

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Burcu YEŞİLBUDAK

AĞIR METALLERİN *Lymnaea stagnalis* VE *Clarias gariepinus*'DA ÇEŞİTLİ
FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE
ETKİLERİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2017

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AĞIR METALLERİN *Lymnaea stagnalis* VE *Clarias gariepinus*'DA ÇEŞİTLİ
FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Burcu YEŞİLBUDAK

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez .../.../2017 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Cahit ERDEM
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Bedii CİCİK
ÜYE

.....
Prof. Dr. Ferit KARGIN
ÜYE

.....
Doç. Dr. Özcan AY
ÜYE

.....
Yrd. Doç. Dr. Mehmet SULANÇ
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi ve 2214/A TUBİTAK Bursu
Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FEF2012D14**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve
fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat
Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

AĞIR METALLERİN *Lymnaea stagnalis* VE *Clarias gariepinus*'DA ÇEŞİTLİ FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ

Burcu YEŞİLBUDAK

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Cahit ERDEM
Yıl: 2017, Sayfa: 157
Jüri : Prof. Dr. Bedii CİCİK
: Prof. Dr. Ferit KARGIN
: Doç. Dr. Özcan AY
: Yrd. Doç. Dr. Mehmet SULANÇ

Lymnaea stagnalis ve *Clarias gariepinus* ile yürütülen araştırmalarda türlerin bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri üzerine ağır metallerin etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Subletal derişimlerdeki bakır, nikel ve kurşunun etkisinde *L.stagnalis*'in üreme başarısı, doku enzim aktivitesi ve protein düzeyindeki değişimler 4 ve 42 günlük periyotlarda belirlenmiştir. Hepatopankreas, kas ve manto dokularındaki metal düzeyleri, total protein düzeyi, Na^+/K^+ -ATPaz ve Ca^{+2} -ATPaz aktivitesi değişimler spektrofotometrik yöntemlerle saptanmış ve aktivitelerinin kontrole oranla azaldığı saptanmıştır. Subletal Cu, Ni ve Pb derişimlerinin etkisi *L. stagnalis*'de açılan yumurta sayısını kontrole oranla azaltırken, derişimlerin azaltılması ya da ortadan kaldırılması yumurta açılımı üzerine olan negatif etkiyi sürdürmüştür.

Selenyum, çinko ve nikelin kombinasyonlarının 7 ve 14 gün süreli etkisinde *C. gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki birikim düzeyleri ile bu süreyi izleyen 7 günlük periyotta doku eliminasyon düzeyleri ile total protein ve Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesindeki değişimler spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Metal birikimi etkide kalma süresindeki artışa paralel olarak artarken, eliminasyon sürecinde doku metal düzeylerinde azalma saptanmıştır. Metal etkisi total protein düzeyinde süreye ve metale bağlı olarak değişimlere neden olurken, Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrole göre azalma göstermiş, eliminasyon sürecinde total protein düzeyi ve enzim aktivitesi artmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ağır Metal, *Lymnaea stagnalis*, *Clarias gariepinus*, Enzim Aktivitesi, Protein.

ABSTRACT

PhD THESIS

EFFECTS OF HEAVY METALS ON SOME PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *Lymnaea stagnalis* AND *Clarias gariepinus*

Burcu YEŞİLBUDAK

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Supervisor : Prof. Dr. Cahit ERDEM
Year: 2017, Pages: 157
Jury : Prof. Dr. Bedii CİCİK
: Prof. Dr. Ferit KARGIN
: Assoc. Prof. Dr. Özcan AY
: Assist. Prof. Dr. Mehmet SULANÇ

The aims of the present study were to determine the effects of heavy metals on some physiological and biochemical parameters of *Lymnaea stagnalis* and *Clarias gariepinus*. Reproductive success, tissue protein levels and enzyme activities were determined under the effect of Cu, Ni and Pb over 4 and 42 days. Metal and total protein levels and Na⁺/K⁺-ATPase and Ca²⁺ATPase activities were determined using spectrophotometric methods in hepatopancreas, muscle and mantle tissues, all of which decreased compared to control levels. Sublethal levels of Cu, Ni and Pb decreased the reproductive success while decreasing or eliminating the effects of metals did not have any positive effect on the numbers of eggs hatching.

Accumulation of selenium, zinc and nickel in gill liver and kidney tissues of *C. gariepinus* after exposure to sublethal levels of metals over 7 and 14 days and metal depuration for 7 days after 14 days of exposure in metal free water were determined together with changes in total protein levels and Na⁺/K⁺-ATPase activities. Metal accumulation increased with exposure period and decreased to a certain level during the elimination period, level during one week of depuration period but not eliminated to the control level. Tissue total protein levels differed depending on exposure period and metal, whereas Na⁺/K⁺-ATPase activities decreased compared to control. Both total protein levels and enzyme activities increased at the end of depuration period.

Key Words: Heavy metal, *Lymnaea stagnalis*, *Clarias gariepinus*, Enzyme activity, Total protein.

