

**FARKLI ORTAM DERİŞİMLERİNDEKİ
BAKIRIN, *Clarias lazera* (Valenciennes, 1840)'DA
NİCEL PROTEİN, GLİKOJEN VE BAZI KAN
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

MERYEM ARSLAN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ
ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MERSİN
HAZİRAN – 2006**

**FARKLI ORTAM DERİŞİMLERİNDEKİ BAKIRIN, *Clarias lazera*
(Valenciennes, 1840)'DA NİCEL PROTEİN, GLİKOJEN VE BAZI
KAN PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

MERYEM ARSLAN

**Mersin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Su Ürünleri
Anabilim Dalı**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Bedii CİCİK**

**MERSİN
HAZİRAN – 2006**

Bu tezin gerek bilimsel içerik, gerekse elde edilen sonuçlar açısından tüm gerekleri sağladığı kanaatine ulaşan ve aşağıda imzaları bulunan biz jüri üyeleri, sunulan tezi oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul ediyoruz.

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Bedii CİCİK

Jüri üyesi
Prof. Dr. Cahit ERDEM

Jüri üyesi
Yrd. Doç. Dr. Özcan AY

Bu tezin Fen Bilimleri Enstitüsü yazım kurallarına uygun olarak yazıldığı Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mahir TURHAN
Enstitü Müdürü

Not: Bu Tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil ve çizelgelerden kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir v e Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ÖZ

Bakır etkisinde *Clarias lazera* (Valenciennes, 1840)'nın kas ve karaciğer dokularındaki glikojen ve total protein düzeyleri ile kandaki bazı biyokimyasal ve hematolojik parametrelerdeki değişimler, bakırın 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm'lik üç farklı ortam derişiminin 7, 15 ve 30 gün sürelerle etkisinde belirlenmiştir.

Deney balıklarının biyokimyasal ve hematolojik parametrelerinin incelenmesinde sırasıyla spektrofotometrik ve enstrümental yöntemler kullanılmıştır.

Bakır etkisinde karaciğer dokusundaki total protein düzeyi, belirli bir sürede ortam derişimindeki artışa ve belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresindeki artışa paralel olarak artarken, kas dokusunda azalma göstermiştir.

Metalin incelenen ortam derişimlerinin belirlenen sürelerde, karbonhidrat ve protein metabolizmasını etkileyerek, doku glikojen derişiminin yanı sıra serum glikoz ve protein derişimlerinde de önemli değişimlere neden olduğu saptanmıştır.

C. lazera'da bakırın ortam derişimindeki artış, serum K^+ düzeyini arttırırken, Na^+ ve Cl^- düzeylerini azaltmıştır.

İncelenen kan parametrelerinden eritrosit sayısı, metalin ortam derişimi ve etkide kalma süresindeki artışa paralel olarak artmış, hematokrit düzeyi ise deney süresince kontrole göre önemli bir değişim göstermemiştir.

Anahtar Kelimeler: *Clarias lazera*, Bakır, Doku, Biyokimya, Hematoloji

ABSTRACT

Accumulation of copper and its effect on muscle and liver glycogen and total protein together with biochemical and hematological parameters of blood in *Clarias lazera* (Valenciennes, 1840) were studied at 0.1, 0.5 and 1.0 ppm Cu concentrations over 7, 15 and 30 days periods.

The biochemical and hematological parameters of the experimental animals were studied using spectrophotometrical and instrumental methods respectively.

Total protein level of liver tissue increased and the muscle tissue decreased with increasing concentrations of copper at given period and with increasing exposure period at a given concentration.

Metal affected the protein metabolism and caused important changes in tissue glycogen and sera glucose and protein levels at the concentrations and periods tested.

Increase in copper concentration resulted in an increase in sera K^+ and a decrease in Na^+ and Cl^- levels.

Among the blood parameters studied, erythrocyte numbers increased with copper concentration and exposure period, while hematocrit levels did not changed significantly compared with control.

Key Words: *Clarias lazera*, Copper, Tissue, Biochemistry, Hematology

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince tezimin planlanması, yürütülmesi sırasında her türlü yardımlarını gördüğüm danışman hocam Sayın Doç.Dr.Bedii CİCİK'e, deneysel çalışmalarım ile tezin yazımı aşamasında yapıcı eleştirileri ile desteğini gördüğüm Sayın Yrd. Doç. Dr. Özcan AY'a sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmamın her aşamasında yardımlarını gördüğüm Arş. Gör. Dr. Sahire KARAYTUĞ'a ve Arş. Gör. Dr.Fahri KARAYAKAR'a, deneysel çalışmalarımda yardımcı olan Arş. Gör. Suna Gül GÜNDÜZ'e, elektrolit analizleri sırasında ME.Ü. Tıp Fakültesindeki olanaklardan yararlanmamı sağlayan ME.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Lülüfer TAMER'e, deneysel çalışmalarımda gösterdiği kolaylık nedeniyle ME. Ü. Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığı ve yardımını gördüğüm tüm personeline, bu çalışmamın proje olarak kabul edilmesi [BAP-FBE-TBB-(MA) 2004-3YL] ve maddi destek sağladığı için ME.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Tez yazım döneminde, kendi çalışma zamanını bölerek sürekli desteklerini eksik etmeyen sevgili bölüm arkadaşım Özgür ÖZBAY'a, yardımlarından dolayı Arş. Gör. Zafer KUŞATAN'a, Arş. Gör. Nuray SOYDEMİR'e ve Arş. Gör. Teslime TOKU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak bu güne kadar maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Ailem'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
ÖZ	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
1.GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	7
3. MATERYAL ve METOT	12
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	18
4.1.BULGULAR	18
4.2.TARTIŞMA	36
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ.....	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>ÇİZELGE</u>	<u>SAYFA</u>
Çizelge 3.1. Deney Akvaryumlarında, Ortamın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	12
Çizelge 4.1. <i>C. lazera</i> 'da Serum Klorür Düzeyi (mmol/L) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri	19
Çizelge 4.2. <i>C. lazera</i> 'da Serum Sodyum Düzeyi (mmol/L) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri	19
Çizelge 4.3. <i>C. lazera</i> 'da Serum Potasyum Düzeyi (mmol/L) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri	20
Çizelge 4.4. <i>C. lazera</i> 'da Hematokrit Düzeyi (%) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri	22
Çizelge 4.5. <i>C. lazera</i> 'da Eritrosit Sayısı (milyon/mm ³) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri	23
Çizelge 4.6. <i>C. lazera</i> 'da Kas Dokusu Glikojen Düzeyi (mg/g y.a.) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri	24
Çizelge 4.7. <i>C. lazera</i> 'da Karaciğer Doku Glikojen Düzeyi (mg/g y.a.) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri	25
Çizelge 4.8. <i>C. lazera</i> 'da Serum Glikoz Düzeyi (mg/100 ml) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri	25
Çizelge 4.9. <i>C. lazera</i> 'da Kas Doku Protein Düzeyi (mg/g y.a.) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri	31
Çizelge 4.10. <i>C. lazera</i> 'da Karaciğer Doku Protein Düzeyi (mg/g y.a.) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye bağlı Etkileri	32
Çizelge 4.11. <i>C. lazera</i> 'da Serum Total Protein Düzeyi (mg/100ml) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>SAYFA</u>
Şekil 4.1. <i>C. lazera</i> 'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30(c) Gün Sürelerle Serum Klorür, Sodyum ve Potasyum Düzeyleri (mmol/L) Üzerine Etkileri	21
Şekil 4.2. <i>C. lazera</i> 'da Bakır Ortam derişimlerinin 7, 15 ve 30 Gün Sürelerle Hematokrit Düzeyi (%) Üzerine Etkileri	22
Şekil 4.3. <i>C. lazera</i> 'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7, 15 ve 30 Gün Sürelerle Eritrosit Sayısı (milyon/mm ³) Üzerine Etkileri	23
Şekil 4.4. <i>C. lazera</i> 'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30(c) Gün Sürelerle Kas Glikojen Düzeyi (mg/g y.a.) ve Serum Glikoz Düzeyi (mg/100ml) Üzerine Etkileri	26
Şekil 4.5. <i>C. lazera</i> 'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30(c) Gün Sürelerle Karaciğer Glikojen Düzeyi (mg/g y.a.) ve Serum Glikoz Düzeyi (mg/100ml) Üzerine Etkileri	28
Şekil 4.6. <i>C. lazera</i> 'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30(c) Gün Sürelerle Kas ve Karaciğer Glikojen Düzeyleri (mg/g y.a.) Üzerine Etkileri	30
Şekil 4.7. <i>C. lazera</i> 'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30 (c) Gün Sürelerle Kas ve Karaciğer Doku Protein Düzeyleri (mg/g y.a.) Üzerine Etkileri	33
Şekil 4.8. <i>C. lazera</i> 'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30(c) Gün Sürelerle Kas ve Karaciğer Doku Protein Düzeyleri (mg/g y.a.) ve Serum Total Protein Düzeyi (mg/100ml) Üzerine Etkileri	35

1.GİRİŞ

Tükenebilir enerji kaynaklarının yaygın kullanımı sonucu ortaya çıkan asit yağmurları, teknolojik gelişmeye paralel olarak metal hammaddeleri işleyen endüstriyel kuruluşların atıkları, tarımda verimi arttırmak ve zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasallar, nüfus artışı ile paralellik gösteren evsel atıklar, alıcı ortam olan hidrosferdeki ağır metallerin başlıca kaynağını oluşturur. Kadmiyum (Cd), cıva (Hg), krom (Cr), nikel (Ni) ve kurşun (Pb) gibi düşük derişimlerde toksik etkili ağır metallerle, bakır (Cu), çinko (Zn) ve demir (Fe) gibi eser elementlerin yüksek derişimler de belirtilen kaynaklardan sucul ortamlara katılımı, duyarlı türlerde toplu ölümlere neden olduğu gibi, hoşgörüsü yüksek türlerde metabolik bakımdan aktif doku ve organlarda birikime, besin zinciri aracılığı ile artan derişimlerde üst trofik düzeylere iletilmesine, çeşitli çevre ve sağlık sorunlarına neden olmaktadır [1, 2].

Bakır, düşük derişimlerde hayvansal organizmalar için gereksinim duyulan bir eser element olup, amin oksidaz, katalaz, seruloplazmin, sitokrom oksidaz, dopamin beta-hidroksilaz, ferro oksidaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz, tirozinaz ve ürikaz gibi yaklaşık 30 kadar enzim ve glikoprotein'in yapısal bileşiminde bulunur [3, 4]. Katalaz, peroksidaz ve sitokrom oksidaz gibi oksidatif enzimlerin bakır içermesi, metalin, hidrojen peroksit, organik madde yıkımı ve enerji üretimi ile ilişkili olduğunu gösterir [5]. Bakır aynı zamanda omurgalı hayvanlarda demirin sindirim sisteminden absorpsiyonunda, sinir sistemindeki miyelin kılıfın sürekliliğinde, beyin ve kemik doku oluşumunda da işlev görür. Bakır, eritrositlerde bulunan eritrokuprein'in de başlıca yapısal bileşeni olduğundan hemoglobin sentezi için de gereklidir.

Bakır, özellikle elektrik endüstrisinde, sucul ortamlarda algisid olarak istenmeyen vejetasyonun gelişimini kontrol etmede, boya ve kimya sanayinde fosfatlı gübre üretiminde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [6]. İnsan aktivitesine bağlı bu kaynaklarla, toz parçacıklarına adsorbe olarak rüzgarla taşınımı, vejetasyondaki çürüme ve orman yangınları gibi doğal olaylar da bakırın sucul ortamlara katılımını artırarak doğal düzeyinin (0.005 µmol/L) aşılmasına neden olur

[2, 7]. Bakırın sucul canlılar tarafından gereksinim duyulan düzeyde ortamdan alınımı ve depolanması iç homeostasi ile sağlanır. Ancak balıklarda atılım, depolama ve detoksifikasyon mekanizmaları, ağır metal alınımını karşılamadığı durumlarda dokularda birikime, hücresel veya moleküler düzeyde yapısal ve işlevsel bozukluklara neden olur [8].

Balıklar tarafından bakırın ortamdan alınımı, besin, solungaçlar ve tüm vücut yüzeyinden absorpsiyon yolu ile olmaktadır. Vücuda alınan metal, taşıyıcı proteinlere bağlanarak, kan yolu ile metabolik bakımdan aktif doku ve organlara taşınmakta ve metal bağlayıcı proteinlere bağlanarak alıkonması sonucu birikmekte ve yüksek derişimlere ulaşabilmektedir [9]. Bakırın düşük derişimlerinin uzun süreli etkisinde, karaciğer, solungaç, böbrek ve dalak gibi dokuların yanı sıra kas, beyin, ovaryum ve testis gibi dokularda da önemli düzeylerde biriktiği saptanmıştır [10].

Bakırın subletal derişimlerinin uzun süreli etkisi, doku ve organlarda birikimin yanı sıra anatomik, morfolojik, metabolik, fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda değişikliklere neden olur [11]. *Brachydanio rerio*'da kronik bakır etkisinin, rhombencephalik bölgeden anterior'e kadar olan kısımda helozonlaşmaya neden olurken [12], *Cyprinus carpio*'nun yumurtadan çıkan larvalarında üst çenenin gelişmesini engellediği belirlenmiştir [13]. Çeşitli balık türleri ile yapılan araştırmalarda bakır etkisinin, karaciğer hücrelerinde sitoplazmik vakuollerin sayısında artışa, lizozomal veziküllerde büyümeye, nükleusta şekilsel derişimlere, karaciğer hücrelerinin safra kanalına bakan mikrovilluslarında kısalmaya [14, 15], solungaç sekonder lamellerinde hipertropiye [11] neden olduğu belirlenmiştir. Balıklarda bakır etkisinin, mukus salgınını arttırdığı [16], solungaç yüzeyinin mukus ile kaplanması sonucu ortaya çıkan hipoksik koşulların, anaerobik metabolizmayı stimüle ettiği [15], endokrin sistem aracılığı ile karbonhidrat ve protein metabolizmalarını etkilediği ve lipid peroksidasyonunu arttırdığı saptanmıştır [17, 18].

Metal etkisinin başlangıcında balıklarda, yüzme performansında düşme, besin almama, yüzeye yönelme, fiziki etkilere duyarsızlık gibi çeşitli davranış

değişiklikleri gözlenmiştir [11]. Balıklarda bakırın belirtilen toksik etkilerinin yanı sıra, gelişmeyi yavaşlattığı [19], immün sistemi baskıladığı [13], testis ve ovaryumda eşey hücrelerinin sayısını azalttığı, olgunlaşmayı engelleyerek üreme başarısını düşürdüğü belirlenmiştir [20].

Balıklarda bakırın, açlık, yoğun stoklama ve üreme gibi stres faktörlerinin etkisinde gözlenen değişikliklere benzer değişikliklere neden olduğu saptanmıştır [17]. Toksik etki bakımından türler, aynı türe ait bireyler arasındaki farklılığın, metabolik ve fizyolojik olaylarla gelişmenin bireye bağlı olarak değişim göstermesinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir [5].

Karaciğer, metabolik olayların yanı sıra toksik etkili bileşiklerin detoksifikasyonunda işlev gören bir organdır. Ayrıca karaciğer, molekül ağırlığı düşük, sistein bakımından zengin, aromatik yapıdaki amino asitlerden yoksun ısıya karşı dirençli metal bağlayıcı bir protein olan metallothionein ile bir tripeptid olan glutatyon'un başlıca sentez yerlerinden biridir [21]. Aspartat aminotransferaz (AST) ve Alanin aminotransferaz (ALT) gibi protein metabolizması ile ilgili glukoneogenik enzimlerde karaciğer orijinelidir. Balıklarda ağır metal etkisinin, karaciğer doku hücrelerinde metallothioneinleri kodlayan geni aktive ederek sentezini arttırdığı saptanmıştır [22]. Normal koşullarda serumda düşük derişimlerde bulunan aminotransferazların, yoğun stoklama, hipoksik koşullar ve açlık gibi stres faktörlerinin [17] yanı sıra kadmiyum etkisinde de karaciğerdeki sentez ve salınımlarının arttığı belirlenmiştir [23]. Seruloplazmin ve albumin gibi serum proteinleri, ağır metallerin portal sisteme alınıp, karaciğere taşınmasında ve karaciğer taşıma kapasitesinin aşılması durumunda, metallerin diğer doku ve organlara taşınmasında işlev gören globular proteinlerdir [24]. Çeşitli balık türleri ile yapılan araştırmalarda, bakır etkisinde serum protein düzeyinin arttığı belirlenmiştir [25, 26].

Balıklarda karbonhidratların yanı sıra doku proteinleri de önemli bir enerji kaynağıdır [27]. Kas dokusu, metal birikimi bakımından etkin bir doku olmamasına karşın [28], stres koşulları ile detoksifikasyon olaylarında artan enerji gereksinimi, glukoneogenik enzimlerin aktivasyonu ile genellikle kas dokusunun yıkımından

sağlanır. *C. carpio*'da bakır ve çinko etkisi, karaciğer total protein düzeyini arttırırken, kas dokusu total protein düzeyini azalttığı belirlenmiştir [29]. Doku proteinlerinin enerji üretimi ve metal detoksifikasyonun yanı sıra metal etkisinde kalitatif ve kantitatif değişim göstermeleri, toksisite sırasında metabolik olaylardaki değişiklikleri yansıtması bakımından oldukça önemlidir.

