmalar ekosistemin sürekliliğinin bir göstergesi de olabilirler. Eğer üst seviyedeki etçillerdeki (cornivor) kirleticili konsantrasyonu, yeniden üreme hızı, ölüm oranı ya da

organizma sayısı belirlenirse, toplanan bu veriler insana (üst seviyedeki etçiller) gelen riskin ve hatta tüm etçil popülasyonuna gelen riskin belirlenmesini sağlar. Besin zincirindeki bir organizma baz alınarak yapılan toksisite çalışmaları zincirin en üst kademesindeki insanda oluşabilecek birikimi ve görülebilecek etkileri anlamamızı, belirlememizi ve yorumlamamızı sağlayabilecektir [1, 6, 17].

Kirleticilerden organik kontaminantların aksine, inorganik kökenli olan ağır metaller konsantrasyon ya da toksisitelerini azaltan parçalanma işlemine uğramazlar. Bazı ağır metaller akuatik organizmalara direkt toksik olan çoğu deniz ve nehir organizması tarafından önemli seviyelerde birikirler. Besin zinciri göz önüne alındığında bu birikim, hem sahil ortamındaki canlılar üzerinde metallerin muhtemel zararlı etkileri, hem de insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri açısından bir fikir verir. Bu sebeple izleme programları hem nehir hem de sahil bölgelerinde metallerin geçici ve kalıcı biokullanılabilirliklerini belirlemek için gereklidirler [6, 15, 18].

9. Kaynaklar

- [1]. Burger, J., Gochfeld, M., "On Developing Bioindicators for Human and Ecological Health", **Environmental Monitoring and Assessment**, Vol.66, p.p.23-46, (2001)
- [2]. Gündüz T., "Çevre Sorunları", Ankara Üniversitesi., Fen Fak., Kimya Bölümü, Ankara, (1994b)
- [3]. Haritonidis, S., P. Malea, "Bioaccumulation of Metals by the Green Alga *Ulva rigida* from Thessaloniki Gulf, Greece", **Environmental Pollution**, Vol.104, p.p. 365-372, (1999)
- [4]. Kamalı Uğur A., "Samsun-Ordu Kıyı Şeridinde Deniz Kirliliğinin İncelenmesi ve Kirlilik Birikiminin Midye Örneğinde Araştırılması", **Yüksek Lisans Tezi**, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, (1999)
- [5]. Kurt , P. B., "Karadeniz-Samsun Kıyı Şeridinde Çeşitli Organik Kirleticilerin Midye ve Deniz Suyunda İncelenmesi", **Yüksek Lisans Tezi**, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, (2000)
- [6]. Landis, W.G., Ho Yu, M., "**Environmental Toxicology**", **Impacts of Chemicals Upon Ecological Systems**, Second Edition, Chapter-3 "An Introduction to Toxicity Testing", Lewis Publishers, CRC Pres LLC, (1999)
- [7]. Landis, W.G., Ho Yu, M., "**Environmental Toxicology**", **Impacts of Chemicals Upon Ecological Systems**, Second Edition, Chapter-8 "Heavy Metals", Lewis Publishers, CRC Pres LLC, (1999)
- [8]. Lynngby, J.E., "Monitoring of Heavy Metal Contamination in the Limfjord, Denmark, using Biological and Sediment", **The Science of the Total Environment**, Vol.64, p.p.239-252, (1987)
- [9]. Luoma, S.N., "Bioavailability of Trace Metals to Aquatic Organisms-A Review", **The Science of the Total Environment**, Vol. 28, p.p.1-22, (1983)
- [10]. Muse, J.O., Stripeikis, J.D., Fernandez, F.M., d'Huicque, L., Tudino, M.B., Carducci, C.N., Troccoli, O.E., "Seaweeds in the Assessment of Heavy Metal Pollution in the Gulf San Jorge, Argentina", **Environmental Pollution**, Vol.104, p.p. 315-322, (1999)
- [11]. Özkoç, H.B., Tosun, N., "Deniz Kirliliğinde Midyelerin Biomonitör Olarak Kullanımı", 3. **Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi**, 25-26 Kasım, İzmir, (1999)
- [12]. Rainbow, P. S., Phillips, D.J.H., "Cosmopolitan Biomonitors of Trace Metals", **Marine Pollution Bulletin**, Vol.26, Number 11, pp.593-601, (1993)

- [13]. Rainbow, P.S., “Biomonitoring of Heavy Metal Availability in the Marine Environment”, **Marine Pollution Bulletin**, Vol.31, pp.183-192, (1995)
- [14]. Rainbow, P.S., “Trace Metal Concentrations in Aquatic Invertebrates: Why and so What?”, **Environmental Pollution**, Vol 120, pp.497-507, (2002)
- [15]. Rand, G.M., Petrocelli, S.R., “**Fundamentals of Aquatic Toxicology Method and Applications**”, Hemisphere Publishing Corporation, Washington, USA, (1984)
- [16]. Serfor-Armah, Y., Nyarko, B.J.B., Osa, E.K., Carboo, D., Anim-Sampong, Seku, F., “ Rhodophyta Seaweed Species as Bioindicators for Monitoring Toxic Element Pollutants in the Marine Ecosystem of Ghana”, **Water, Air, and Soil Pollution**, Vol. 127, p.p.243-253, (2001)
- [17]. Sheata, S.A., Lasheen, M.R., Kobbia, I.A., Ali, G.H., “Toxic Effect of Certain Metals Mixture on Some Physiological and Morphological Characteristics of Freshwater Algae”, Vol.110, p.p.119-135, (1999)
- [18]. Taylan, Z.S., “Su Ortamlarında Ağır Metal Kirliliğinin Biomonitör Organizmalarla İzlenmesi”, **Yüksek Lisans Semineri**, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Samsun, (2004)
- [19]. Terry, P. A., Stone, W., “Biosorption of Cadmium and Copper Contaminated Water by *Scenedesmus Abundans*”, **Chemosphere**, Vol.47, p.p. 249-255, (2001)
- [20]. Wang, W.X., Fisher, N.S., “Delineating Metal Accumulation Pathways for Marine Invertebrates”, **The Science of Total Environment**, 237, p.p. 459-472, (1999)
- [21]. Webb, D., Gagnon, M.M., “Biomarkers of Exposure in Fish Inhabiting the Swan-Canning Estuary Western Australia-a preliminary study”, **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, p.p.259-269, (2002)
- [22]. Villares, R., Puente, X., Carballera, A., “*Ulva* and *Enteromorpha* as Indicators of Heavy Metal Pollution”, **Hydrobiologia**, Vol.462, p.p. 221-232, (2001)