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Ekosistemlerde madde ve enerji akışı besin zinciri aracılığı ile gerçekleşmektedir. Bu sistemlerin yapısal bileşenlerinde gerçekleşebilecek herhangi bir olumsuzluk bu zincir aracılığı ile üst düzeylere katlanarak aktarılmaktadır. Bu olumsuz faktörler arasında çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik etmenleri saymak olasıdır. Kimyasal etmenlerden ağır metallerin organizmalardaki birikimi çeşitli metabolik, fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda değişikliklere ve hatta mortaliteye neden olabilmektedir. Bu araştırmada da materyal olarak zincirin farklı halkalarında yer alan herbivor *L. stagnalis* ile omnivor *C. gariepinus* kullanılarak bazı ağır metallerin (Cu, Pb, Ni, Zn, Se) bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

L.stagnalis'in eser düzeylere duyarlı olduğu bakırın 10 ppb, nikel ve kurşunun 40 ppb derişimindeki F₁ dölü salyangozlarının 42 gün süreli etkisinde yumurtadan çıkma sayıları ile 4 ve 42 gün süreli ergin dönemli salyangoz hepatopankreas, kas ve manto dokularındaki Na⁺/K⁺-ATPaz, Ca⁺²ATPaz enzim aktiviteleri ile toplam protein düzeyleri belirlenmiştir.

C. gariepinus ile yapılan deneylerde ise nikel 2 ppm, selenyum ve çinkonun 5 ppm derişiminde tek başlarına ve bu metallerin ikili ve üçlü kombinasyonlarının etkisinde 7 ve 14 gün sürelerle solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki birikim düzeyleri ile bunu izleyen 7 günlük eliminasyon sürecinde metal düzeyleri saptanmıştır. Ek olarak metal etkisinde incelenen dokularda Na⁺/K⁺-ATPaz aktiviteleri ile toplam protein düzeyindeki derişimler belirlenmiştir.

Dokulardaki metal ve toplam protein düzeyleri ile Na⁺/K⁺-ATPaz, Ca⁺²ATPaz aktivitelerinin belirlenmesinde spektrofotometrik yöntemler kullanılmıştır. Deney verilerinin istatistik analizlerinde kullanılan regresyon analizi, varyans analizi, t-testi ve Student - Newman Keul's (SNK) testleri SPSS-23 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

L. stagnalis ile yapılan ön denemelerde türün yumurta kesesi bırakımı için üst limitin bakırda 10 ppb, Pb ve Ni'de ise 40 ppb olduğu saptanmıştır. Bakır, nikel ve kurşunun subletal derişimlerinin etkisi *L. stagnalis*'de açılan yumurta sayısını kontrole oranla azaltırken, incelenen metallerin derişimlerinin azaltılması ya da metal etkisinin ortadan kaldırılması yumurta açılımı üzerine olan negatif etkiyi sürdürmüştür. Doku toplam protein düzeyi kontrole ve etkide kalma süresindeki artışa paralel olarak azalma göstermiştir. İncelenen metaller belirlenen sürelerde hepatopankreas, manto ve kas dokularında Na^+/K^+ -ATPaz ve Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitelerini kontrole oranla azaltmıştır.

C. gariepinus'da Se, Ni ve Zn'nin belirlenen derişimlerinin 7 ve 14 gün sürelerle etkisi solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki metal birikimini kontrole oranla önemli düzeyde artırmıştır. Dokulardaki birikim metale ve dokuya bağlı olarak değişim göstermiştir. En fazla Ni ve Zn birikimi sırasıyla salt Ni ve Ni+Se+Zn etkisinde böbrekte olurken, Se birikimi Se+Ni etkisinde karaciğerde olmuştur. 14 günlük birikim süreci sonundaki metal düzeyleri, izleyen 7 günlük eliminasyon süreci sonunda düşme göstermiş, ancak kontrol düzeyinin üzerinde kalmıştır. Eliminasyon periyodunda 14. güne oranla en fazla Ni atılımı salt Ni etkisinde böbrek dokusunda olurken, Se ve Zn atılımı Se+Ni+Zn karışımı etkisinde sırasıyla solungaç ve böbrek dokularında olmuştur.

14 günlük birikim periyodunda doku toplam protein düzeylerindeki değişimler dokuya, metalin tek veya karışım halinde bulunmasına ve süreye bağlı olarak değişim göstermiştir. Metal etkisi toplam protein düzeyinde süreye ve metale bağlı olarak değişimlere neden olurken, Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrole göre azalma göstermiş, eliminasyon sürecinde toplam protein düzeyi ve enzim aktivitesi artmıştır. Tüm metal ve kombinasyonları etkisinde 7 ve 14 günlük birikim süreçlerinde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrole göre azalma gösterirken, eliminasyon sürecinde artış göstermiştir. Bu artış ve azalmalar dokular arasında ayırım göstermiştir.