Glikoz, omurgalı hayvanlarda başlıca yüksek enerjili bileşik olup, fazlası kas ve karaciğer de glikojen formunda depo edilirken, serumdaki düzeyi endokrin sistem aracılığı ile kontrol edilmektedir [30]. Balıklarda ağır metallerin karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri daha çok indirekt olmakta ve bu etkide adrenokortikotropik, kortikostreoid ve katekolamin gibi hormonlar aracılık etmektedir [31]. *Heteropneustes fossilis*'de kadmiyum etkisinin insülin hormonu ile antagonist etkili katekolamin ve kortikostreoid hormonlarının salınımını arttırdığı, glikojenin glikoza dönüşümünde işlev gören enzimlerin aktivasyonu sonucu kas ve karaciğer glikojen derişimini düşürürken serum glikoz düzeyini arttırdığı belirlenmiştir [32].

Balıklarda ağır metaller toksik etkinin yanı sıra strese de neden olduğundan detoksifikasyon olaylarında ve stres koşullarında artan enerji gereksinimi, glikozun yanı sıra kas ve karaciğer glikojeninin mobilizasyonundan sağlanmaktadır [33]. Enerji gereksiniminin uzun süreli olması durumunda glikoz ve glikojen stokları protein ve lipid gibi enerjice zengin yakıtların yıkımı ile korunur [34]. Ağır metal etkisinde serum glikoz ve doku glikojen düzeyindeki değişimlerin incelenmesi, balığın fizyolojik ve enerjistik durumunun belirlenmesi bakımından oldukça önemlidir.

Hayvansal organizmalarda beslenme, metabolizma ve solunum gibi yaşamsal olaylar, çevre koşulları ile yakından ilişkilidir. Yaşam ortamlarının özelliği nedeniyle balık ve diğer sucul organizmalarda vücut sıvıları, doğrudan ortam koşulları etkisinde olduğundan canlılığın devamı için iç ortamın değişmez tutulması oldukça önemlidir. İç ortamın değişmez tutulmasında, serumda bulunan Na^+ , K^+ ve Cl^- iyonları işlev görmekte olup, bu elektrolitler ozmotik dengenin yanı sıra vucüt

sıvılarının pH'nı ve kan basıncını düzenlerken, impuls iletimindeki depolarizasyondan da sorumludur [35].

Salmo gairdneri de kadmiyum [36], *Tilapia zilli* de bakır ve kurşun etkisinin [37] solungaç epitelinde Na⁺ - K⁺ ATPaz aktivitesini inhibe ederek aktif iyon transportunu engellediği ve hipertropiye neden olduğu saptanmıştır. Ayrıca çeşitli balık türlerinde ağır metal etkisinin, membran permeabilitesini etkileyerek serum elektrolit düzeyini değiştirdiği belirlenmiştir [38, 39]. Bakır etkisinde serum Na⁺, K⁺ ve Cl⁻ düzeylerindeki değişimler solungaç, karaciğer, böbrek ve kas dokusu gibi çeşitli dokuların yapı ve işlevlerindeki bozukluğu ve iç ortamdaki değişiklikleri yansıtması bakımından oldukça önemlidir.

Balıklarda eritrositler, lökositlerle aynı büyüklükte olup, dokulara oksijen taşınmasında işlev gören hemoglobin içerikli kan hücreleridir. Hacimsel olarak büyük, çekirdekli olması ve böbrek ile dalakta yeralan hematopoietik dokularda üretilmesiyle insan eritrositlerinden farklılık gösterir [1]. Hematokrit yüzdesi, eritrosit sayısı ve hemoglobin düzeyinin yanı sıra eritrosit indeksinin bir parametresi olup, kanda bulunan eritrosit hacminin yüzdesi olarak belirtilir. Dehidratasyon, beslenme, eritrosit sentezi ve membran permeabilitesindeki değişimler, hematokrit düzeyinde değişikliklere neden olur [1]. Çeşitli balık türleri ile yapılan araştırmalarda, eritrosit sayısı ve hematokrit düzeyinin türe, metale, ortam derişimine ve etkide kalma süresine bağlı olarak değişim gösterdiği saptanmıştır [31, 40, 41]. Balıklarda ağır metal etkisinde, eritrosit sayısı ve hematokrit düzeyindeki değişimlerin incelenmesi, dolaşım ve solunum sistemindeki semptomların saptanması bakımından önem taşımaktadır.

Siluridae familyasına ait bir tür olan *Clarias lazera*, ülkemizde özellikle Akdeniz bölgesindeki akarsularda ve drenaj kanallarında yaygın olarak bulunmaktadır. Yaşam alanlarının, ağır metal yükü fazla tarımsal ve endüstriyel atıkların doğrudan etkisi altında olması, çevre koşullarındaki ekstrem değişimler ve kirleticilere karşı dirençliliğinin yanı sıra, protein kaynağı olarak yaygın bir şekilde

tüketimi halk ve çevre sağlığını yakından ilgilendirmesi, bu araştırmada *C. lazera*'nın materyal olarak kullanılmasının başlıca nedenlerini oluşturur.

Ağır metal etkisinde, sucul ekosistemlerdeki besin zincirinin önemli bir halkasını oluşturan ve besin kaynağı olarak tüketilen balıkların biyokimyasal parametrelerindeki değişimler, balığın fizyolojik durumu ile ortamdaki kirlilik düzeyini yansıtacağından, bu araştırmada 7, 15 ve 30 gün sürelerle, bakırın 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm'lik ortam derişimlerinin etkisinde bırakılan *C. lazera*'nın, kas ve karaciğer dokularındaki nicel protein, glikojen düzeyleri ile bazı kan parametrelerindeki değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Çevre kirliliği son dönemlerde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için büyük bir problem haline gelmiştir. Ağır metaller, insan aktivitesine dayalı tarımsal, endüstriyel, madencilik ve evsel atıkların yanı sıra asit yağmurlarıyla karasal ortamlardan sucul ortamlara katılarak doğal düzeylerinin aşılmasına ve pek çok ekolojik değişime neden olmaktadır [5, 14, 42].

Akuatik ekosistemlerde, ortam derişimi artan ağır metaller, duyarlı türlerde yaşam ortamlarını terk etmelerine yada tamamen ortadan kalkmalarına neden olduğu gibi toleransı yüksek olan türlerde birikime, fizyolojik, biyokimyasal olaylarla davranışlarda değişikliklere, besin zinciri aracılığı ile üst trofik düzeylere artan oranlarda iletilmesine neden olmaktadır [26].

Bakır biyotik derişimlerde, omurgalı hayvanlarda çeşitli fizyolojik, biyokimyasal olaylarda önemli işlevleri olan [24, 43] eser bir element olmasına karşılık gereksinim duyulan düzeylerinin aşılması toksik etkiler yaratmaktadır [44]. Balıklarda bakır toksisitesinin, metalin ortam derişimine, etkide kalma süresine, türe, türün yaşam evresine, alımın yoluna ve suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak değişim gösterdiği belirlenmiştir [45, 46].

Labeo rohita [47], Channa punctatus ve Mystus vittatus [48] ile yapılan araştırmalarda, bakır etkisinde yüzme hareketlerinde koordinasyon bozukluğu, besin almama, operkulum hareketlerinde artış gibi davranış değişiklikleri ile Oreochromis mossambicus [30]'da solungaç ve vücut yüzeyinin mukusla kaplandığı gözlenmiştir.

Ağır metallerin yüksek derişimlerinin akut ve düşük derişimlerinin kronik etkisi, davranış değişikliklerinin yanı sıra doku ve organlarda birikime, sitolojik, histolojik ve morfolojik değişikliklere neden olur.

Çeşitli balık türleri ile yapılan araştırmalarda, bakırın düşük derişimlerinin uzun süreli etkisinde solungaç, karaciğer, dalak ve böbrek gibi metabolik aktivitesi yüksek

organlarda birikirken, kas, beyin, testis ve gonadlarda da düşük derişimlerde biriktiği belirlenmiştir [9, 11].

C. punctatus'da bakırın düşük derişimlerinin uzun süreli etkisinin karaciğer hücrelerinin agranüler endoplazmik retikulumlarında şişmeye, mitokondrilerin sayısında azalma gibi değişikliklere neden olduğu saptanmıştır [49].

Bakır etkisinde solungaçlardaki yapısal deformasyonların, *Salmo trutta*' da O₂ transferini engellediği [50], *Salvelinus fontinalis* [51], *Ictalurus nebulosus* [52], *Lepomis macrochirus* [53], *O. mossambicus* [54] ve *Prochilodus scorfa* [55]'da yapısal deformasyona bağlı olarak iyon regülasyonunun bozulduğu belirlenmiştir.

Ağır metal etkisi balıklarda belirtilen değişikliklerin dışında metabolik, fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda da değişikliğe neden olur. Balıklarda açlık, yoğun stoklama, oksijen derişiminde düşme, üreme ve hipoksia gibi stres faktörlerinin yanı sıra ağır metal etkisi de strese neden olmaktadır [56, 57].

Çeşitli balık türleri ile yapılan araştırmalarda, stres koşullarının serum glikoz ve kortizol düzeyini arttırdığı, şartların devamı durumunda karaciğer glikojen düzeyini önemli ölçüde düşürerek karbonhidrat metabolizmasında değişikliklere neden olduğu saptanmıştır [30, 58].

O. mossambicus [59] ve *Oreochromis niloticus* [60]'da subletal derişimlerde kronik bakır etkisinin kas ve karaciğer glikojen düzeyini düşürdüğu, *C. carpio*'da bakır dışında civa, krom ve nikel etkisinin de karbonhidrat metabolizmasının yanı sıra protein metabolizmasında önemli düzeyde değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir [61].

H. fossilis ile yapılan bir araştırmada, düşük derişimlerdeki bakırın uzun süreli etkisinin kas ve karaciğer dokularında glikojen düzeyi ile birlikte total protein düzeyini düşürdüğu saptanmıştır [62].

L. rohita'da bakırın letal derişimlerinin 3 gün süreyle etkisi, kas, karaciğer, beyin ve solungaç dokularında glukoz-6-fosfat dehidrojenaz aktivitesini düşürürken, laktat dehidrojenaz aktivitesini önemli oranda arttırmıştır [47].

Scyliorhinus canicula'da kronik bakır etkisi doku ve organların protein düzeyinde herhangi bir değişime neden olmazken [63], *Clarias batrachus*' da bakır dışında kadmiyum ve krom katyonlarının da karaciğer, böbrek, testis ve ovaryum dokularının total protein düzeylerini arttırdığı, kas dokusunun total protein düzeyini ise azalttığı, belirtilen parametre üzerine kadmiyumun diğer katyonlardan daha toksik olduğu belirlenmiştir [64].

Ağır metal etkisinde doku total protein düzeyindeki değişikliklerle birlikte *C. carpio*' da bakır, çinko, manganez ve kobalt etkisi, derişime bağlı olarak doku ve organlarda metal birikimine neden olurken, en fazla birikimin karaciğer de olduğu ve birikime bağlı olarak karaciğerde albumin sentezinin arttığı saptanmıştır [26].

Ağır metal etkisi, balıkların dokularındaki biyokimyasal parametrelerle birlikte kan parametrelerinde de değişime neden olur [1]. Balıklarda bakırın kan parametreleri üzerine direkt etkileri daha çok eritrositlerin parçalanmasında artış ya da hemopoetik sistemin zarar görmesi şeklinde kendini göstermektedir [65].

Onchorhynchus mykiss' de bakırın yüksek derişimlerinin kısa süreli etkisi kandaki Na^+ ve Cl^- iyonlarının derişiminde düşmeye neden olurken [66], *Tilapia nilotica*'da farklı ortam derişimlerindeki kadmiyum etkisinin serum Na^+ düzeyini arttırdığı, K^+ düzeyini ise düşürdüğü saptanmıştır [67].

O. mykiss'de bakırın 26,9 $\mu\text{g} / \text{L}$ 'lik ortam derişiminin 3 gün süreyle etkisi, hematokrit düzeyi ile hemoglobin, serum glikoz ve kortizol derişimlerini istatistiksel bakımdan önemli düzeyde artırırken, serum total protein ve laktat düzeylerinde herhangi bir değişime neden olmamıştır [46]. *O. mykiss*'in ergin ve juvenilleri ile yapılan bir araştırmada, subletal Cd derişimlerinin 30 gün süreyle etkisinin serum

total protein düzeyinde kontrole göre önemli bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir [68].

S. gairdneri [42], *I. nebulosus* [52], *O. mykiss* [69] ve *H. fossilis* [70] ile yapılan araştırmalarda, uzun süreli bakır etkisinin deney süresinin başlangıcında serum glikoz ve kortizol düzeylerini arttırarak hiperglisemiye neden olduğu saptanmıştır. *Anguilla rostrata*' da Cd' un doğal ortamdaki derişime yakın derişimlerinin 15 gün süreyle etkisinin, serum glikoz ve kortizol düzeylerini arttırdığı, ancak etkide kalma süresinin uzaması ile serum glikoz derişiminin kontrol düzeyine düştüğünü belirlemişlerdir [71].

C. carpio'da bakır ve çinko karışımının etkisi serum Cl^- ve Ca^{+} düzeylerini arttırırken, serum glikoz, kolesterol ve total protein derişimlerini önemli ölçüde düşmüştür [41]. *P. scrofa* ile yapılan bir araştırmada, bakırın yüksek derişimlerinin 96 saat süreyle etkisinin, hematokrit düzeyi, eritrosit sayısı ve hemoglobin derişimini önemli düzeyde arttırdığı, serum Na^{+} ve Cl^- düzeylerini azaltırken, K^{+} düzeyini arttırdığı belirlenmiş ve bu derişimlerin, metal etkisinde hemoglobin sentezindeki artış ile membran permeabilitesinin etkilenmesine bağlı iyon regülasyonundaki bozukluktan kaynaklanabileceği belirtilmiştir [72].

P. scrofa juvenillerinde bakırın 25 ve 29 ppb'lik ortam derişimlerinin etkisi, hematokrit düzeyi ile eritrosit sayısını istatistiksel bakımdan önemli düzeyde arttırırken, serum Na^{+} ve Cl^- düzeylerini azalttığı, serum K^{+} düzeyinin ise bakırın sadece yüksek derişimlerinin etkisinde artış gösterdiği saptanmıştır [55].

Ağır metallerin kan parametreleri üzerine etkileri türe ve metale bağlı olarak derişim gösterir. *S. canicula*'da kadmiyumun düşük derişimlerinin 24 saat süreyle etkisi, hematokrit düzeyini düşürürken, eritrosit sayısında her hangi bir derişime neden olmamıştır [31]. Bir yıllık *S. fontinalis* ile yapılan bir araştırmada bakırın düşük derişimlerinin 6, 21 ve 337 gün sürelerle kan parametreleri üzerine etkisi incelenmiş, hematokrit düzeyinin sadece 6 gün süreyle bakır etkisinde kalan balıklarda arttığı belirlenmiştir [51].

Bakırın subletal derişimlerinin 30 gün süreyle etkisi *C. carpio*' da lökosit sayısını arttırırken, eritrosit sayısı, hemoglobin ve hematokrit düzeylerini düşürmüştür [41]. Çinko etkisine bırakılan *C. lazera* ve *T. zilli*'nin eritrosit sayısı, hematokrit düzeyi ve hemoglobin derişimi de kontrol grubuna oranla önemli farklılık göstermiştir [40].

C. carpio' da kronik bakır etkisinin solungaç yapısında bozulmaya, doku ve organlarda anaerobik metabolizmanın stimülasyonuna, $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATP az aktivitesinde düşmeye neden olduğu kortizol enjeksiyonu ile $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATP az aktivitesindeki inhibisyonun ortadan kalktığı saptanmıştır [73].

Bakırın subletal derişimlerinin *O. mossambicus*'da 72, 120 ve 168 saat sürelerle etkisi, hemoglobin ve hematokrit düzeylerinde önemli ölçüde artışa neden olmuştur [74].

3. MATERYAL ve METOT

Araştırmada materyal olarak Siluridae familyasına ait bir tür olan *C. lazera* (Valenciennes, 1840) kullanılmıştır. Balıklar Mersin ili, Silifke ilçesinde yer alan özel sektöre ait yetiştirme havuzlarından sağlanarak, deneylerin yürütüldüğü Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Araştırma Laboratuvarına getirilmiş ve her biri 40x100x40 cm boyutlarındaki 15 adet stok cam akvaryum içerisinde 30 gün süre ile bekletilerek laboratuvar koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu uyum sürecinde ilk iki günden sonra balıklar, günde iki kez akvaryumdaki toplam biyomasın %2 si kadar hazır balık yemi (Pınar, Çipura yemi, Pelet no: 2) ile beslenmiştir. Kullanılan balık yeminin ölçülebilir düzeyde bakır (<0.01µg/g) içermediği saptanmıştır. Stok akvaryumlarda havalandırma merkezi havalandırma sistemi ile sağlanmış ve araştırmada 25.00 ± 0.5 cm boy ve 100.62 ± 4.50 g. ağırlığa sahip balıklar kullanılmıştır.

Deneylerin yürütüldüğü laboratuvar ve stok akvaryumlardaki ortamın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 3.1’de gösterildiği şekilde belirlenmiştir.

Çizelge 3.1. Deney Akvaryumlarında, Ortamın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.

Aydınlatma (Lab.)	12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık
Sıcaklık (Lab.)	25 ± 1° C
Sıcaklık (Akvaryum ort.)	23 ± 1° C
Total Sertlik (Akvaryum ort.)	230 ± 0.75 ppm CaCO ₃
Total Alkalinite (Akvaryum ort.)	326 ± 0.50 ppm CaCO ₃
pH (Akvaryum ort.)	7.40 ± 0.20
Çözünmüş Oksijen (Akvaryum ort.)	6.4 ±0.70 mg/l
Bakır (Cu) Derişimi (Akvaryum ort.)	< 0.01 mg/l

C. lazera’da bakırın, kas ve karaciğer dokularındaki protein ve glikojen düzeyleri ile bazı kan parametreleri üzerine etkileri, 0.10, 0.50 ve 1.00 ppm’lik ortam derişimlerinde 7, 15 ve 30 günlük etki süreleri sonunda belirlenmiştir.

Deneyle, belirlenen süreler dikkate alınarak üç seri halinde yürütölmüş ve her seride, stok akvaryumlarla aynı boyutta toplam 4 adet cam akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumlardan ilk üçüne literatür bilgisi ve laboratuvarıda yapılan ön çalışmaları sonucunda *C. lazera* için 30 günlük periyotta letal olmadığı belirlenmiş 120 şer L. sırasıyla 0.10, 0.50 ve 1.00 ppm derişimlerdeki bakır çözeltilisi konmuştur. Dördüncü akvaryuma ise aynı hacimde ölçülebilir düzeyde (<0.01 ppm) bakır içermeyen dinlenmiş su konarak kontrol grubu olarak incelenmiştir. Deneyle, her tekrarda iki balık olacak şekilde 3 tekrarlı olarak planlandığından deney ve kontrol akvaryumlarının her birine, anılan boy ve ağırlıkta toplam 6 balık konmuş, bir seride 24 adet, tüm deneylelerde ise 72 adet balık kullanılmıştır.

Araştırmada kullanılan bakır çözeltilisinin hazırlanmasında, bakırın suda çözünebilen 5 sulu sülfat tuzu ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; Merck) kullanılmıştır. Metalin presipitasyonunu engellemek amacıyla stok çözeltili olarak kullanılan bakır-sodyum sitrat, bakır sülfata ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; Merck), trisodyum sitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 5,5 \text{H}_2\text{O}$; Merck) eklenerek hazırlanmıştır [21, 75].

Akvaryum ortamında presipitasyon, evaporasyon adsorbsiyon gibi nedenlerle deney çözeltilerinin derişiminde zaman içerisinde değişimler meydana gelebileceğinden, deney çözeltileri her iki güne bir stok çözeltiliden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiş ve ortam yenilenmiştir [21, 76].

İncelenen biyokimyasal parametreler, strese bağlı olarak da çok çabuk değişim gösterdiğinden, belirlenen süreler sonunda balıkların akvaryumlardan çıkartılması ve örnekleme sırasında oluşabilecek stres koşullarını minimum düzeye indirmek amacıyla balıklar, Etilen Glikol Monofenil Eter (=Fenoksietanol; $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$; Merck) anesteziği ile bayıltılmıştır. Çeşme suyu ile yıkanıp, kurutma kağıdı ile kurularan balıklar, örneklemeye hazır hale getirilmiştir.

Serum glikoz, total protein, hematokrit ve elektrolit düzeyleri ile eritrosit sayısının belirlenmesinde kullanılacak kan örnekleri, deneklerin kaudal pedinkülü'nün dikey doğrultuda kesilmesi sonucu meydana gelen akış ile

sağlanmıştır. Serum glikoz, total protein ve elektrolit düzeyleri belirlenecek kan örnekleri, doğrudan içerisinde herhangi bir antikoagülant bulunmayan santrifüj tüplerine alınarak, 3500 dev/dak da 5 dakika süreyle santrifüj edilmiş (Hettich; Universal-EBA 12) ve analizlerin yapılacağı serumun üst faza geçmesi sağlanmıştır. Eritrosit sayısının belirlenmesinde kullanılacak kan örnekleri EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit)'lı tüplere alınırken, hematokrit analizinde kullanılacak örnekler doğrudan doğruya heparinli kılcal hematokrit pipetlerine alınmış ve uçları kapatılmıştır.

Kan örneklemeleri yapılan balıklardan, kas ve karaciğer dokuları ayrı ayrı disekte edilerek, her bir doku iki kısma ayrılmış ve doku total protein ve glikojen düzeylerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Serum örneklerindeki sodyum, potasyum ve klorür düzeyleri, ME.Ü. Tıp Fakültesi Araştırma Hastahanesi Biyokimya Anabilim Dalında Cobass İntegra 600/700/800 otoanalizatörü ile enstrümental olarak belirlenmiştir.

Serum glikoz düzeyi O-Toluidin yöntemine göre belirlenmiştir [77]. Bu amaçla serum örneklerinden 50 µl alınarak, deney tüplerine aktarılmış ve üzerlerine 3.5 ml O-Toluidin ayırıcı eklenerek, kaynar su banyosunda 10 dakika süreyle bekletilmiştir. Bu süre sonunda tüpler kaynar su banyosundan çıkartılarak soğutulmuş ve örneklerdeki glikoz absorbans değerleri spektrofotometre'de 635 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Örneklerin içerdiği glikoz derişimi absorbans değerlerinin glikoz standardı hazırlanarak elde edilen regrasyon fomülünde yerine konulmasıyla elde edilmiştir.

Glikoz için bu eşitlik $Y=0,158X + 0,002$ olarak bulunmuştur.

Serum total protein derişimini belirlemek amacıyla, serum örneklerinden santrifüj tüplerine 50µl konarak üzerlerine 1 ml Bloor's ayırıcı eklenmiş ve 3500 dev./dak'da 10 dakika santrifüjlenerek serum proteinleri çöktürülmüştür. Presipite kısımdaki total protein derişimi "Kantitatif Biüret Testi" ile belirlenmiştir [77]. Bu

amaçla santrifüj tüplerindeki çökelti üzerine 3 ml Biüret ayırıcı eklenerek oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Daha sonra çökeltinin çözünerek, oluşan menekşe renginin stabilizasyonunu sağlamak amacıyla örnekler, 30 dakika süreyle 37 °C'ye ayarlı sıcak su banyosuna alınmıştır. Bu süre sonunda örnekler spektrofotometre tüplerine aktarılarak total protein absorbans değerleri, spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Örneklerin içerdiği serum total protein derişimi, absorbans değerlerinin sığır serum albumini ile hazırlanan standarttan elde edilen regrasyon formülünde yerine konulmasıyla elde edilmiştir.

Serum Total Protein için bu eşitlik $Y= 0,081X + 0,008$ olarak bulunmuştur.

Hematokrit düzeyi belirlenecek kan örneklerini içeren, bir ucu kapalı kılcal hematokrit pipetleri, mikrohematokrit santrifüjüne (Nüve, NT 715 / 04-3272) sıra ile yerleştirilmiş ve 10.000 rpm devirde 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Bu süre sonunda hematokrit pipetindeki kan örnekleri, şekilli elemanlar ve serum olmak üzere iki faza ayrılmıştır. Hematokrit pipetlerindeki çökeltinin seruma oranı hematokrit skalasında değerlendirilerek % olarak belirlenmiştir.

Kan örneklerinde eritrosit hücrelerinin sayısının belirlenmesinde Thoma Lamı kullanılmıştır. Bu amaçla eritrosit pipetinin 1 rakamlı çizgisine kadar kan örneği 101 rakamlı çizgisine kadar da Dacie's Sıvısı çekilmiştir [78]. Bu şekilde 1/100 oranında sulandırılan kan örnekleri, pipet ucundaki ilk bir iki damla uzaklaştırıldıktan sonra Thoma lamına alınmış ve ışık mikroskobunun x40 büyütmesinde incelenmiştir. Thoma lamında, her bir köşe ve ortadaki 16'lık 5 kare toplamda 80 küçük kare taranmış ve kandaki eritrosit sayısının belirlenmesinde aşağıdaki formül kullanılmıştır.

Bulunan Hücre Sayısı x Sulandırma Oranı x 4000

Sayılan Küçük Kare Adedi

Elde edilen verilerin formülde yerine konması sonucu, 1 mm^3 kandaki eritrosit sayısı saptanmıştır [79, 80].

Dacie's Sıvısı 10 ml formaldehit, 31,3 g trisodyumsitrat, 1,0 g brillant cresyl blue tartılarak toplam hacim 1L'ye tamamlanmış daha sonra 40 no'lu whatman kağıdından filtre edilmiştir. Çözelti, her analiz için taze olarak hazırlanmış ve koyu renkli cam şişelerde korunmuştur.

Total protein düzeyi belirlenecek olan kas ve karaciğer doku örnekleri yaş ağırlıkları saptandıktan sonra, 0,3 M sükröz (Merck) çözeltisi içerisinde 24000 devir/dakika'da Ultra-Turrax T-25 homojenizatör ile 5 dakika homojenize edilmiştir. Daha sonra homojenizasyonu bozan partikülleri ortamdan uzaklaştırmak amacıyla, homojenatlar 10 dakika süreyle 2000 devir/ dakika'da santrifüjlenmiştir (Hettich; Universal-EBA 12). Homojenatlardaki total protein derişimleri Lowry yöntemine göre belirlenmiştir [77]. Bu amaçla homojenattan 0.3 ml alınarak deney tüplerine aktarılmış ve üzerlerine 3 ml alkali çözelti eklenerek oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda deney tüplerine 0.3 ml Folin-Ciocalteu Fenol ayracından (Sigma, 2N, 9252) eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika süre ile bekletilmiş daha sonra örneklerdeki total protein absorbans değerleri spektrofotometrede (Shimadzu, 1208) 750 nm dalga boyunda saptanmıştır. Örneklerin protein derişimi, absorbans değerlerinin sığır serum albumini ile hazırlanan standarttan elde edilen regrasyon fomülünde yerine konulmasıyla belirlenmiştir.

Doku protein için bu eşitlik $Y = 0,76X + 0,104$ olarak bulunmuştur.

Glikojen derişimleri belirlenecek olan karaciğer ve kas dokuları, yaş ağırlıkları saptandıktan sonra, üzerlerine 3 ml %30'luk KOH çözeltisi eklenerek kaynarsu banyosunda 20 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda örneklerin üzerine 0.5 ml doygun Na_2SO_4 ile 3 ml %95'lik alkol eklenerek 15 dakika kaynatılmıştır. Daha sonra örnekler 10 dakika süreyle 3500 devir /dakika'da santrifüjlenerek süpernatant kısım atılmıştır.

Tüplerdeki presipite kısım 2 ml distile su içerisinde çözülerek üzerine 2.5 ml %95'lik etil alkol eklenmiş ve 10 dakika süreyle 3500 devir/dakika' da

santrifüjlenerek süpernetant kısım atılmıştır. Bu şekilde protein ve lipidden arındırılan çökelti, 2 ml 5M HCl içerisinde çözülerek 0.5 M NaOH ile nötralize edilmiş ve distile su ile 50 ml'ye seyreltilerek analize hazır hale getirilmiştir [21, 77]. Belirlenen şekilde işlemde geçirilen örneklerdeki glikojen derişimleri, Antron yöntemine göre belirlenmiştir [81]. Bu amaçla örnek çözeltiliden 5 ml alınarak deney tüpüne aktarılmış, üzerine 10 ml antron ayracı eklenerek kaynar su banyosunda 10 dakika süreyle bekletilmiştir. Soğutulan örneklerin glikojen absorbans ölçümleri spektrofotometrede 620 nm dalga boyunda yapılmıştır.

Glikojen absorbans değerlerinin derişime dönüştürülmesinde glikoz standardı ile elde edilen regrasyon formülü kullanılmıştır.

Glikoz için bu eşitlik $Y=1,683X + 0,006$ olarak belirlenmiştir.

Bütün eşitliklerde “X” harfi derişimi, “Y” ise absorbansı göstermektedir.

Deney verilerinin istatistik değerlendirilmesi “Regresyon Analizi” ve “Student-Newman Keul’s Test (SNK)” testleri uygulanarak yapılmıştır [82, 83].

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. BULGULAR

C. lazera ile yapılan bu araştırmada, bakırın belirlenen ortam derişimlerinin 7, 15 ve 30 gün sürelerle etkisi, balıklarda mortaliteye neden olmamıştır.

Metal etkisinin başlangıcında balıklarda, yüzme performanslarında düşme, hareketlerde koordinasyon bozukluğu, besin almama, akvaryum yüzeyine yönelme, operkulum hareketlerinde artış ve fiziki tepkilere karşı duyarsızlık gibi davranış değişiklikleriyle, yüzgeçlerde kanlanma, solungaç ve vücut yüzeyinin mukusla kaplandığı gözlenirken, etkide kalma süresinin uzamasıyla değişikliklerinin normale döndüğü gözlenmiştir.

Belirlenen sürelerde deneylerden çıkartılan balıkların boy ve ağırlıkları belirlenmiş, metal etkisinin balıkların deneye başlamadan önceki boy ve vücut ağırlığında önemli düzeyde bir değişime neden olmadığı saptanmıştır.

C. lazera'da bakırın 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm ortam derişimlerinin, 7, 15 ve 30 gün süreyle etkisinde üç tekrarlı olarak belirlenen serum sodyum, potasyum ve klorür düzeylerine ait verilerin aritmetik ortalamaları ile istatistik analiz sonuçları sırasıyla Çizelge 4.1-4.3'de gösterilmiştir.

Bakırın 1.0 ppm dışında incelenen ortam derişimlerinin 7 gün süreyle etkisi, kontrole oranla serum klorür düzeyinde, istatistiksel bakımından önemli değişikliğe neden olmazken ($P>0.05$), etkide kalma süresindeki artış, serum klorür düzeyini kontrole göre arttırmıştır ($P<0.05$). Belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresindeki artış, incelenen tüm bakır derişimlerinde serum klorür düzeyini arttırmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. *C. lazera*'da Serum Klorür Düzeyi (mmol/L) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri

Derişim ppm (Cu)	SÜRE					
	7. Gün		15.Gün		30.Gün	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0,0	113,75 ± 0,62	as	114,60 ± 0,70	as	113,90 ± 0,10	as
0,1	117,75 ± 1,49	as	120,20 ± 0,85	bt	124,86 ± 1,13	bx
0,5	113,66 ± 0,88	as	122,76 ± 0,37	ct	126,33 ± 0,18	bx
1,0	96,00 ± 5,73	bs	115,60 ± 0,87	at	124,85 ± 0,65	bx

*SNK; a, b ve c harfleri derişimler, s, t ve x harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

X± sx : Aritmetik ortalama± Standart hata

Belirlenen sürelerde, bakırın incelenen ortam derişimlerinin hepsi, serum sodyum düzeyini kontrole göre düşürmüştür (P<0.05). Bakırın 0.1 ve 0.5 ppm'lik ortam derişimleri, 7, 15 ve 30 günlük sürelerde sodyum düzeyinde önemli bir değişime neden olmazken (P>0.05), 1.0 ppm lik ortam derişiminin etkisi, süreye bağlı olarak serum sodyum düzeyini arttırmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. *C. lazera*'da Serum Sodyum Düzeyi (mmol/L) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri

Derişim ppm (Cu)	SÜRE					
	7. Gün		15.Gün		30.Gün	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0,0	143,00 ± 0,57	as	141,12 ± 0,87	as	142,75 ± 0,05	as
0,1	136,75 ± 1,70	bs	138,27 ± 0,65	bs	139,25 ± 0,75	bs
0,5	136,25 ± 1,10	bs	134,30 ± 0,56	cs	136,03 ± 0,57	bs
1,0	116,50 ± 1,50	cs	130,16 ± 1,16	dt	137,70 ± 0,55	bx

*SNK; a, b, c ve d harfleri derişimler, s, t ve x harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

X± sx : Aritmetik ortalama± Standart hata

C. lazera'da bakırın 7. günde 1.0 ppm, 30. günde belirlenen tüm derişimleri serum potasyum düzeyini kontrole göre istatistiksel bakımdan önemli düzeyde arttırırken (P<0.05), 15. günde ortam derişimindeki artış, potasyum düzeyini düşürmüştür (Çizelge 4.3).