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamda bilimsel desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Cahit ERDEM'e ve sayın hocalarım Prof. Dr. Bedii CİCİK, Prof. Dr. Ferit KARGIN'a ve Doç. Dr. Özcan AY'a teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Doktora çalışmalarım esnasında üniversite olanaklarından yararlanmamı sağlayan Ç.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne ve Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca yurt dışı Doktora sırası araştırma burs programından yararlanmamı sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) ve verdikleri destekten ötürü Türkiye Çevre Koruma Vakfı'na (TÜÇEV) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XIV
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XVIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	17
3. MATERYAL VE METOD.....	35
3.1. Materyal.....	35
3.1.1. <i>L. stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	35
3.1.2. <i>C. gariepinus</i> (Burchell,1822).....	35
3.2. Metod.....	36
3.2.1. <i>L. stagnalis</i> Bireylerinin F ₁ Dölü Salyangozlarının Yumurtadan Çıkma Sayısının Belirlenmesi.....	36
3.2.2. Ergin <i>L. stagnalis</i> Bireylerinin Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz, Ca ²⁺ ATPaz Enzim Aktivitesi ve Toplam Protein Analizi.....	39
3.2.3. <i>C. gariepinus</i> Doku Metal Analizi	40
3.2.4. <i>C. gariepinus</i> Doku Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz Aktivitesinin Belirlenmesi....	42
3.2.5. İnorganik Fosfat Tayini	43
3.2.6. Toplam Protein Analizi.....	44
3.2.7. Na ⁺ /K ⁺ - ATPaz Enzim Aktivitesinin Hesaplanması.....	46
3.2.8. İstatistiksel Analizler.....	46

4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	47
4.1. Bulgular.....	47
4.1.1. <i>L. stagnalis</i> F ₁ Dölü Salyangozlarının Yumurtadan Çıkma Sayıları.....	47
4.1.2. Ergin <i>L. stagnalis</i> Dokularındaki Toplam Protein Düzeyi ve Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz ile Ca ⁺² ATPaz Enzim Aktivitesi.....	51
4.1.3. <i>C. gariepinus</i> 'un Dokularındaki Ağır Metal Birikimi.....	57
4.1.4. Ağır metal Birikiminin <i>C. gariepinus</i> Doku Protein Düzeyine Etkisi.....	72
4.1.5. Ağır metal Birikiminin <i>C. gariepinus</i> Doku Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz Aktivitesine Etkisi.....	85
4.2. Tartışma.....	98
4.2.1. Eser Düzeydeki Ağır Metallerin <i>L. stagnalis</i> 'in Yumurta Kesesinden Çıkan Birey Sayılarına ve Toplam Protein ile Enzim Aktivitelerine Etkileri.....	98
4.2.2. <i>C. gariepinus</i> Dokularındaki Ağır Metal Birikiminin Toplam Protein Düzeyi ile Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz Aktivitesine Etkileri.....	101
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	117
5.1 <i>L. stagnalis</i>	117
5.2 <i>C. gariepinus</i>	118
KAYNAKLAR.....	119
ÖZGEÇMİŞ.....	157

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1.	Kültür ve deney akvaryumlarındaki suyun fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	37
Çizelge 3.2.	Deney akvaryumlarındaki suyun fiziksel ve kimyasal özellikleri ...	42
Çizelge 3.3.	Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz yöntemi	43
Çizelge 3.4.	Lowry yöntemi ile protein tayini	45
Çizelge 4.1.	Bakır, nikel ve kurşunun farklı derişimlerinin 4 ve 42 gün süreli etkisinde ergin <i>L. stagnalis</i> 'in hepatopankreas, kas ve manto dokularındaki toplam protein (mg/g y.a.) ile Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz ve Ca ⁺² ATPaz enzim aktivite düzeyi (µmol Pi/mg prot./sa).....	53
Çizelge 4.2.	Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç dokusundaki selenyum düzeyleri (µg Se/g k.a.).....	58
Çizelge 4.3.	Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un karaciğer dokusundaki selenyum düzeyleri (µg Se/g k.a.)	59
Çizelge 4.4.	Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un böbrek dokusundaki selenyum düzeyleri (µg Se/g k.a.).....	60

Çizelge 4.5.	Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç dokusundaki çinko düzeyleri ($\mu\text{g Zn/g k.a.}$).....	61
Çizelge 4.6.	Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un karaciğer dokusundaki çinko düzeyleri ($\mu\text{g Zn/g k.a.}$).....	62
Çizelge 4.7.	Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un böbrek dokusundaki çinko düzeyleri ($\mu\text{g Zn/g k.a.}$).....	63
Çizelge 4.8.	Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç dokusundaki nikel düzeyleri ($\mu\text{g Ni/g k.a.}$).....	64
Çizelge 4.9.	Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un karaciğer dokusundaki nikel düzeyleri ($\mu\text{g Ni/g k.a.}$).....	65

Çizelge 4.10.	Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un böbrek dokusundaki nikel düzeyleri ($\mu\text{g Ni/g k.a.}$).....	66
Çizelge 4.11.	Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	73
Çizelge 4.12.	Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un karaciğer dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	74
Çizelge 4.13.	Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un böbrek dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	74
Çizelge 4.14.	Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	76