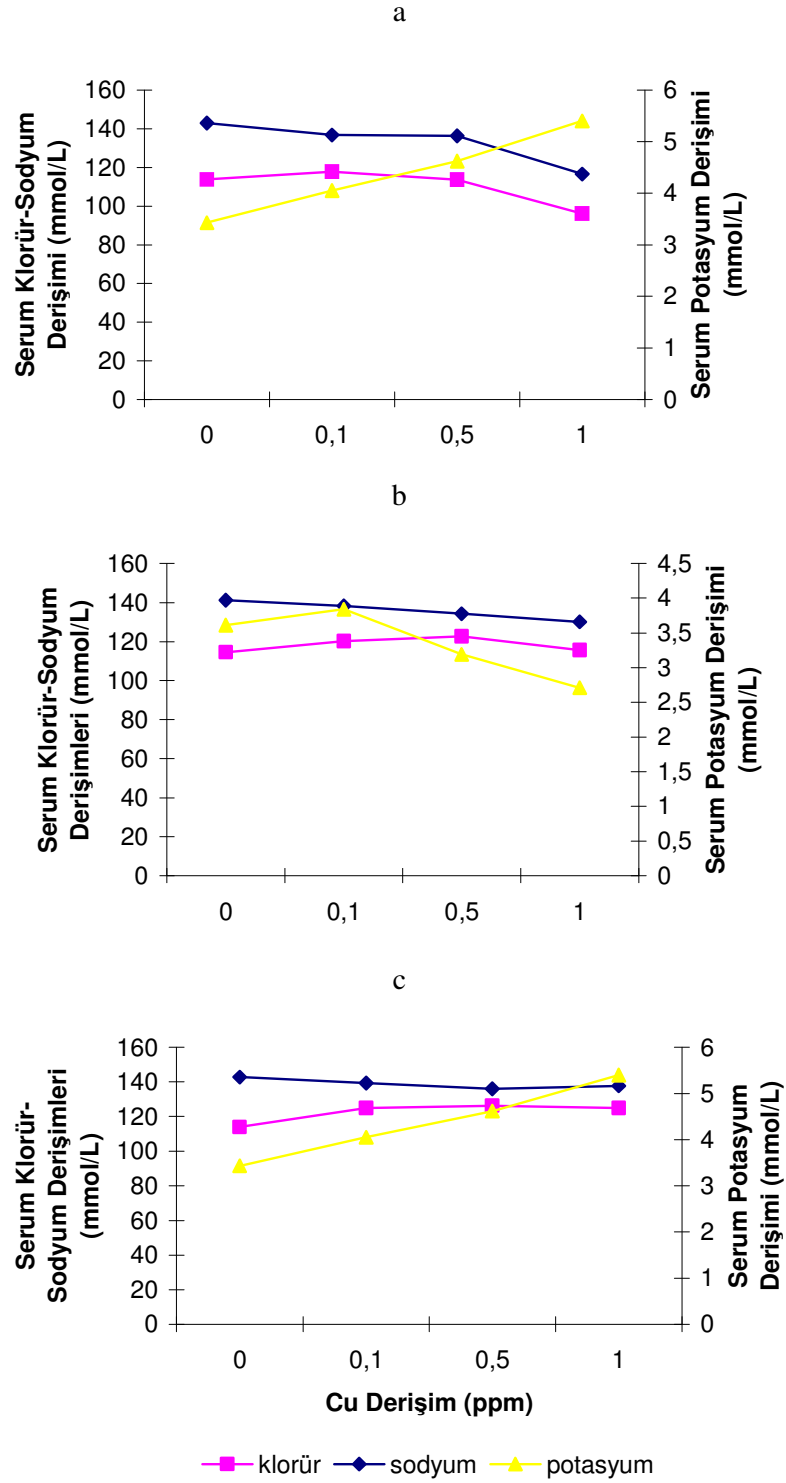
Çizelge 4.3. *C. lazera*'da Serum Potasyum Düzeyi (mmol/L) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri

Derişim ppm (Cu)	SÜRE					
	7. Gün		15.Gün		30.Gün	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0,0	3,36 ± 0,05	as	3,61 ± 0,05	as	3,43 ± 0,09	as
0,1	3,39 ± 0,06	as	3,84 ± 0,09	at	4,05 ± 0,15	bt
0,5	3,35 ± 0,21	as	3,19 ± 0,05	bs	4,62 ± 0,07	ct
1,0	4,56 ± 0,18	bs	2,71 ± 0,08	ct	5,40 ± 0,02	dx

*SNK; a, b, c ve d harfleri derişimler, s, t ve x harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

X± sx : Aritmetik ortalama± Standart hata

C. lazera'da bakırın, serum klorür, sodyum ve potasyum düzeyleri üzerine etkileri, karşılaştırmalı olarak Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Bakırın 1.0 ppm'lik ortam derişiminin 7 ve 30 gün süreyle etkisi, serum potasyum düzeyini arttırırken, serum sodyum ve klorür düzeylerini düşürmüştür. 15. gün dışında serum potasyum düzeyi, bakır derişimine bağli olarak lineer artmıştır. Tüm elektrolit düzeylerindeki azalma ise 15. günde paralellik göstermiştir.



Şekil 4.1. *C. lazera*'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30(c) Gün Sürelerle Serum Klorür, Sodyum ve Potasyum Düzeyleri (mmol/L) Üzerine Etkileri

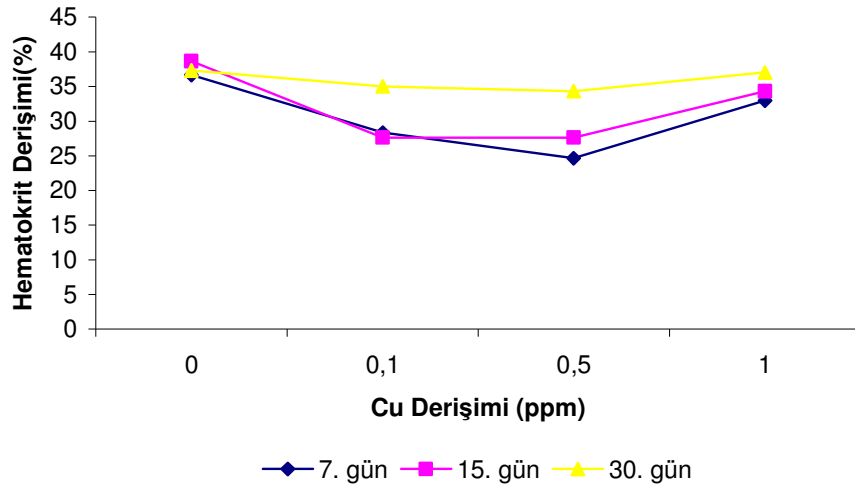
Bakırın 0.1 ve 0.5 ppm derişimlerinin 7 ve 15 gün süreyle etkisi *C.lazera*'da hematokrit düzeyini kontrole oranla azaltırken ($P<0.05$), 30 günlük etki süresinde belirlenen derişimler ve kontrol arasında hematokrit düzeyi bakımından istatistiksel bir ayırım belirlenmemiştir (Çizelge 4.4). Hematokrit düzeyi, bakırın 0.1 ve 0.5 ppm derişimlerinde deney süresi sonunda 7. ve 15. güne göre artarak 30. günde kontrol düzeyine ulaşmıştır (Şekil 4.2). Denenen en yüksek ortam derişiminde ise hematokrit düzeyi belirlenen süreler arasında belirgin bir değişiklik göstermemiştir.

Çizelge 4.4. *C. lazera*'da Hematokrit Düzeyi (%) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri

Derişim ppm (Cu)	SÜRE					
	7. Gün		15.Gün		30.Gün	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0,0	36,66 ± 1,15	as	38,66 ± 1,15	as	37,33 ± 3,05	as
0,1	28,33 ± 4,04	bs	27,66 ± 1,52	bs	35,00 ± 2,64	at
0,5	24,66 ± 2,30	bs	27,66 ± 0,57	bs	34,33 ± 2,30	at
1,0	33,00 ± 1,00	as	34,33 ± 2,30	cs	37,00 ± 4,00	as

*SNK; a, b ve c harfleri derişimler, s ve t harfleri ise süreler arasındaki ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayırım vardır.

X± sx : Aritmetik ortalama± Standart hata



Şekil 4.2. Bakır Ortam Derişimlerinin 7, 15 ve 30 Gün Sürelerle Hematokrit Düzeyi (%) Üzerine Etkileri

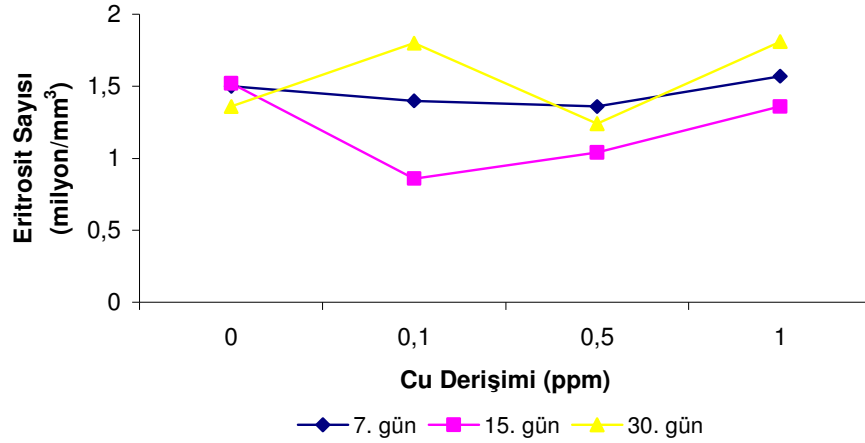
Bakırın 7 ve 30 gün sürelerle etkisi, *C. lazera*'nın kandaki eritrosit sayısında kontrole göre önemli bir değişime neden olmazken ($P>0.05$), 15 günlük etki süresinde eritrosit sayısını istatistiksel bakımdan önemli düzeyde azaltmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4.5). Belirli bir ortam derişiminde 0.1 ve 1.0 ppm bakır derişimleri, eritrosit sayısını 7.güne göre 30. günde arttırırken, 15. günde azaltmıştır (Şekil 4.3).

Çizelge 4.5. *C. lazera*'da Eritrosit Sayısı (milyon/mm³) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri

Derişim ppm (Cu)	SÜRE					
	7. Gün		15.Gün		30.Gün	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0,0	1,50 ± 0,12	as	1,52 ± 0,064	as	1,36 ± 0,31	as
0,1	1,40 ± 0,01	as	0,86 ± 0,026	bt	1,80 ± 0,02	ax
0,5	1,36 ± 0,02	as	1,04 ± 0,05	cs	1,24 ± 0,16	as
1,0	1,57 ± 0,08	as	1,36 ± 0,04	dst	1,81 ± 0,14	asx

*SNK; a, b ve c harfleri derişimler, s, t ve x harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

X ± sx : Aritmetik ortalama ± Standart hata



Şekil 4.3. *C. lazera*'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7, 15 ve 30 Gün Sürelerle Eritrosit Sayısı (milyon/mm³) Üzerine Etkileri

Bakırın belirlenen süre ve ortam derişimlerinin etkisinde *C. lazera*'nın kas, karaciğer dokuları glikojen ve serum glikoz düzeylerine ait verilerin aritmetik ortalamaları ile istatistik analiz sonuçları sırasıyla Çizelge 4.6–4.8'de gösterilmiştir.

Otuzuncu ve yedinci günde 1.0 ppm dışında, belirli bir sürede bakırın ortam derişimindeki artış, kas glikojen derişimini, kontrole göre düşürürken, yedinci günde denenen en yüksek ortam derişiminde ve onbeşinci günde 0.5 ve 1.0 ppm derişimlerinin etkisinde istatistiksel bakımdan önemli düzeyde arttırmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4.6). Belirli bir derişimin etkisinde, 0.1 ve 0.5 ppm bakır, deney süresi sonunda yedinci güne oranla *C. lazera*'nın kas glikojen düzeyini arttırırken, 1.0 ppm bakır etkisi azaltmıştır ($P<0.05$).

Çizelge 4.6. *C. lazera*'da Kas Doku Glikojen Düzeyi (mg/g y.a.) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri

Derişim Ppm (Cu)	SÜRE					
	7. Gün		15.Gün		30.Gün	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0,0	3,26 ± 0,33	as	3,06 ± 0,19	as	3,10 ± 0,25	as
0,1	1,90 ± 0,10	bs	2,60 ± 0,15	at	2,39 ± 0,01	abt
0,5	1,14 ± 0,27	bs	4,13 ± 0,05	bt	2,57 ± 0,11	abx
1,0	6,41 ± 0,20	cs	3,74 ± 0,12	bt	1,96 ± 0,14	bx

*SNK; a, b ve c harfleri derişimler, s, t ve x harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

X± sx : Aritmetik ortalama± Standart hata

Bakırın incelenen en düşük ortam derişimi dışında, belirli bir sürede metalin ortam derişimindeki artış, kontrole göre karaciğer glikojen derişimin istatistiksel bakımdan önemli düzeyde arttırmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4.7). Belirli bir derişimde etkide kalma süresindeki artış, 0.1 ve 0.5 ppm bakır derişimlerinde önce azalma sonra artış gösterirken, bakırın 1.0 ppm'lik ortam derişiminde etkide kalma süresi uzadıkça düşmüştür.

Çizelge 4.7. *C. lazera*'da Karaciğer Doku Glikojen Düzeyi (mg/g y.a.) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri

Derişim ppm (Cu)	SÜRE					
	7. Gün		15.Gün		30.Gün	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0,0	132,12 ± 7,50	as	128,88 ± 4,26	as	131,86 ± 1,29	as
0,1	62,01 ± 4,12	bs	51,34 ± 5,25	bs	77,62 ± 11,68	bs
0,5	167,09 ± 5,63	cs	133,79 ± 3,12	at	177,75 ± 2,02	cs
1,0	305,90 ± 0,61	ds	187,10 ± 10,29	ct	164,02 ± 1,42	cx

*SNK; a, b, c ve d harfleri derişimler, s, t ve x harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

X± sx : Aritmetik ortalama± Standart hata

C. lazera'da 7. günde 0.5 ppm dışında, 15.günde incelenen tüm bakır derişimlerinde serum glikoz düzeyi, kontrole oranla önemli düzeyde artarken, deney süresi sonunda azalmıştır (P<0.05) (Çizelge 4.8). Belirli bir derişimde serum glikoz düzeyi, 15. güne kadar artmış, 30. günde ise önemli düzeyde düşmüştür (P<0.05).

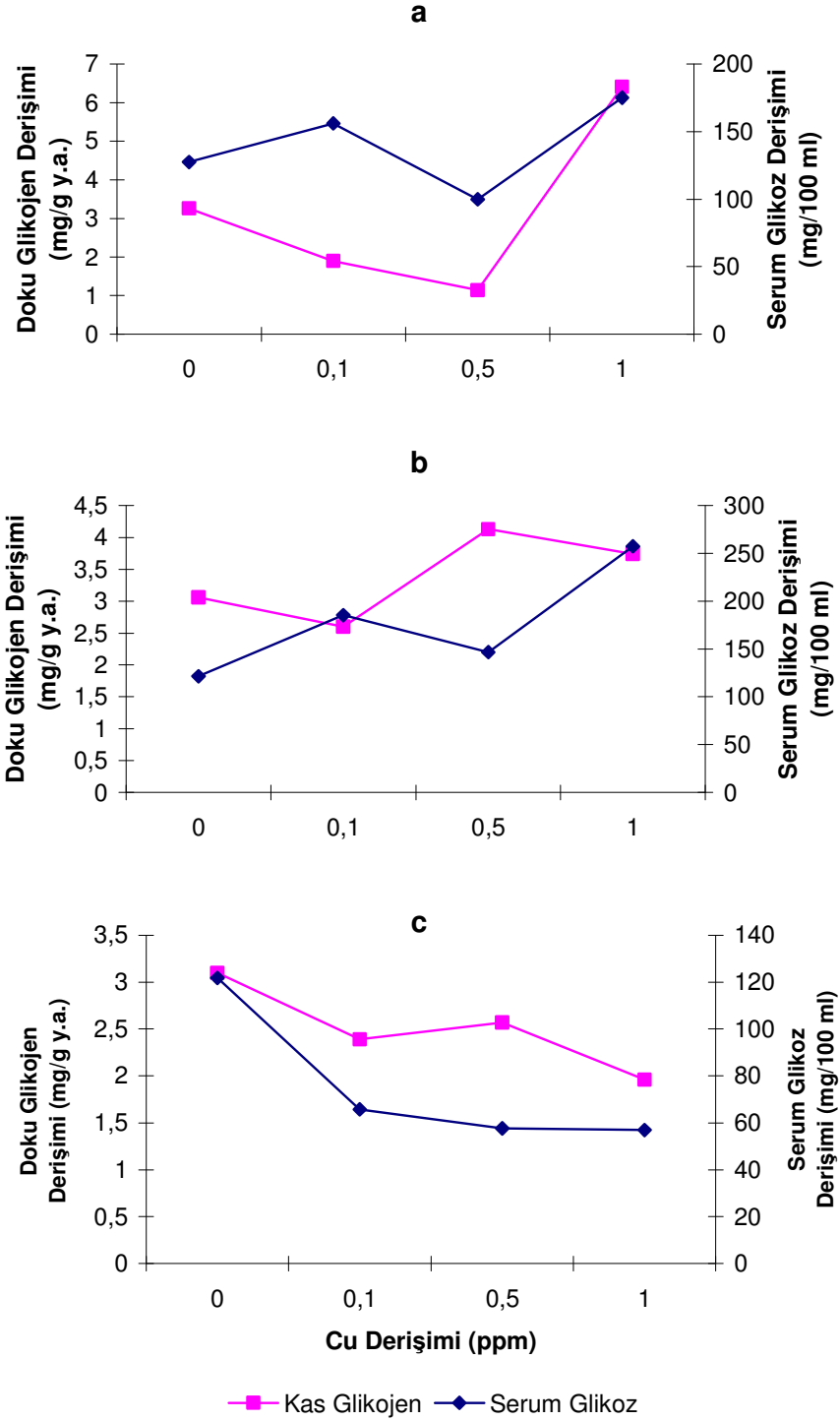
Çizelge 4.8. *C. lazera*'da Serum Glikoz Düzeyi (mg/100ml) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri

Derişim ppm (Cu)	SÜRE					
	7. Gün		15.Gün		30.Gün	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0,0	127,53 ± 0,95	as	121,52 ± 0,95	as	121,85 ± 6,64	as
0,1	156,11 ± 2,59	bs	185,23 ± 1,28	bt	65,81 ± 1,26	bx
0,5	99,99 ± 3,16	cs	146,62 ± 1,52	ct	57,67 ± 1,55	bx
1,0	175,10 ± 7,49	ds	257,27 ± 10,44	dt	56,95 ± 3,16	bx

*SNK; a, b, c ve d harfleri derişimler, s, t ve x harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

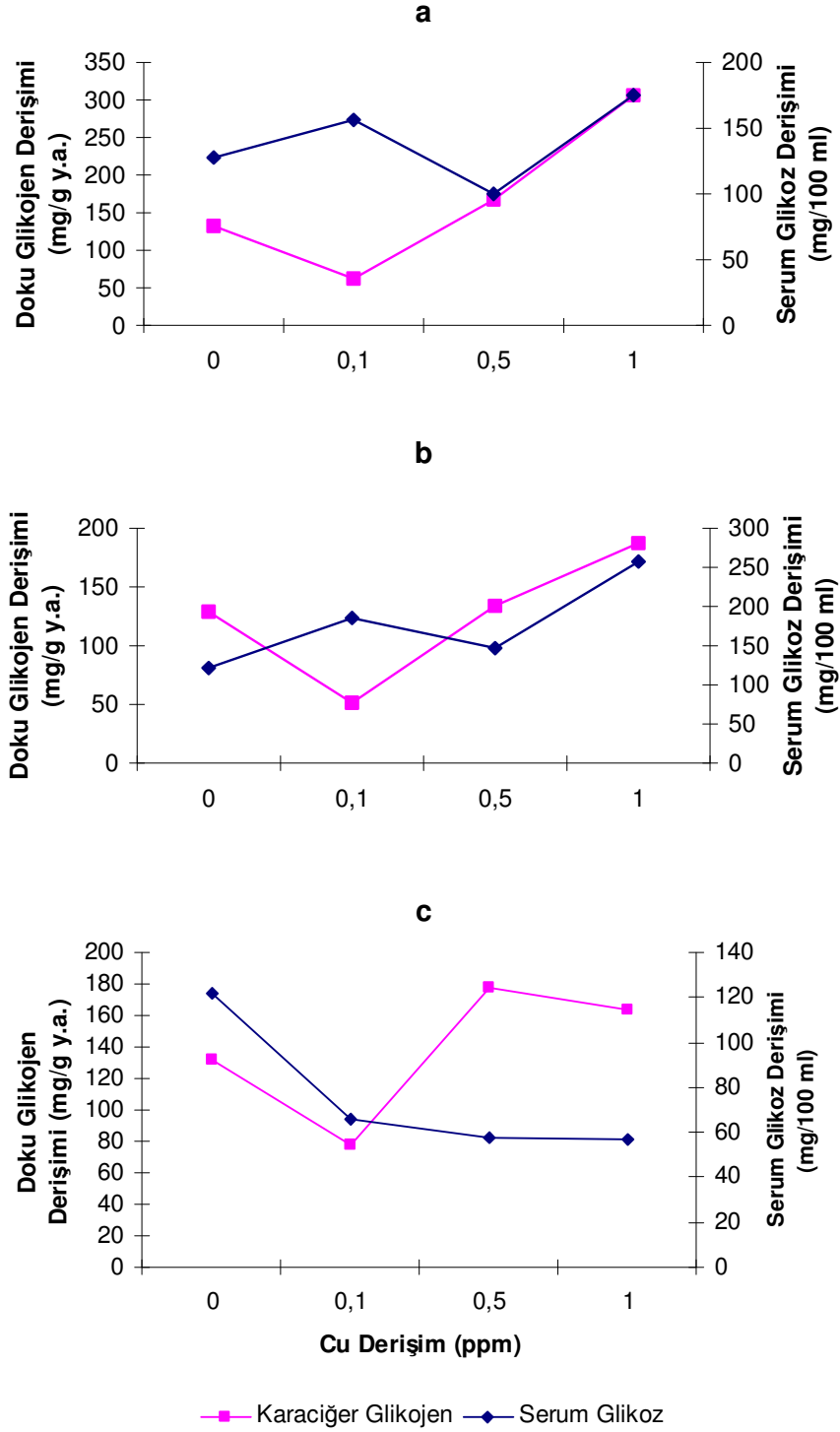
X± sx : Aritmetik ortalama± Standart hata

C. lazera'da bakırın 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm derişimlerinin 7, 15 ve 30 gün sürelerle etkisinde kas glikojen düzeyi ile serum glikoz düzeyindeki değişimler arasındaki ilişki Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Bakırın 7. günde 0.1 ppm, 15. günde incelenen tüm ortam derişimlerinin etkisinde kas glikojen düzeyi ile serum glikoz düzeyi arasında ters ilişki saptanmıştır. Deney süresi sonunda ise belirtilen parametrelerdeki değişimler, paralellik göstermiş ve ortam derişimindeki artışa bağlı olarak her ikisinde de kontrole göre azalma belirlenmiştir.



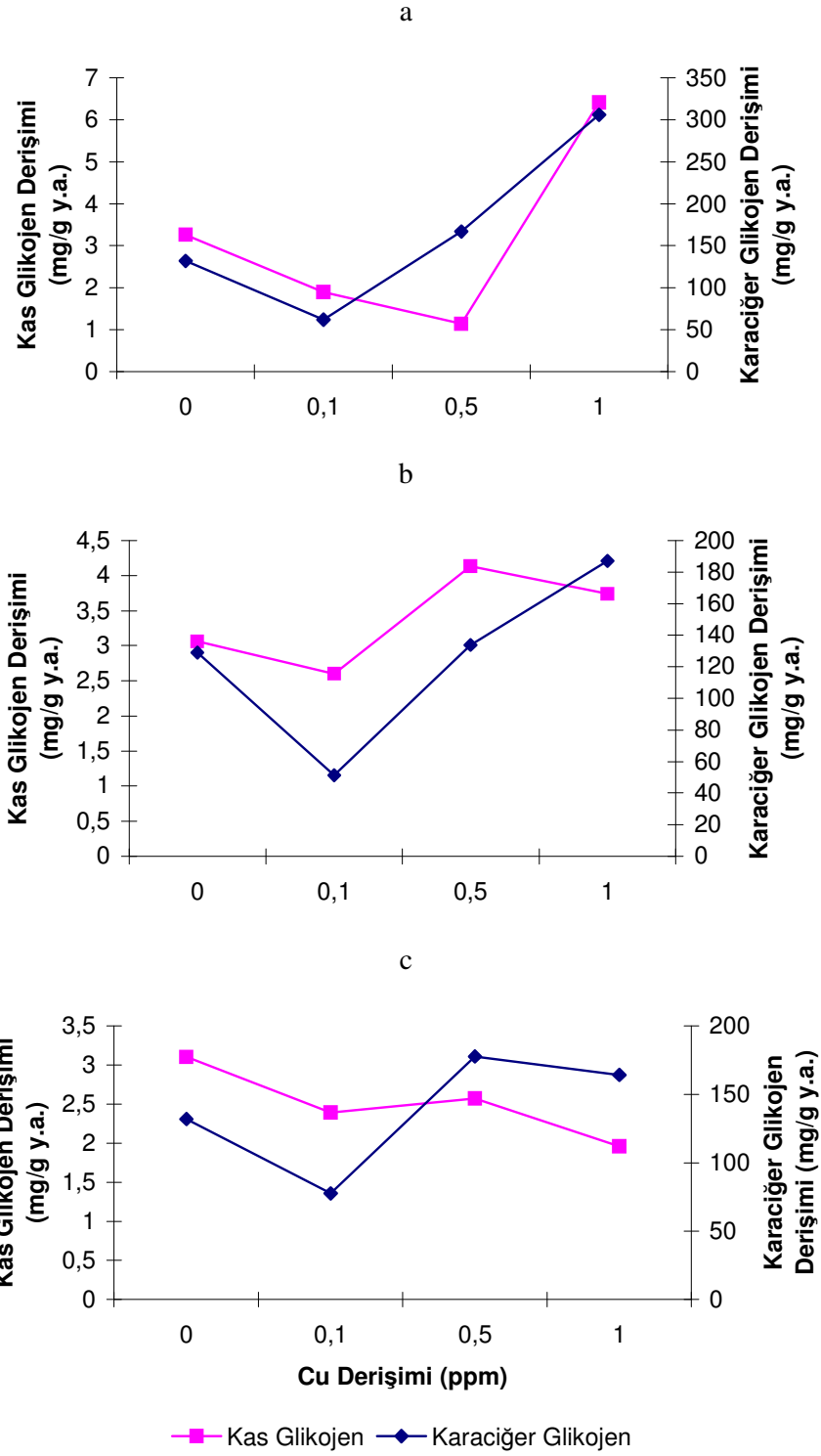
Şekil 4.4. *C. lazera*'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30(c) Gün Sürelerle Kas Glikojen Düzeyi (mg/g y.a.) ve Serum Glikoz Düzeyi (mg/100ml) Üzerine Etkileri

Bakırın denenen en düşük ortam derişiminin, 7 ve 15 gün süreyle etkisinde serum glikoz düzeyi artarken, karaciğer glikojen düzeyi azalmış, 30. günde ise her ikisindeki düşme paralellik göstermiştir (Şekil 4.5). Yedi ve onbeş günlük etki sürelerinde 0.5 ve 1.0 ppm'lik bakır derişimleri karaciğer glikojen ve serum glikoz düzeyini arttırırken, 30. günde serum glikoz düzeyi azalmaya devam etmiş, karaciğer glikojen düzeyinde dalgalanma saptanmıştır.



Şekil 4.5. *C. lazera*'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30(c) Gün Sürelerle Karaciğer Glikojen Düzeyi (mg/g y.a.) ve Serum Glikoz Düzeyi (mg/100ml) Üzerine Etkileri

Metal etkisinde *C. lazera*'nın kas ve karaciğer glikojen düzeylerindeki değişimler Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Bakırın 7, 15 ve 30 gün sürelerle 0.1 ppm ortam derişimi kas ve karaciğer glikojen düzeyini kontrole göre düşürürken, kas glikojen düzeyindeki bu azalma 7. günde 0.5 ppm ortam derişiminde de devam etmiştir. Kas ve karaciğer glikojen düzeyinde, denenen en yüksek ortam derişiminin etkisinde 7. günde artış, 30. günde azalma paralellik gösterirken, 15. günde ters ilişki göstermiştir.



Şekil 4.6. *C. lazera*'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30(c) Gün Sürelerle Kas ve Karaciğer Glikojen Düzeyleri (mg/g y.a.) Üzerine Etkileri

Belirlenen sürelerde, incelenen Cu ortam derişimlerinin etkisinde *C. lazera*'nın kas ve karaciğer dokularında üç tekrarlı olarak belirlenen doku protein derişimlerinin aritmetik ortalamaları ile istatistik analiz sonuçları Çizelge 4.9 ve 4.10'da gösterilmiştir. Bakır etkisi 7. günde kas protein düzeyini derişime bağılı olarak kontrole göre istatistiksel bakımdan önemli düzeyde azaltırken, 30 günde arttırmıştır (P<0.05) (Çizelge 4.9). Bakırın 0.1 ppm dışındaki ortam derişimleri, etkide kalma süresi arttıkça kas doku protein düzeyini arttırmıştır.

Çizelge 4.9. *C. lazera*'da Kas Doku Protein Düzeyi (mg/g y.a.) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağılı Etkileri

Derişim ppm (Cu)	SÜRE					
	7. Gün		15.Gün		30.Gün	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0,0	23,99 ± 1,47	as	24,81 ± 0,33	as	24,07 ± 2,00	as
0,1	19,98 ± 1,08	bs	24,56 ± 1,03	as	29,33 ± 6,49	abs
0,5	16,22 ± 1,23	cs	26,64 ± 0,19	at	36,09 ± 1,58	bcx
1,0	19,19 ± 0,41	bs	20,05 ± 2,22	bs	40,44 ± 1,18	ct

*SNK; a, b ve c harfleri derişimler, s, t ve x harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayırım vardır.

X± sx : Aritmetik ortalama± Standart hata

C. lazera'da bakır etkisi karaciğer protein düzeyini kontrole göre arttırmıştır (Çizelge 4.10). Protein düzeyindeki bu artış, 30. günde ortam derişimindeki artışa, belirli bir derişimde etkide kalma süresindeki artışa bağılı olarak istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur (P<0.05). Deney süresi sonunda karaciğer protein derişimindeki artışın, kontrol düzeyinden yaklaşık 2-2.5 kat daha fazla olduğu saptanmıştır.

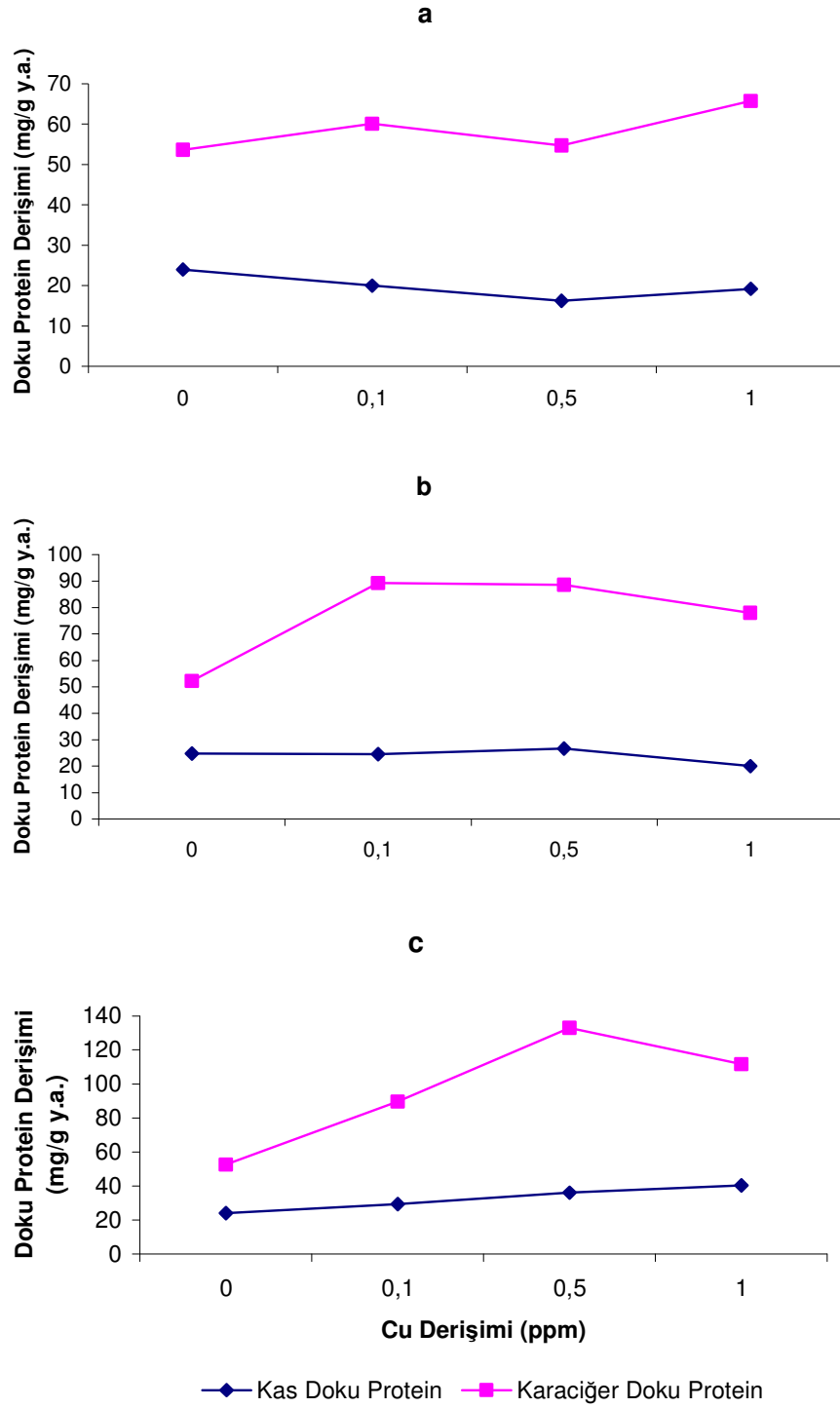
Çizelge 4.10. *C. lazera*'da Karaciğer Doku Protein Düzeyi (mg/g y.a.) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri

Derişim ppm (Cu)	SÜRE					
	7. Gün		15.Gün		30.Gün	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0,0	53,64 ± 2,55	as	52,22 ± 1,47	as	52,60 ± 2,16	as
0,1	60,07 ± 1,56	bs	89,30 ± 3,09	bt	89,58 ± 4,80	bt
0,5	54,68 ± 1,48	as	88,58 ± 4,44	bt	132,98 ± 1,73	cx
1,0	65,74 ± 3,59	cs	77,98 ± 0,26	cs	111,66 ± 17,11	dt

*SNK; a, b, c ve d harfleri derişimler, s, t ve x harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

X± sx : Aritmetik ortalama± Standart hata

Bakır etkisinde kas doku protein derişimi 30.gün dışında etkide kalma süresi ve ortam derişimindeki artışa paralel olarak azalırken, denenen en uzun surede artan derişimle doğru orantılı olarak artmıştır. 0.5 ppm Cu ortam derişiminde karaciğer protein derişimi kontrole oranla 30. günde artarken,15. günde durağan kalmış ve 7. günde de kontrole yaklaşmıştır. Bakırın en yüksek derişiminde karaciğer dokusunda belirlenen protein derişimi 7.gün sonunda artarken, 15 ve 30. gün de azalmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. *C. lazera*'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30(c) Gün Sürelerle Kas ve Karaciğer Protein Düzeyleri (mg/g y.a.) Üzerine Etkileri

Serum total protein derişimi, yedinci günde bakırın denenen ortam derişimlerinde kontrole oranla önemli bir değişim göstermezken, etkide kalma süresi ve ortam derişimdeki artışa paralel olarak azalmıştır (Çizelge 4.11).