Çizelge 4.15.	Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un karaciğer dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	76
Çizelge 4.16.	Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un böbrek dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	77
Çizelge 4.17.	Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	78
Çizelge 4.18.	Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un karaciğer dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	79
Çizelge 4.19.	Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un böbrek dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.)..	79

Çizelge 4.20.	Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).....	86
Çizelge 4.21.	Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un karaciğer dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).....	87
Çizelge 4.22.	Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un böbrek dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).....	87
Çizelge 4.23.	Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).....	88
Çizelge 4.24.	Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un karaciğer dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).....	89

Çizelge 4.25.	Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un böbrek dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).....	90
Çizelge 4.26.	Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).....	91
Çizelge 4.27.	Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un karaciğer dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).....	92
Çizelge 4.28.	Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde <i>C.gariepinus</i> 'un böbrek dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).....	93

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 4.1.	Bakır derişimleri etkisindeki F ₁ dölü <i>L. stagnalis</i> 'in yumurta keselerinden çıkma sayısı.....	48
Şekil 4.2.	Nikel derişimleri etkisindeki F ₁ dölü <i>L. stagnalis</i> 'in yumurta keselerinden çıkma sayısı.....	49
Şekil 4.3.	Kurşun derişimleri etkisindeki F ₁ dölü <i>L. stagnalis</i> 'in yumurta keselerinden çıkma sayısı.....	50
Şekil 4.4.	Ergin <i>L. stagnalis</i> 'de total protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine denenen derişimlerdeki bakır, nikel ve kurşunun 4 ve 42. günde etkileri	52
Şekil 4.5.	Ergin <i>L. stagnalis</i> 'de Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz aktivitesi (µmol Pi/mg prot./sa) üzerine denenen derişimlerdeki bakır, nikel ve kurşunun 4 ve 42. günde etkileri.....	55
Şekil 4.6.	Ergin <i>L. stagnalis</i> 'in dokularındaki Ca ⁺² ATPaz aktivitesi (µmol Pi/mg prot./sa) üzerine denenen derişimlerdeki bakır, nikel ve kurşunun 4 ve 42. günde etkileri.....	56
Şekil 4.7.	Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki selenyum düzeyleri (µg Se/ g k.a.).....	67
Şekil 4.8.	Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki selenyum düzeyleri (µg Se/ g k.a.).....	68
Şekil 4.9.	Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki çinko düzeyleri (µg Zn/ g k.a.).....	69
Şekil 4.10.	Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki çinko düzeyleri (µg Zn/ g k.a.)	70

Şekil 4.11.	Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki nikel düzeyleri ($\mu\text{g Ni/ g k.a.}$).....	71
Şekil 4.12.	Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki nikel düzeyleri ($\mu\text{g Ni/ g k.a.}$).....	71
Şekil 4.13.	Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde <i>C. gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	81
Şekil 4.14.	Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde <i>C. gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	81
Şekil 4.15.	Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	82
Şekil 4.16.	Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	83
Şekil 4.17.	Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	84
Şekil 4.18.	Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde <i>C.gariepinus</i> 'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).....	84

Şekil 4.19.	Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde <i>C. gariepinus</i> solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi/mg prot./sa}$).....	94
Şekil 4.20.	Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde <i>C. gariepinus</i> solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi/mg prot./sa}$).....	94
Şekil 4.21.	Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde <i>C. gariepinus</i> solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi/mg prot./sa}$).....	95
Şekil 4.22.	Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde <i>C. gariepinus</i> solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi/mg prot./sa}$).....	96
Şekil 4.23.	Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde <i>C. gariepinus</i> solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi/mg prot./sa}$).....	97
Şekil 4.24.	Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde <i>C. gariepinus</i> solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi/mg prot./sa}$).....	97



SİMGELER VE KISALTMALAR

ppm	: Milyonda bir
ppb	: Milyarda bir
k.a.	: Kuru ağırlık
mM	: Milimol
μm	: Mikrometre
μL	: Mikrolitre
mg	: Miligram
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat derece
cm	: Santimetre
μS	: Mikrosaniye
L	: Litre
$\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ - ATPaz	: Sodyum potasyum ATPaz enzimi
Ca^{+2} ATPaz	: Kalsiyum ATPaz enzimi
Pi	: İnorganik fosfat
Na_2ATP	: Adenozin5'-trifosfat disodyum hidrat tuzu
HCO_3	: Bikarbonat
KCl	: Potasyum klorür
MgCl_2	: Magnezyum klorür
NaCl	: Sodyum klorür
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
nm	: Nanometre
prot.	: Protein
Sa.	: Saat (h)
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
sp.	: Tür