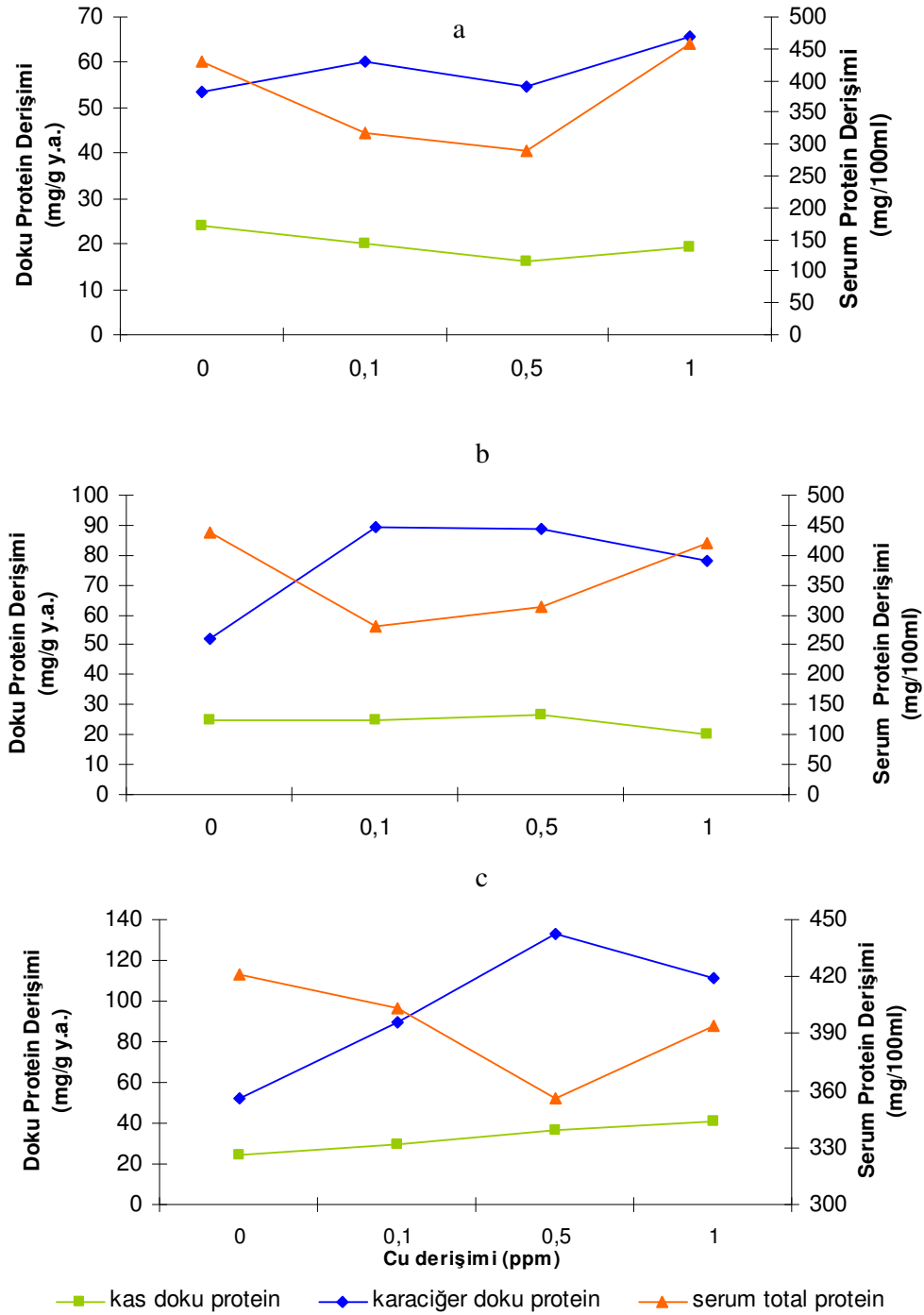
Çizelge 4.11. *C. lazera*'da Serum Total Protein Düzeyi (mg/100 ml) Üzerine Bakır Ortam Derişimlerinin Süreye Bağlı Etkileri

Derişim ppm (Cu)	SÜRE					
	7. Gün		15.Gün		30.Gün	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
0,0	431 ± 0,73	as	439 ± 0,34	as	421 ± 0,10	as
0,1	317 ± 0,34	as	280 ± 0,18	bs	403 ± 0,19	at
0,5	290 ± 0,10	as	315 ± 0,19	bs	356 ± 0,07	bt
1,0	459 ± 0,58	as	420 ± 0,08	as	394 ± 0,02	as

*SNK; a ve b harfleri derişimler, s ve t harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

X± sx : Aritmetik ortalama± Standart hata

Denenen tüm sürelerde en düşük derişimde, serum total protein derişimi kontrole oranla bir düşme gösterirken, karaciğer doku proteini artmış ve kas doku protein düzeyi kontrole oranla değişim göstermemiştir. 0.5 ppm Cu ortam derişimde 7. günde serum ve doku protein düzeyleri azalma gösterirken, 15. günde kas ve karaciğer doku proteini durağan kalmış, serum protein düzeyi artma göstermiştir. 30. günde ise serum protein düzeyi ile kas ve karaciğer protein düzeyleri ters orantılı olarak değişim göstermiştir. Denenen en yüksek derişimde 7. günde kas ve karaciğer, serum total protein düzeyleri artarken, 15.günde kas ve karaciğer protein düzeyi azalmış, serum total protein düzeyi artmıştır. Deney süresi sonunda ise karaciğer doku protein düzeyi azalırken, serum total protein ve kas protein düzeyi artmıştır (Şekil 4.8).



şekil 4.8. *C. lazera*'da Bakır Ortam Derişimlerinin 7(a), 15(b) ve 30(c) Gün Sürelerle Kas, Karaciğer Doku Protein (mg/g y.a.) ve Serum Protein (mg/100 ml) Düzeyleri zerine Etkileri

4.2. TARTIŞMA

Tatlısu balıklarında, bakırın mortalite üzerine etkisi, türe, ortam derişimine ve etkide kalma süresine bağlı olarak değişim gösterir [84]. *O. niloticus* [85] ve *C. carpio* [86] ile yapılan araştırmalarda, bakırın subletal derişimlerinin 30 gün süreyle etkisinde balıklarda mortalite gözlenmezken, *T. nilotica* [87]'da bakırın 10 ppm'lik ortam derişiminin, 30. günden sonra %100 oranında mortaliteye neden olduğu saptanmıştır. *C. lazera* ile yapılan bu araştırmada da bakırın belirlenen 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm'lik ortam derişimlerinin, 7, 15 ve 30 gün sürelerle etkisinde mortalite gözlenmemiştir. Bakırın anılan derişimlerinin belirlenen sürelerle etkisinde mortalitenin gözlenmemesi, metabolik [88] ve fizyolojik [73] olayların yanı sıra detoksifikasyon mekanizmalarının[5, 89] aktivasyonu ile açıklanabilir.

Balıklar ortam koşullarındaki değişikliklere, davranışlarını değiştirerek tepki gösterirler. *L. rohita* [47], *C. punctatus* [48], *Poecilia reticulata* [90] ve *O. niloticus* [60]'da bakır, *Mugil cephalus* [39]'da kadmiyum, *T. zilli* ve *C. lazera* [40]'da çinko etkisinin başlangıcında balıklarda, yüzme hareketlerinde koordinasyon bozukluğu, fiziki etkilere karşı duyarsızlık, besin almama, opekulumun açılıp kapanma hareketlerinde artış gibi çeşitli davranış değişiklikleri belirlenmiştir. *C. lazera* ile yapılan bu araştırmada da, bakır etkisinin başlangıcında benzer davranış değişiklikleri gözlenmiş ve etkide kalma süresinin uzaması ile bu değişikliklerin ortadan kalktığı saptanmıştır. Bakır etkisinde *C. lazera*'daki bu davranışsal tepkinin, metalin doğrudan doğruya merkezi sinir sistemini etkileyerek spontan kas hareketlerini yavaşlatmasından, metal alınımını önlemenin yanı sıra yaşamsal olaylar için gereksinim duyulan enerjiyi, besin maddeleri yerine stok rezervlerden karşılamasından yada ağır metal etkisinin neden olduğu stres koşullarında, oksijen gereksinimindeki artıştan kaynaklandığı olasıdır.

Sucul organizmalarda ağır metallerin etkileri sıcaklık, tuzluluk, pH, su sertliği ve alkalinite gibi suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak değişim gösterir [11, 91, 92]. Bu araştırmada da deneyler süresince ortam faktörlerinden pH; 7.40 ± 0.20 , total alkalinite; 326 ± 0.50 ppm CaCO_3 , total sertlik; 230 ± 0.75 ppm CaCO_3 olarak belirlenmiş ve sıcaklık; $25 \pm 1^\circ$ C de durağan tutularak bakır etkisinde

incelenen parametrelerde bu faktörlerden kaynaklanabilecek değişimler, minimum düzeye indirilmiştir.

Balıklarda yoğun stoklama ve çözünmüş oksijen derişimindeki düşme ile birlikte ağır metaller de hipoksiya'ya neden olmaktadır[15]. Balıkların solungaç epitel hücrelerinde, bakır etkisiyle oluşan hipertropi, hiperplasi ve poliferasyon, su ile kan arasındaki difüzyon mesafesini arttırarak metalin dolaşım sistemine alınımını azaltmakta ancak doku düzeyinde hipoksiya'ya neden olmaktadır [55]. Üreme ve açlık gibi stres faktörlerinin yanı sıra ağır metal etkisinin de balıklarda strese neden olduğu saptanmıştır [15, 57]. Hipoksik koşullarla, stres faktörleri, endokrin sistemi stimüle ederek kortizol, epinefrin ve katekolamin gibi glikokortikoidlerin salınımını arttırmakta ve karbonhidrat metabolizmasında değişikliklere neden olmaktadır [66]. *O. mykiss* [68]'de kadmiyum, *Anguilla anguilla* [93]'da kurşunun subletal derişimlerinin kronik etkisi, serum glikoz düzeyinde her hangi bir değişime neden olmadığı saptanmıştır. *O. niloticus* [57] ve *Notemigonus crysoleucas* [94]'da Cd etkisi doku glikojen düzeyinde değişime neden olmazken serum glikoz düzeyi ile aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz düzeylerini arttırdığı belirlenmiştir. *C. carpio* [95], *H. fossilis* [70], *P. reticulata* [90] ve *O. mossambicus* [56]'da bakırın subletal derişimlerinin kronik etkisi kas ve karaciğer glikojen düzeyini azaltırken, serum glikoz düzeyini arttırmıştır. *C. lazera* ile yapılan bu araştırmada da bakırın 0.1 ppm ortam derişiminin 7 ve 15 gün süreyle kas ve karaciğer glikojen düzeyini düşürürken, serum glikoz düzeyini arttırdığı belirlenmiştir. Ağır metal etkisinde balıklarda serum glikoz ve doku glikojen düzeylerindeki değişimlerin türe ve metale bağlı olarak değişim göstermesi, metallerin metabolik olaylar üzerine etki şekillerindeki farklılıktan ve metabolik aktivitenin türe bağlı olarak değişim göstermesinden kaynaklanabilir. Bakır etkisinde *C. lazera*'nın serum glikoz ve doku glikojen düzeylerindeki değişimlerin ise metalin neden olduğu hipoksik ve stres koşullarına enerjistik adaptasyonundan kaynaklandığı olasıdır.

Balıklarda karaciğer, ağır metalleri bağlayarak, toksik etkilerinin giderilmesinde işlev gören metallothionein [1] ve glutatyon [96] gibi metal bağlayıcı

proteinlerin yanı sıra serum proteinlerinin de sentezlendiği başlıca organdır. Metallothionein ve glutasyonun, ağır metallerin, enzim gibi moleköl ağırlığı yüksek bileşiklere bağlanması engelleyerek detoksifikasyon olayında işlev gördüğü saptanmıştır [24].

Bakır etkisinin *A. anguilla*'nın karaciğer hücrelerinde metallothionein gen transkripsiyonunu artırırken [97], *Ictalurus punctatus* [98] ve *Pseudopleuronectes americanus* [99]'da birikime bağlı olarak metallothionein ve vitallogenin derişimini arttırdığı belirlenmiştir. Çeşitli balık türleri ile yapılan araştırmalarda da bakır, çinko ve cıvanın karaciğer total protein derişimini arttırdığı saptanmıştır [21,40,64,87,100,101].

Bakırın subletal derişimlerinin kronik, yüksek derişimlerinin akut etkisinde *H. fossilis* [70]'in karaciğer hücrelerinde glikoneogenik enzim sentezini, *C. carpio*'da albumin [26] sentezini arttırdığı belirlenmiştir. *C. lazera* ile yürütölen bu araştırmada da bakırın belirlenen derişimlerinin 7, 15 ve 30 gün sürelerle etkisi, karaciğer total protein düzeyini arttırmıştır. Bakır etkisinde karaciğer total protein düzeyindeki artma, metalin vücuda alınım, taşınım ve depolanmasında işlev gören proteinlerin sentezindeki artıştan kaynaklanabilir.

Balıklar, ağır metal etkisi, stres ve hipoksik koşullarda artan enerji gereksinimlerini karbonhidrat rezervlerinin yanı sıra proteinlerden de sağlarlar [17]. *O. niloticus* [57]'da bakır, *H. fossilis* [102]'de kadmiyum etkisi, serum glikoz, serbest amino asit, laktat ve AST, ALT gibi glikoneogenik enzimlerin derişimini artırırken, kas total protein derişimini düşürmüştür. *C. batrachus* [64] ve *T. nilotica* [87] ile yapılan araştırmalarda kronik bakır etkisinin sırasıyla serum serbest amino asit derişimini artırırken, kas total protein derişimini düşürdüğü saptanmıştır.

Bakırın incelenen ortam derişimlerinin 7 ve 15 gün sürelerde etkisinde bırakılan *C. lazera*'nın kas total protein derişimi metalin ortam derişimindeki artışa bağlı olarak azalmıştır. Bakır etkisinde kas total protein derişimindeki azalma, metal etkisinde artan enerji gereksiniminin kas proteinlerinin mobilizasyonu

sağlanmasından yada metalin alınım, taşınım ve depolanmasında işlev gören proteinlerin sentezi için gerekli amino asitlerin, kas proteinlerinin yıkımı ile karşılanmasından kaynaklanabilir.

Serum proteinleri enzimatik, transport ve hormonal işlevlere sahip olduklarından ağır metallere çok çabuk etkilenmektedir. Bakırın portal sisteme girmesi ve karaciğere ulaşmasında başlıca albumin ve amino asitler işlev yapmaktadır [24]. *C. carpio* ile yapılan bir araştırmada, bakırın ortam derişimindeki artışın serum albumin düzeyini arttırdığı belirlenmiştir [26]. Yine *C. carpio*'da kronik bakır etkisinin, bakır taşıyıcı bir protein olan serum seruloplazmin düzeyini arttırdığı saptanmıştır [25]. Bakır etkisinde *T. nilotica* [103] ve *C. carpio*'da [21] kas total protein derişimindeki düşmenin, kas doku proteinlerinin katabolik ürünlerinin karaciğerdeki protein sentezinde kullanılmasından kaynaklanabileceği ve bu amaçla serbest amino asitlerin dolaşım sistemine geçtiği belirtilmiştir. *M. cephalus* [104]'de kadmiyum, *C. carpio* [105]'da bakır ve çinko, *T. zilli* ve *C. lazera* [106]'da çinko etkisinin serum total protein düzeyini arttırdığı ancak bu artışın devamlı olmadığı saptanmıştır.

Bakır etkisinin başlangıcında *C. lazera*'nın serum total protein düzeyi artarken, etkide kalma süresinin uzamasıyla azalmıştır. Deneylerin başlangıcında serum protein düzeyinde belirlenen artış, metalin ortamdan alınması ile taşınmasında işlev gören proteinlerin sentezindeki artışla açıklanırken, etkide kalma süresinin uzamasıyla saptanan düşme, bakırın metabolik bakımdan aktif doku ve organlarda esterleştirilerek alıkonmasından kaynaklanabilir

Omurgalı hayvanlarda başlıca vücut sıvısı olan kan, canlının fizyolojik durumunun yanı sıra homeostatik durumunu yansıtmaya bakımından da önem taşır [55]. Balıklarda ağır metallere ortamdan solungaçlar ile alınıp dolaşım sistemi aracılığı ile ilgili yerlere taşındığından, kan parametreleri ağır metal etkisine çok çabuk tepki göstererek değişmektedir [1]. Bakırın kan parametreleri üzerine direkt etkisi, membran permeabilitesini etkileyerek eritrositlerde lizise neden olduğu gibi hematopoetik dokulardaki birikiminin eritrosit oluşumunu arttırması şeklindedir [65].