1. GİRİŞ

Tarımsal ve endüstriyel faaliyetler sonucu özellikle sucul ekosistemlerde yüksek düzeylerde biriken ağır metal ve pestisid gibi kirleticiler ekolojik dengeyi olumsuz yönde etkilemektedir. Su organizmalarının bu kirleticilerle doğrudan ilişkide bulunmaları nedeniyle, besin zincirinde yer alan türlerin kontamine olmaması için sucul ekosistemlerin çeşitli yönleriyle korunması ve izleme çalışmalarının yapılması oldukça önemlidir. Bunun için de su ekosisteminde yaşayan kirlilik belirleyicisi türlerin çeşitli kirleticilere karşı duyarlılık sınırlarının saptanması, bu ekosistemlerde devamlılığın sağlanmasının yanı sıra insan sağlığı için de ayrıca önemlidir. Herhangi bir kirleticinin bulunduğu ortamda derişiminin normal düzeyinin üzerine çıkması, ortamda bulunan organizmalarda zararlı etkiler oluşturmaktadır (Erdem ve ark., 2005). Su ekosistemlerindeki kirliliğin önemli kaynaklarından birisini ağır metaller oluşturur (Alliot ve Frenet, 1990). Su ekosistemlerindeki nikel, çinko, kurşun, bakır, selenyum ve krom gibi ağır metallerin temel kaynaklarının sanayi atıklarının bileşikler olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Bu bileşikler sucul yaşam için oldukça toksik etkili kirleticilerdir (Sorensen, 1991; Heath, 1995; Real ve ark., 2003; Martinez ve ark., 2004; Shah, 2006).

Ağır metaller doğal bozulmaya dirençli olup dış yörüngelerinde benzer elektron dağılımına sahip ve yer kabuğunda doğal olarak bulunan bir grup elementten oluşurlar. Yoğunlukları suyun yoğunluğundan 4-5 kat büyük olup (Johnson, 1988; Donkin ve ark., 2000) sudaki metaller organik ve inorganik kimyasallar ile kompleks bileşikler oluşturabilmektedirler (Heath, 1995).

Sucul ortama giren ağır metaller; ortamdaki organizmalar tarafından vücuda alınabildikleri gibi yoğunluğa bağlı olarak dibe çökerek sedimentte birikmekte ya da askıda partiküllerle kompleks oluşturabilmektedirler. Organizmalar metalleri solungaçlarındaki Ca^{+2} kanalları, dış örtüleri ya da sindirim

kanalı yolu ile alarak özellikle metabolik aktif dokularında biriktirmekte ve sonuçta besin zinciri aracılığı ile üst trofik düzeylere daha yoğun olarak aktarmaktadırlar (Hardersen ve Wratten, 1998; Altındağ ve Yiğit, 2005). Bu nedenle sucul ekosistemin ve organizmaların izlenmesi her geçen gün daha da önemli olmaktadır (Fatoki ve Mathabatha, 2001).

Gerek bakır, çinko, demir, mangan gibi organizmalarca iz miktarlarda gereksinim duyulan elementlerin, gerekse kurşun, kadmiyum, krom ve cıva gibi toksik elementlerin derişimleri belirli bir düzeyin üzerine çıkabilmektedir. Ortamdaki derişimleri artan bu metaller su organizmalarında ya doğrudan mortaliteye (Kargin ve Erdem, 1989) ya da çeşitli morfolojik, fizyolojik ve üreme bozukluklarına neden olabilmektedir (Kargin ve Erdem, 1991; Çiftçi ve ark, 2010). Ortamdaki metal derişimin artması organizmada çeşitli olumsuz etkilere yol açar. Bu etkiler arasında organizmanın hücre zarının geçirgenliğinin bozulması, ağır metallerin sülfidril (-SH) gruplarına bağlanması, ağır metallerin canlı için gereksinim duyulan iyonlarla rekabet ederek onların yerini alması ve fosfat gruplarıyla (aktif ATP grupları dahil) tepkimeye girmesi sayılabilir (Patra ve ark., 2004).

Nikel yer kabuğunun doğal bir bileşeni olup su ortamına toprak ve kaya erozyonundan, atmosferden, atık sulardan, yüzey ve yeraltı sularından girebilmektedir (Babukutty ve Chacko, 1995). Kirlenmemiş tatlısu ekosistemlerindeki nikel düzeyi sadece 1-10 ppb olmasına (Eisler, 1998) karşın elektrik kaplama, paslanmaz çelik üretimi, nikel ve kadmiyum içeren piller, madencilik, arıtma, pestisid üretimi vb. çeşitli endüstri kollarındaki yaygın kullanımı nedeni ile derişimi oldukça yüksek (1000 ppm) düzeylere çıkabilmektedir (Wong ve Wong, 1990; Galvin, 1996).

Nikel bileşikleri suda çözünebilen nikel tuzları, partikül nikel, yağda çözünen nikel karbonili olmak üzere üç kategoride bulunabilir. Nikelin farklı formlarının uzun süreli etkisinde kalan organizmalarda toksik etkiler gözlenebilmektedir. Organizmalarda kanser etkeni olan nikel formu partikül nikel

olurken bunu yağda çözünen nikel karbonili ve suda çözünebilen nikel tuzları takip etmektedir (Wright ve Welbourn, 2002).

Nikelin toksisitesi genel olarak düşük olup (Khangarot ve Ray, 1990), iz miktarlarda normal fizyolojik olaylar için siyanobakteriler, omurgasızlar ve omurgalılar, için gereklidir. Ancak yüksek derişimleri su organizmalarının çeşitli hücre sistemlerinde morfolojik değişimlere, kromozom bozukluklarına ve kan parametrelerinde değişime (Agraval ve ark., 1979; Farkas ve ark., 2002; Javed, 2003) neden olmaktadır. Buna ek olarak nikel bileşiklerinin düşük derişimleri DNA hasarına ve memelilerde kansere yol açabilmektedir(Wright ve Welbourn, 2002).

Sucul organizmalarda nikel alınımlı suyun sertliğine bağlıdır. Nikel toksisitesi su sertliği arttıkça azalır. Suda çözünen nikel tuzları organizmaya basit difüzyon veya Ca^{+2} kanalları yoluyla girer ve hücre dışı nikel derişimine eşit olana kadar hücre sitozolunda birikirler (Fletcher ve ark., 1994). Sitozol içinde nikel proteinlere ve düşük moleküler ağırlıklı ligandlara (sistin ve histidin gibi aminoasitler içeren yapılar) bağlanmaktadır. Suda çözünebilen nikelin yarı ömrü insanlarda 1-2 gündür. Uzun yıllar boyunca nikelin diğer metallerle kıyaslandığında toksik olmadığı düşünölmüştür. Fakat son yirmi yılda elde edilen kanıtlar bu düşöncenin değişmesine neden olmuştur. Son yıllardaki sanayileşme girişimleri ile diğer metal düzeylerinin artışı su ekosistemlerindeki nikelin toksisitesini maskeleye eğilimine neden olmuştur (Kszos ve ark., 1992).

Hem antropojenik hem de doğal kaynaklardan selenyumun su ekosistemlerindeki yayılımı çeşitlilik göstermektedir. Selenyum (Se) sucul habitatlarda okside olmuş selenat (Se^{+6}), selenit (Se^{+4}), element haldeki selenyum (Se^0) ve indirgenmiş selenid (Se^{-2}) şeklinde bulunan önemli bir metalloiddir. Her bir form sucul canlılarda farklı toksik etkilerine sahiptir. Selenyum, tam olarak karakterize olmamış biyotik ve abiyotik süreçler sonucunda, inorganik ve organik formlar arasında biyo-dönüşömler geçirmektedir (Sappington, 2002). Canlılarda metiyonin ve sistein gibi aminoasitlerle kompleks oluşturmaktadırlar. Selenyum

kömürde ve kömür yakan fabrika küllerinde, kömür dönüştürücü maddelerde, ham petrol, petrol yağı ve bunların yan ürünlerinde doğal olarak ise fosfat kayalarında bulunan bir element olup (Lemly, 1993; Bowie ve ark., 1996; Miller ve ark., 2007), organizmalar tarafından gereksinim duyulan bir iz elementtir. Glutatyon peroksidaz (GSHPx), iyodotironin ve S'-deiyodinaz ve hemoglobin, miyozin, sitokrom c ve çok sayıda ribonükleoproteinlerin yapısına girer (Wright ve Welbourn, 2002; Su ve ark., 2008). Protein sentezi ve DNA onarımında oksidatif strese karşı savunmada rol oynayan tiyoredoksin reduktaz'ın (bitki ve hayvansal organizmaların belli başlı okside olmuş moleküllerini dolaylı olarak indirger) yapısına katılır. Hayvansal organizmaların besinlerinde organoselenyum (selenoamino asit) bileşikleri besindeki selenyumun kimyasal bir formudur (Miller ve ark., 2007). Selenyumun 0.1 ppm den düşük derişimlerinde balıkların doku düzeyinde selenyum toksik etkileri görülürken, 10 ppm'i aşan düzeyleri toksik etkilerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Kirlenmemiş sularda yaşayan organizmalarda genel olarak 1 gram kuru ağırlıkta 0.1 - 4.7 mg selenyum bulunmaktadır. Düşük düzeylerde antikarsinojen ve antimutajen etkilerinin olmasına karşın yüksek düzeyleri genotoksisiteye neden olmaktadır (Bronzetti ve Della Croce, 1992). Balıklarda (Lemly, 1993) ve balıklarla beslenen kuşlarda (Ohlendorf ve ark., 1988) selenyumun embriyolojik bozukluklara yol açtığı ve yine balıklarda solungaç lamellerinde şişmeye ve kan parametrelerinde değişimlere neden olduğu belirtilmektedir (Sorensen ve ark., 1984). USEPA (1987) selenyumun düşük derişimlerde sucul ekosistem için toksik etki gösterebildiğini rapor etmiştir.