P. scorfa'da [55] bakır, *S. canicula* [6]'da çinkonun düşük derişimlerinin etkisinin başlangıcında eritrosit sayısını arttırdığı, bu artışında metal etkisinde ortaya çıkan hipoksiyaya karşı dokuların oksijen gereksinimlerindeki artıştan kaynaklanabileceği belirtilmiştir. *O. mykiss*'de bakırın 6.4, 16.0 ve 26.9 ppb'lik ortam derişimlerinin 3, 7, 14 ve 21 gün süreyle etkisinin, deney süresinin başlangıcında ve denenen en yüksek ortam derişiminde hemoglobin düzeyini arttırdığı, daha sonra ise kontrol düzeyine düşürdüğü belirlenmiştir [46]. *C. lazera* ile yapılan bu araştırmada eritrosit sayısı deney süresince artmıştır. Eritrosit sayısındaki artışın, bakır etkisinde solungaç yapısındaki deformasyonlar ve solungaç yüzeyinin mukus ile kaplanması sonucu ortaya çıkan hipoksik koşullarda dokuların oksijen gereksinimindeki artıştan yada bakırın hematopoetik dokularda eritrosit oluşumunu stimüle etmesinden kaynaklanabilir.

Balıklarda ağır metallerin hematokrit düzeyi üzerine etkileri, türe ve metale bağlı olarak değişim gösterir. *C. lazera* ve *T. zilli* [40]'de çinko, *C. carpio* [41]'da bakır etkisi hemoglobin ve hemotokrit düzeylerini düşürürken, *S. trutta* [50]'da her hangi bir değişime neden olmadığı, *O. mykiss* [46]'de ise arttırdığı belirlenmiştir. *C. lazera*'da bakır etkisinde hematokrit düzeyindeki değişimler daha önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlarla uygunluk göstermekte olup, hematokrit düzeyi metal etkisinin başlangıcında düşmüş, etkide kalma süresinin uzaması ile kontrol düzeyine ulaşmıştır. Bakır etkisinin başlangıcında *C. lazera*'nın eritrosit sayısındaki artışa karşılık hematokrit düzeyindeki düşme, hematopoetik dokulardan olgunlaşmamış eritrositlerin dolaşım sistemine katılımından kaynaklanabilir.

Balıklarda solungaçlar doğrudan doğruya ortamlarla temas halinde olduğundan toksikolojik çalışmalarda başlıca hedef organdır. Ağır metal etkisinde solungaç dokusundaki yapısal değişikliklerle Na^+-K^+ ATPaz aktivitesinin inhibisyonu, sudan aktif iyon alınımını engellemekte [36, 107] ve iyon regülasyonunda bozukluklara neden olmaktadır [108, 109].

P. scorfa'da bakırın, aktif iyon taşıma mekanizmalarını etkileyerek solungaçlardaki klorid hücrelerinde hipertropiye neden olduğu saptanmıştır [55].

Çeşitli balık türleri ile yapılan araştırmalarda, ağır metallerin membran permeabilitesini etkileyerek, doku ve serum elektrolit düzeylerinde değişimlere neden olduğu belirlenmiştir [51, 52, 53, 54]. *S. gairdneri* de kadmiyum [36], *T. zilli* [37] ve *O. mykiss* [56]'de bakır etkisi Na^+ - K^+ ATPaz aktivitesinde düşmeye neden olurken, *A. anguilla*'da Cd [110], karbonik anhidraz aktivitesini inhibe ederek, iyon ve asit-baz dengesinde değişikliklere neden olmuştur.

C. carpio'da Cu'nun subletal derişiminin 30 gün süreyle etkisi serum klor ve kalsiyum düzeyini arttırırken [41], *P. scorfa*'da Cu'nun 25 ve 29 ppb'lik derişimlerinin akut etkisi serum Na^+ ve Cl^- düzeylerini azaltmış, K^+ düzeyini ise arttırmıştır [55].

Bu araştırmada, bakırın 1.0 ppm dışında incelenen ortam derişimlerinin 7 gün süreyle etkisi, *C. lazera*'nın serum K^+ ve Cl^- düzeylerinde kontrole göre herhangi bir değişime neden olmazken, 30. günde önemli düzeyde arttırmıştır. Na^+ düzeyi ise bakırın belirlenen ortam derişimlerinin etkisinde artmıştır. Bakır etkisinde *C. lazera*'nın serum elektrolit düzeyindeki değişimler, solungaç başta olmak üzere diğer doku ve organlardaki histopatolojik deformasyonlardan ve membran permeabilitesinde metal etkisine bağlı değişimlerden kaynaklanabilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

C. lazera ile yapılan bu araştırmada, bakırın 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm derişimlerinin 7, 15 ve 30 gün sürelerle etkisinde, doku protein ve glikojen düzeyleri ile bazı kan parametrelerinin değişim gösterip göstermediği ve bu parametrelerin anılan tür için bakır toksisitesini yansıtıp yansıtmayacağı incelenmiştir.

C. lazera'da bakır etkisi, karaciğer total protein düzeyini derişim ve süreye bağlı olarak arttırırken, kas dokusunda azatmıştır. Doku glikojen, serum glikoz, protein düzeyleri metal etkisine bağlı olarak değişim gösterirken, serum potasyum düzeyinin arttuğı, sodyum ve klorür düzeylerinin ise azaldığı belirlenmiştir.

İncelenen kan parametrelerinden hematokrit düzeyi, deney süresince değişim göstermezken, bakır etkisi, derişim ve süreye bağlı olarak eritrosit sayısını arttırmıştır.

Bu sonuçlar da, belirli ortam koşullarında bakır etkisinin, *C. lazera*'da biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde değişime neden olurken eritrosit sayısı, serum glikoz, protein ve elektrolit düzeyleri ile doku protein ve glikojen düzeylerindeki değişimlerin, diğer çalışmalarla birlikte anılan türde, bakır toksisitesinin belirlenmesinde kullanılabileceğini gösterir.

KAYNAKLAR

- [1] Heath, A.G.(ed) “Water Pollution and Fish Physiology”, Department of Biology Virginia Polytechnic Institute and State Uniandrsity Blacksburg, Virginia, **4**: 67-76, (1995).
- [2] Montero, S.M., Mancera, J.M., Fernandes, A.F. and Sousa, M. “Copper Induced Alterations of Biochemical Parameters in the Gill and Plasma of *Oreochromis niloticus*”, Comp. Biochem. and Physiol. C., **141(4)**, 375-383, (2005).
- [3] Aaseth, J. and Norseth, T. “Copper”, in Friberg, L., Nordberg, G.F. and Vouk, V. (Eds.), Handbook on the Toxicology of Metals, 2nd ed., Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 233, (1986).
- [4] Goyer, R.A. “Toxic Effects of Metals”, in Klaassen, C.D., Amdur, M.O. and Doull, J. (Eds.), Casarett and Doull’s Toxicology The Basic Science of Poisons, MacMillian Publ. Co., New York, 582, (1986).
- [5] Sorensen, E.M. “Metal Poisoning in Fish”, CRC Press, Boca Raton, FL., 243s, (1991).
- [6] Torres, P., Tort, L. and Flos, R. “Acute Toxicity of Copper to Mediterranean Dogfish”, Comp. Biochem. Physiol. C, **86(1)**: 169-171, (1987).
- [7] Nussey, G., Van Vuren, J.H.J. and Du Preez, H.H. “Effect of Copper on Haematology and Osmoregulation of the Mozambique Tilapia *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae)”, Comp. Biochem. Physiol.C **111**: 369-380, (1995).
- [8] Dethloff, G.M., Schlenk, D., Khan, S. and Bailey, H.C. “Effects of Dissolved Copper on Select Hematological, Biochemical and Immunological Parameters of Wild Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, Arch. Environ. Contam. Toxicol. **40**: 371-380, (2001).
- [9] McGeer, J.C., Szebedinszky, C., Mc Donald D.G. and Wood, C.M. “Effects of Chronic Sublethal Exposure to Waterborne Cu, Cd or Zn in Rainbow Trout; Ion Regulatory Disturbance and Metabolic Costs”, Aquat. Toxicol., **50**: 231-243, (2000).
- [10] Cicik, B. “Bakır-Çinko Etkileşiminin Sazan (*Cyprinus carpio*)’nın Karaciğer, Solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi Üzerine Etkileri”, Ekoloji Çevre Dergisi Cilt 12, Sayı **48**: 32-36, (2003).

- [11] Handy, R.D. “Chronic Effects of Copper Exposure Versus Endocrine Toxicity: Two Sides of the Same Toxicological Process”, *Comp. Biochem. Physiol. A* **135**: 25-38, (2003).
- [12] Ozoh, P.T.E. “Malformations and Inhibitory Tendencies Induced to *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan) Eggs and Larvae due to Exposures in Low Concentrations of Lead and Copper Ions”, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **21**: 668-675, (1979).
- [13] Stouthart, X.J.H.X., Haans, J.L.M., Lock, A.C. and Wendelaar Bonga, S.E. “Effects of Water pH on Copper Toxicity to Early Life Stages of the common carp (*Cyprinus carpio*)”, *Environ. Toxicol. and Chem.*, **15(3)**: 376-383, (1996).
- [14] Kotze, P., Du Preez, H.H and Van Vuren, J.H.J. “Bioaccumulation of Copper and Zinc in *Oreochromis mossambicus* and *Clarias gariepinus*, from the Olifants River, Mpumalanga, South Africa”, *Water SA* Vol. **25 (1)**: pp. 99-110, (1999).
- [15] Levesque, H. M., Moon, T. W., Campbell, P.G.C. and Hontela, A. “Seasonal Variation in Carbohydrate and Lipid Metabolism of Yellow Perch (*Perca flavescens*) Chronically Exposed to Metals in the Field”, *Aquatic Toxicology*, **60(3-4)**: 257-267, (2002).
- [16] Lewis, S.D. and Lewis, W. M. “The Effect of Zinc and Copper on the Osmolality of Blood Serum of The Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) Rafinesque, and Golden Shiner (*Notemigonus crysoleucas*) Mitchell”, *Transactions of the American Fisheries Society*, **100(4)**: 639-643, (1971).
- [17] Vijayan, M.M., Pereira, C., Grau, E.G. and Iwama, G.K. “Metabolic Responses Associated with Confinement Stress in Tilapia; The Role of Cortisol”, *Biochem. Physiol. C*, **116 (1)**: 89-85, (1997).
- [18] Hollis, L., Hogstrand, C. and Wood, C.M. “Tissue Specific Cadmium Accumulation Metallothionein Induction and Tissue Zinc and Copper Ligands during Chronic Sublethal Cadmium Exposure in Juvenile Rainbow Trout”, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **41(4)**: 468-474, (2001).
- [19] Marr, J.C.A., Lipton, J., Cacela, D., Hansen, J.A., Bergman, H.L., Meyer, J. S. and Hogstrand, C. “Relationship Between Copper Exposure Duration, Tissue

- Copper Concentration, and Rainbow Trout Growth”, *Aquatic Toxicology*, **36**: 17-30, (1996).
- [20] Horning, W.B. and Yang, C.H. “Chronic Effect of Copper on the Bluntnose Minnow *Pimephales notatus* (Rafinesque)”, *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, **8**: 545-552, (1979).
- [21] Cicik, B. “*Cyprinus carpio*'da Bakır, Çinko ve Bakır + Çinko Karışımında Solungaç, Karaciğer ve Kas Dokularındaki Metal Birikiminin Nicel Protein, Glikojen and Kandaki Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri”, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, 107s, (1995).
- [22] Olsson, P., Larsson, A. and Haux, C. “Metallothionein and Heavy Metal Levels in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) During Exposure to Cadmium in the Water”, *Marine Environmental Research*, **24**: 151-153, (1988).
- [23] Karataş, S., Erdem, C. ve Cicik, B. “Kadmiyumun *Cyprinus carpio* (L. 1758)'da Serum Aspartat Aminotransferaz, Alanin Aminotransferaz ve Glukoz Düzeyi Üzerine Etkileri”, *Ekoloji*, **55 (14)**: 18-23, (2005).
- [24] Cousins, R.J. “Absorbtion, Transport and Hepatic Metabolism of Copper and Zinc: Special Reference to Metallothionein and Ceruloplasmin”, *Physiological Reviews*, **65(2)**: 238-309, (1985).
- [25] Yamamoto, Y., Ishii, T. and Ikeda, S. “Studies on Copper Metabolism in Fishes –The Site of Copper Accumulation in Tissues of Carp”, *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **43**: 1327-1332, (1977).
- [26] Romanenko, V.D. and Yevtushenko, N.Y. “The Tissue Accumulation of Heavy Metals and Their Influence on the Biosynthesis in the Fish Organism”, *Symposia Biologica Hungarica*, **29**: 299-311, (1985).
- [27] Diane, J.S. “An Experimental Analysis of the Metabolic Rate and Food Utilization Northern Pike”, *Comp. Biochem. Physiol.A*, **71**: 395 s, (1982).
- [28] Miller, P.A., Munkittrick, K.R. and Dixon, D.G. “Relationship between Concentrations of Copper and Zinc in Water Sediment, Benthic Invertebrates and Tissues of White Sucker (*Catostomus commersoni*) at Metal Contaminated Sites”, *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, **49**: 978-984, (1992).

- [29] Cicik, B. Ay, Ö. ve Karayakar, F. “*Cyprinus carpio* (L.)’ da Bakırın Kas ve Karaciğer Dokularındaki Birikiminin Total Protein Değişimi Üzerine Etkileri”, Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, **2(12)**: 26-31, (2004).
- [30] Dange, A.D. “Changes in Carbohydrate Metabolism in *Tilapia Oreochromis mossambicus*, During Short-term Exposure to Different Types of Pollutants”, Environmental Pollution (Series), **41**: 165-177, (1986).
- [31] Tort, L. and Torres, P. “The Effects of Sublethal Concentrations of Cadmium on Haematological Parameters in the Dog Fish”, Biol., **32**: 277-282, (1988).
- [32] Sastry, K.V. and Subhadra, K.M. “In-vivo Effects of Cadmium on Some Enzyme Activities in Tissues of the Freshwater Catfish *Heteropneustes fossilis*”, Environmental Research, **36**: 32-45, (1985).
- [33] Lowe-Jinde, L. and Niimi, A.J. “Short Term and Long Term Effects of Cadmium on Glycogen Reserves and Liver Size in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* Richardson)”, Arch. Env. Contam. Toxicol., **13**: 759-764, (1984).
- [34] Sheridan, M.A. and Momsen, T.P. “Effects of Nutritional State on in vivo Lipid and Carbohydrate Metabolism of Coho Salmon *Oncorhynchus kisutch*”, Gen. Comp. Endocr., **81**: 437-483, (1991).
- [35] Volk, W. and Van Vuren, H.J. “Chemical Composition of Blood and Seminal Plasma of *Barbus aeneus* (Cyprinidae)”, Comp. Biochem. Physiol. England, **90A**, (1): 49-51, (1988).
- [36] Verbost, P.M., Van Rooy, J., Flik G., Lock, R.A.C. and Wendelaar Bonga, S.E. “The Movement of Cadmium Through Freshwater Trout Branchial Epithelium and its Interference with Calcium Transport”, J. Exp. Biol., **145**: 185-197, (1989).
- [37] Ay, Ö., Kalay, M., Tamer, L. and Canlı, M. “Copper and Lead Accumulation in Tissues of a Freshwater Fish *Tilapia zilli* and its Effects on the Branchial Na, K-ATPase Activity”, Bull. Environ. Contam. Toxicol. **62**: 160-168, (1999).
- [38] Kuhnert, P.M. and Kuhnert, B.R. “The Effect of in-vivo Chromium Exposure on Na, K and Mg ATPase Activity in Several Tissues of the Rainbow trout (*Salmo gairdneri*)”, Bull. Environ. Contam. Toxicol. **15** (4), 383-390, (1976).

- [39] Hilmy, A.M., Shabana, M.B. and Daabees, A.Y. "Bioaccumulation of Cadmium Toxicity in *Mugil cephalus*", Comp. Biochem. Physiol. C., **81(1)**: 139-143, (1985).
- [40] Hilmy, A.M., El Domiaty, N. A., Daabees, A.Y. and Abdel Latife, H.A. "Some Physiological and Biochemical Indices of Zinc Toxicity in two Freshwater Fishes, *Clarias lazera* and *Tilapia zilli*", Comp. Biochem. Physiol. C., **87(2)**: 297-301, (1987).
- [41] Dhanapakiam, P. and Ramasamy, V.K. "Toxic Effects of Copper and Zinc Mixtures on some Haematological and Biochemical Parameters in Common Carp, *Cyprinus carpio* (L.)", J. Environ. Biol., **22 (2)**: 105-111, (2001).
- [42] Nemcsok, J.G. and Hughes G.M. "The Effect of Copper Sulphate on some Biochemical Parameters of Rainbow Trout", Environ. Poll., **49**: 77-85, (1988).
- [43] Grobler, E., Du Perez, H.H. and Van Vuren, J. H. J. "The Toxic Effect of Zinc and Iron on the Routine Oxygen Consumption of *Tilapia sparmanii* (Cichilidae)", Comp. Biochem. Physiol., **94(1)**: 207-214, (1989).
- [44] Grosell, M., McDonald, M.D, Wood, C.M. and Walsh, P.J. "Effects of Prolonged Copper Exposure in the Marine Gulf Toadfish (*Opsanus beta*) I. Hydromineral Balance and Plasma Nitrogenous Waste Products", Aquatic Toxicology, **68**: 249-262, (2004).
- [45] Arellano, J.M., Storch, V. and Sarasquete, C. "Histological Changes and Copper Accumulation in Liver and Gills of the Senegales Solea, *Solea senegalensis*", Ecotoxicol. and Environ. Safe., **44**: 62-72, (1999).
- [46] Dethloff, G.M., Bailey, H.C. and Maier, K.J. "Effects of Dissolved Copper on Select Hematological, Biochemical and Immunological Parameters of Wild Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)", Arch. Environ. Contam. Toxicol., **40**: 371-380, (1999).
- [47] Venkataramana, P. and Radhakrishnaiah, K. "Copper Influenced Changes in Lactate Dehydrogenase and G-6-PDH Activities of Freshwater Teleost, *Labeo rohita*", Arch. Environ. Contam. Toxicol., **67**: 247-263, (2001).
- [48] Ansari, I.A. "Studies on the Toxicity of Copper Sulphate on *Channa punctatus* and *Mystus vittatus*; Determination of LC₅₀ Values", Accttaciencis India, **10**: 154-160, (1984).