Çinko metal alaşımları, otomotiv üretiminde, ilaç yapımı, azotlu gübre, cam, çimento, plastik sentetik madde endüstrisinde oldukça fazla kullanılmaktadır (Shuilleabhain ve ark., 2004). Bu nedenle atık sularla iç sulara ulaşan çinko su ekosistemini etkilemektedir. Balıklar için önemli bir iz elementtir, çünkü çeşitli metabolik yollarda yer almaktadır. Çinko iz miktarlarda hücre bölünmesi, büyüme, doku onarımı, gonad gelişimi gibi çeşitli fizyolojik olaylar için gereksinim duyulan bir elementtir (Valee ve Falchuk, 1993). Çinkonun insan diyetinde önemli bir yeri

olup bütün dokularda bulunmakla birlikte 300'den fazla enzimin yapısına kofaktör olarak katılmaktadır. Alkalın fosfataz, alkol dehidrojenaz, Cu-Zn süperoksit dismutaz, karboksipeptidaz, d-aminolevulinik asit dehidrataz (ALAD), karbonik anhidraz, deoksiribonükleik asit polimeraz (DNA polimeraz alfa, DNA polimeraz III) ve ters transkriptaz (USEPA, 2005) bunlardan bazılarıdır. Çinkonun katalitik fonksiyonlara katılması, yapısal dengenin sürdürülmesi ve metabolik fonksiyonların düzenlenmesi gibi metalloenzimlerde üç ana işlevi vardır (USEPA, 2005). Çinko DNA ve RNA sentezinde, hücre bölünmesinde yer almaktadır.

Çinko sistein ve histidin amino asidinin kükürt ve imidazol azotuna bağlanır, kükürt ve azot atomları ile kararlı kompleksler oluşturarak proteinlerin üçüncül yapısını kuvvetlendirirler. Ayrıca çinkonun büyüme hormonunun ilgili reseptörlere bağlanma ilgisini arttırma, sinaptik uyarının iletimini ve metallothionein oluşumunu sağlamak gibi fizyolojik görevleri vardır (USEPA, 2005).

İnsanda çinko derişimi en fazla kemik, kas, prostat, karaciğer ve böbrekte olup, benzer dağılım hayvanlarda da rapor edilmiştir (USEPA, 2005). Vücuttaki toplam çinkonun % 10'undan azı kan plazmasından kolaylıkla alınırken, kemik ve kasdaki çinko oldukça yavaş alınmaktadır. Kandaki çinko kan plazmasında, eritrositler, lökositler ve trombositlerde bulunmaktadır. Yaklaşık olarak serumdaki çinkonun % 98'i proteinlere bağlanmıştır; bunun % 85'i albumine, % 12'si α_2 -makroglobuline ve geri kalanı da amino asitlere bağlanmıştır. Eritrositlerde çinko ağırlıklı olarak karbonik anhidraz (% 87) ve Cu, Zn-süperoksit dismutaz (% 5.4) enziminde ağırlıklı olarak bulunur (USEPA, 2005).

Çinko önemli bir iz elementtir (Dimari ve ark., 2008). Çinko balıklarda prostaglandin metabolizması ile bağlantılı olup nükleoproteinlerde yapısal rolü vardır. Çinko-gen etkileşimi üzerine yapılan bir çalışmada bu elementin balık büyümesi üzerine temel bir rolünün olduğu belirlenmiştir (Chesters, 1991). Fakat çinkonun subletal derişimleri balıklarda patolojik, morfolojik ve fizyolojik

bozukluklara yol açarken belirli bir derişimin üzerinde doğrudan mortaliteye neden olmaktadır (Heath, 1995; Clearwater ve ark., 2002). Çinko bakımından düşük diyetlerle beslenen kedi balıklarında yem alımında azalma, gelişimde duraklamaya bağlı olarak serum çinko derişimi ve kalsiyum düzeyinde azalma gözlenmiştir (Gatlin ve Wilson, 1983). Balıklar beslenme kaynaklarından olduğu kadar sudan da çinko ihtiyacını karşılarlar. Solungaçlar ve gastrointestinal sistem bu elementin alınımında temel görevi üstlenmektedir. Sudan çinkonun alınımının besin alımından çok, solungaçlarla gerçekleştiği belirtilmiştir (Spray ve ark., 1988).

Çinkonun sublethal derişimlerinin balıkta büyümeyi baskıladığı, yüzme koordinasyonunu, kan biyokimyasını ve osmoregülasyon sistemini bozduğu belirtilmiştir (Watson ve Beamish, 1981). Çinko etkisindeki *Tilapia zillii*'de serum asit fosfataz ve karaciğer alkalen fosfataz düzeylerinde azalma görüldüğü belirtilmiştir (Hilmy ve ark., 1988; Heath, 1995).

Çinkonun toksik etkisi geniş ölçüde suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlıdır. Toksisiteyi etkileyen temel faktörler suyun pH ve sertliğidir. Su sertliğindeki düşme ve pH değerindeki artış çözünmüş çinkonun letal etkilerini arttırmaktadır (Cusimano ve ark., 1986). Çinko doğal olmayan yollarla su ekosistemine girer ve yıllarca hiç bozulmadan kalarak balıklar ve makro omurgasızlar için toksik etkiler gösterebilmektedir (Folorunsho ve Oronsaye, 1990; Ajiwe ve ark., 2000; Nsofor ve ark., 2007). Potansiyel olarak *C. gariepinus* ve *C. lazera* için (Reader ve ark., 1989) toksik etkileri gözlenmiştir. Karaciğer ve böbrek çinkonun öncelikli olarak depolandıkları organlardır (Murugan ve ark., 2008).