- [49] Dubale, M.S. and Shah, P. “Biochemical Alterations in the Liver of *Channa punctatus*”, Environ. Res., **26**: 110-118, (1981).
- [50] Beaumont, M.W., Butler, P.J. and Taylor, E.W. “Exposure of Brown Trout *Salmo trutta*, to a Sublethal Concentration of Copper in Soft Acidic Water, Effects upon Muscle Metabolism and Membrane Potential”, Aquat. Toxicol., **51**: 259-272, (2000).
- [51] McKim, J. M., Christensen, G. M. and Hunt, E. P. “Changes in the Blood of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) After Short-Term and Long-Term Exposure to Copper”, J. Fish Res. Bd. Can., **27**: 1883-90, (1970).
- [52] Christensen, G.M., Mckim, J.M., Brungs, W.A. and Hunt, E.P. “Changes in the Blood of the Brown Bullhead (*Ictalurus nebulosus* (Lesueur)) Following Short and Long Term Exposure to Copper (II)”, Toxicol. and Appl. Pharmacol., **23**: 417-427, (1972).
- [53] Heath, A.G. “Effect of Water-Borne Copper on Physiological Responses of Bluegill (*Lepomis macrochirus*) to Acute Hypoxic Stres and Subsequent recovery”, Comp. Biochem. Physiol., **C, 100**: 559-564, (1991).
- [54] Pelgrom S.M.G.J, Lamers L.P.M, Lock R.A.C, Balm P.H.M. and Wendelaar Bonga, S.E. “Interactions Between Copper and Cadmium Modify Metal Organ Distribution in Mature Tilapia *Oreochromis mossambicus*”, Environmental Pollution, **90**: 415-423, (1995).
- [55] Mazon, A.F., Monteiro, E.A.S., Pinheiro, G.H.D. and Fernandes, M.N. “Hematological and Physiological Changes Induced by Short-term Exposure to Copper in the Freshwater Fish, *Prochilodus scorfa*”, Braz. J. Biol., **62 (4A)**: 621-631, (2002).
- [56] Pelgrom,S.M.G.J., Lamers L.P.M., Garritsen, J.A.M., Pels, B.M., Lock R.A.C., Balm P.H.M. and Wendelaar Bonga, S.E. “Interactions Between Copper and Cadmium During Single and Combined Exposure in Juvenile Tilapia, *Oreochromis mossambicus*; Influence of Feeding Condition on Whole Body Metal Accumulation and the Effect of the metals on Tissue Water and Ion Content”, Aquatic Toxicol., **30**: 117-135, (1994).
- [57] Almeida, J.A., Novelli, E.L.B., Dal Pai Silva, M. and Alves-Junior, R. “Environmental Cadmium Exposure and Metabolic Responses of the Nile

- Tilapia, *Oreochromis niloticus*”, Environmental Pollution, **114(2)**: 169-175, (2001).
- [58] Larsson, A., Haux, C. and Sjöbeck, M.L. “Fish Physiology and Metal Pollution: Results and Experiences from Laboratory and Field Studies”, Ecotoxicology and Environmental Safety, **9**: 250-281, (1985).
- [59] Rajkumar, R. and Das, S.S.M. “Effect of Copper Intoxication on Muscle glycogen Levels in *Oreochromis mossambicus*”, Environ. Ecol., **9**: 1-3, (1991).
- [60] Ali, A., Al-Ogaily, S.M., Al-Asgah, N.A. and Gropp, J. “Effect of Sublethal Concentrations of Copper on the Growth Performance of *Oreochromis niloticus*”, J. Appl. Ichthyol., **19**: 183-188, (2003).
- [61] Canlı, M. “Effect of Mercury, Chromium and Nickel Glycogen Reserves and Protein Levels in Tissues of *Cyprinus carpio*”, Turk. J. Zoology, **20**: 161-168, (1996).
- [62] James, R. and Sampath, K. “Sublethal Effects of Mixtures of Copper and Amonia on Selected Biochemical and Physiological Parameters in the Catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch)”, Ind. J. Exp. Biol., **30**: 496-499, (1995).
- [63] Tort, L., Torres, P. and Flos, R. “Effects on Dogfish Haematology and Liver Composition After Acute Copper Exposure”, Comp. Biochem. Physiol. C, **87(2)**: 349-353, (1987).
- [64] Jana, S. and Sahana, S.S “Effects of Copper, Cadmium and Chromium Cations on the Freshwater Fish *Clarias batrachus* L”, Physiol. Bohemoslov., **37(1)**: 79-82, (1988).
- [65] Svobodova, Z., Vykusova, B. and Machova, J. “The Effects of Pollutants on Selected Haematological and Biochemical Parameters in Fish”, In: R. Müller & R. Lloyd (eds.), Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish, Fishing News Boks, London, (1994).
- [66] Lauren, D.J. and McDonald, D.G. “Effects of Copper on Brachial Ionoregulation in the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson”, J.Comp. Physiol. B, **155**: 635, (1985).
- [67] Kalay, M. “The Effect of Cadmium on the Levels of Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ and Mg⁺⁺ in Serum of *Tilapia nilotica* (Linnaeus, 1758)”, Ekoloji, **59(15)**: 1-7, (2006).

- [68] Ricard, A.C., Daniel, C., Anderson, P. and Hontela, A. “Effects of Subchronic Exposure to Cadmium Chloride on Endocrine and Metabolic Functions in Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*”, Arch. Environ. Contam. Toxicol., **34(4)**: 377-381, (1998).
- [69] Vosyliene, M. Z. “The Effect of Heavy Metals on Hematological Indices”, Acta Zoologica Litvanica Hydrobiologia, **9**: 76-82, (1999).
- [70] Singh H.S. and Reddy T.V. “Effect of Copper Sulfate on Hematology, Blood Chemistry and Hepato-Somatic Index of and Indian Catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), and its Recovery”, Ecotoxicol. Environ. Safe., **20**: 30-35, (1990).
- [71] Gill, T. S., Leitner, G., Porta, S., and Epple, A. “Response of Plasma Cortisol to Environmental Cadmium in the Eel, *Anguilla rostrata* LeSueur”, Comp. Biochem. Physiol C., **104 (3)**: 489-495, (1993).
- [72] Cerqueria, C.C. and Fernandes, M.N. “Gill Tissue Recovery after Copper Exposure and Blood Parameter Responses in the Tropical Fish *Prochilodus scorfa*”, Toxicol. Environ. Safe., **52**: 83-91, (2002).
- [73] DeBoeck, G., Gossel, M. and Wood, C. “Sensitivity of the Spiny Dogfish (*Squalus acanthias*) to Waterborne Silver Exposure”, Aquat. Toxicol., **54**: 261-275, (2001).
- [74] Cyriac, P.J., Antony, A. and Nambiasan, P.N.K. “Hemoglobin and Hemotocrit Values in the Fish *Oreochromis mossambicus* (Peters) After Short Term Exposure to Copper and Mercury”, Bull. Environ. Contam. Toxicol., **43**, 315-320, (1989).
- [75] Brown, B. and Ahsanullah, M. “Effect of Heavy Metals on Mortality and Growth”, Mar. Poll. Bull., **2(12)**: 182-187, (1971).
- [76] Tort, L., Torres, P. and Hidalgo, J. “Short-Term Cadmium Effects on Gill Tissue Metabolism”, Mar. Poll. Bull., **15(12)**: 448-450, (1984).
- [77] Wedemeyer, G.A. and Yasutake, W.T. “Clinical Methods for the Assessment of the Effects of Environmental Stres of Fish Health”, United States Technical Papers and United States Fish Wildlife Services, **89**: 1-18, (1977).
- [78] Roberts, R.J. “Fish Pathology”, Bailyere Tindalla Division of Ltd”. Printed in Great Britain at the University Pres, Aberdeen, pp318, London, (1978).

- [79] Konuk, T. “Pratik Fizyoloji I”, A.Ü. Veteriner Fakültesi Yay. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara,181 s., (1981).
- [80] Gürgün, V. ve Halkman, A.K. “Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri”, Gıda Teknolojisi Derneği Ankara, Yayın No 7: 146 s.,(1988).
- [81] Plummer, D.T. “Practical Biochemistry”, McGraw Hill Book Company Ltd., England, pp.369, (1971).
- [82] Rohlf, J.F. and Sokal, R.R. “Statistical Tables”, W.H. and Freeman and Company, San Francisco, 253pp, (1969).
- [83] Sokal, R.R. and Rohlf, J.F. “Biometry”, W.H. Freeman and Company, San Francisco, 776 pp, (1969).
- [84] Thomas, D.G., Brown, M.W., Shurben, D., Solbe, J.F.D.G., Cryer, A. and Kay, J.A. “A Comparison of the Sequestration of Cadmium and Zinc in the Tissues of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*)”, Comp. Biochem. Physiol., **82C(1)**: 55-62, (1985).
- [85] Sağlamtimur, B., Cıçık., B. and Erdem, C. “Effects of Different Concentrations of Copper + Cadmium Mixture on the Accumulation of Copper in the Gill, Liver, Kidney and Muscle Tissues of *Oerochromis niloticus* (L.)”, Turk. J. Anim. Sci. **27**: 813-820, (2003).
- [86] Erdem, C. ve Kargın, F. “*Cyprinus carpio* ile *Tilapia nilotica*’nın Karaciğer, Dalak, Barsak, Solungaç ve Kas Dokularındaki Bakır Birikiminin Karşılaştırmalı Olarak Araştırılması”, Biyokimya Dergisi, **7(1)**: 13-27, (1992).
- [87] Cıçık, B. ve Erdem, C. “*Tilapia nilotica*’da Bakırın Karaciğer ve Kas Dokularındaki Nicel Protein Derişimlerine Etkileri”, Biyokimya Dergisi, **7(1)**: 51-64, (1992).
- [88] Toguyeni, A., Fauconneau, B., Boujard, T., Fostier, A., Kuhn, E.R., Mol, K.A. and Baroiller, J.F. “Feeding Behaviour and Food Utilisation in *Tilapia, Oreochromis niloticus*: Effect of Sex Ratio and Relationship with the Endocrine Status”, Pyhsiol. Behavior, **62**: 273-279, (1997).
- [89] Martinez, M., Del-Romo, J., Torreblanca, D.M. and Pastor, A. “ Presence of Cd Binding Proteins in Pre-Exposed and Not Pre-Exposed Cd Brine Shrimp *Artemia*”, Toxicol. and Environ. Chem., **31**: 417-424, (1991).

- [90] Khunyakari, R.P., Tare, V. and Sharma, R.N. “Effects of Some Trace Heavy Metals on *Poecilia reticulata* (Peters)”, J. Environ. Biol., **22(2)**: 141-144, (2001).
- [91] Pagenkopf, G.K. “Gill Surface Interaction Model for Trace-Metal Toxicity to Fishes: Role of Complexation, pH and Water Hardness”, Environ. Sci. Technol., **17(6)**: 342-347, (1983).
- [92] Cusimano, R.F., Brakke, D.F. and Chapman, G.A. “Effects of pH on the Toxicities of Cadmium, Copper and Zinc to Steelhead Trout (*Salmo gairdneri*)”, Can. J. Fish. Aquat. Sci., **43**:1497-1503, (1986).
- [93] Santos, M.A. and Hall, A. “Influence of Inorganic Lead on the Biochemical Blood Composition of the eel, *Anguilla anguilla* L”, Ecotoxicol. Environ. Safe. **20(1)**: 7-9, (1990).
- [94] Benson, W.H., Baer, K. N., Stackhouse, R.A. and Watson, C.F. “Influence of Cadmium Exposure on Selected Hematological Parameters In Freshwater Teleost *Notemigonus crysoleucas*”, Ecotoxicol. Environ. Safe., **13(1)**: 92-96, (1987).
- [95] Cicik, B. and Engin, K. “The Effects of Cadmium on Levels of Glucose in Serum and Glycogen Reserves in the Liver and Muscle Tissues of *Cyprinus carpio* (L.,1758)”, Turk. J. Vet. Anim. Sci., **29**: 113-117, (2005).
- [96] Chan, H.M. and Cherian, M.G. “Protective Roles of Metallothionein and Glutathione in Hepatotoxicity of Cadmium”, Toxicology, **72**: 281-290, (1992).
- [97] Noel-Lambot, F., Gerday, C.H. and Disteché, A. “Distribution of Cd, Zn and Cu in Liver and Gills of the Eel *Anguilla anguilla* with Special Reference to Metallothioneins”, Comp.Biochem. Physiol.C, **61(2)**: 177-187, (1978).
- [98] Perkins, E.J., Griffin, B., Hobbs, M., Gollon, J., Wolford, L. and Schlenk, D. “Sexual Differences in Mortality and Sublethal Stress in Channel Catfish Following a 10 week Exposure to Copper Sulfate”, Aquatic Toxicol., **37**: 327-339, (1997).
- [99] Fletcher, P.E. and Fletcher, G.L. “Zinc and Copper Binding Proteins in the Plasma of Winter Flounder (*Pseudopleuronectes americanus*)”, Can.J.Zool., **58**: 609-613, (1980).

- [100] Jana, S., Sahana, S.S., Choudhuri, M.A. and Choudhuri, D.K. “Heavy Metal Pollution Induced Changes in Some Biochemical Parameters in the Freshwater Fish *Clarias batrachus* L”, *Acta Physiologica Hungarica*, **68(1)**: 39-43, (1986).
- [101] Sahana, S.S., Jana, S., Choudhuri, M.A. and Choudhuri, D.K. “Hg (II)-Induced Changes in Some Biochemical Parameters in the Freshwater Fish *Clarias batrachus*”, *Physiologia Bohemoslovaca*, **35(1)**: 81-85, (1986).
- [102] Sastry, K.V. and Subhadra, K.M. “Effect of Cadmium on Some Aspects of Carbohydrate Metabolism in a Freshwater Catfish *Heteropneustes fossilis*”, *Toxicol. Lett.*, **14(1-2)**: 45-55, (1982).
- [103] Cıçık, B. “*Tilapia nilotica*’da Bakırın Karaciğer ve Kas Dokularındaki Nicel Protein Değişimlerine Etkileri”, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 52s.
- [104] Hilmy, A.M., Shabana, M.B. and Daabees, A.Y. “Effects of Cadmium Toxicity upon the in vivo and in vitro Activity of Proteins and Five Enzymes in Blood Serum and Tissue Homogenates of *Mugil cephalus*”, *Comp. Biochem. Physiol. C.*, **81(1)**: 145-153, (1985).
- [105] DeSmet, H. and Blust, R. “Stress Responses and Changes in Protein Metabolism in Carp *Cyprinus carpio* during Cadmium Exposure”, *Ecotoxicol. Environ. Safe*, **48(3)**: 255-262, (2001).
- [106] Segner, H. “Response of Fed and Starved Roach, *Rutilus rutilus*, to Sublethal Copper Contamination”, *J. Fish Biol.*, **30**: 423-437, (1987).
- [107] Lauren, D.J. and McDonald, D.G. “Acclimation to Copper by Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*)”, *Biochem. Can. J. Fish Aquat. Sci.*, **44**: 105-111, (1987).
- [108] McDonald, D.G., Reader, J.P. and Dalziel, T.R.K. “The Combined Effects of pH and Trace Metals on Fish Ionregulation”, In: Acid Toxicity and Aquatic Animals” (Edited by Morris R., Taylor, E.W and Brown, J.A.) *Soc. Exp. Biol. Semin. Ser.*, Vol. **31**: 221-242, Cambridge University Pres, (1989).
- [109] McDonald, D.G. and Wood, C.M. “Branchial Mechanisms of Acclimation To Metals in Freshwater Fish”, In: Fish Ecophysiology (Edited By Rankin, J.C. and Jensen, F.B.) *Fish and Fisheries Series*, **9**: 297-321, Chapman and Hall., London, (1993).

- [110] Lionetto, M.G., Giordano, M.E., Vilella, S. and Schettino, T. "Inhibition of Eel Enzymatic Activities by Cadmium", *Aquatic Toxicology*, **48 (4)**: 561-571, (2000).

ÖZGEÇMİŞ

25.10.1976 yılında Erdemli’de doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Erdemli de tamamladım. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Tıbbi Laboratuvar Bölümünden “Sağlık Teknikeri” ünvanı ile mezun oldum. 1998 yılında Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’nde lisans eğitimime başladım ve 2002 yılında fakülteden birincilik derecesi ile mezun olarak “Su Ürünleri Mühendisi” ünvanı aldım. 2002 yılında ME.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Ana Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladım. Halen Devlet Hastanesinde sağlık teknikeri olarak görev yapmaktayım.