Bakırın metabolik ve fizyolojik reaksiyonlara katılmasından dolayı metabolizmada önemli bir rolü vardır. Eser miktarlarının insan kaynaklı ya da doğal süreçlerle artması durumunda hücresel veya moleküler düzeyde yapısal, işlevsel bozukluklara ve hatta mortaliteye neden olduğu belirtilmiştir (Perkins ve ark., 1997). Hayvansal organizmalarda, askorbik asit oksidaz, sitokrom oksidaz, tirozinaz, lizil oksidaz gibi yaklaşık 30 kadar enzimde prostetik grup olarak bakır

bulunmaktadır. Bunun yanında seruloplazmin, hepatokuprein, hemosiyanin gibi proteinlerde ise yapısal bileşimde bakır bulunmaktadır (Arellano ve ark., 1999).

Bakırın balıklarda solungaç, lamellerinin epitel dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesini azaltarak hipertrofiye, elektrolit miktarını azaltarak dolaşım sisteminin bozulmasına, hemoglobinin oksijen transfer kapasitesini azaltarak doku düzeyinde hipoksiyaya (Heath, 1995; Handy, 2003), karaciğer hücrelerinde hiperplasiye, hücrelerdeki stoplazmik vakuol ve lizozomal veziküllerin sayısındaki artışa bağlı olarak hipertrofiye, endokrin sistemin etkilenmesi ile de protein ve karbonhidrat metabolizmasında değişikliklere neden olduğu saptanmıştır (Vijayan ve ark., 1997).

Bakır, solunumda elektron taşınım fonksiyonlarının yürütüldüğü mitokondri için oldukça önemli olması nedeniyle (Mehta ve ark., 2006) hayvan ve insan sağlığı açısından oldukça önemli esansiyel bir metaldir. Bakırın uzun süreli düşük derişimlerin etkisinde bırakılan balıkların metabolik bakımdan aktif organlarında bakırın yüksek düzeyde biriktiği gözlenmiştir (McGeer ve ark., 2000). Çeşitli balık türleri ile yapılan deneylerde en yüksek bakır birikimi karaciğer, solungaç, böbrek gibi doku ve organlarda gözlenmiştir. Bakır etkisinin artması ile kas, beyin, ovaryum ve testiste de önemli düzeyde bakır birikimi belirlenmiştir (Cicik, 2003). Doğal tatlısu habitatlarındaki bakır derişimi yaklaşık olarak 2-3 ppb arasında değişimler göstermektedir (Wedephol, 1970). Bakırın maden yataklarından doğal yolla çözülerek sucul ekosistemlere ulaşması sonucu bazı türlerin ciddi anlamda etkilendiği belirtilmiştir (Thorton, 1979). Bakır madenlerinden çözülerek tatlısu kaynaklarına gelen bakır derişimi 50 ppb olarak ölçülmüştür (USEPA, 2003). Aşırı derecede kirletilmiş olan tatlısu habitatlarında ise bakır derişiminin 100 ppb olarak ölçüldüğü belirtilmiştir (Real ve ark., 2003).

Kurşunun canlılarda biyolojik bir işlevi saptanamamıştır. Daha çok madencilik, petro-kimya ve boya sanayinin atıkları gibi antropojenik etkilerle su ekosistemlerine ulaşmakta canlılar üzerine mortalite de kapsamda olmak üzere çeşitli zararlı etkilere neden olmaktadır (Sorensen, 1991; Heath, 1995).

Balıklarda kurşunun toksik etkisi memelilerdekine benzerlik göstermektedir. Kurşun etkisinde balıkta başta kaudal yüzgeçte kararma, omurgada deformasyonlar, mukus salgısıyla solungaçların kaplanması, pigment yapısında anomalilikler gibi morfolojik değişikliklerle, hematolojik ve nöral bozukluklar ile kas spazmları görülmektedir (Sorensen, 1991; Tulasi ve ark., 1992; Heath, 1995; Martinez ve ark., 2004; Shah, 2006).

Ağır metallerin dokulardaki birikimi metale (Allen ve Harsen, 1996), ortam derişimine (Gill ve ark., 1992), metal etkileşimine (Förstner ve Wittmann, 1981; Sağlamtimur ve ark., 2003), türe (Erdem ve Kargın, 1992), organizmanın gelişme evresine (Beaumont ve ark., 2000) ve ortamın çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklerine (Pagenkopf, 1983; Witeska ve Jezierska, 2003) göre değişim göstermektedir. Metaller arasındaki etkileşimler değişim gösterebilmekte, iki veya daha fazla metal karışımın etkileri sinerjik ya da antagonist olabilmektedir (Daka ve Hawkins, 2006). Karışım halindeki metallerin ortamdaki miktarlarına bağlı olarak birbiri ile rekabete girebileceği ve dokularda da bu rekabete göre birikebileceği belirtilmiştir (Witeska ve Jezierska, 2003).

Organların uyum içinde çalışması fizyolojik homeostazinin temelini oluşturur. Solungaç, böbrek ve bağırsak balıklarda hidromineral homeostaziyi organize eden temel organlardır. Karaciğer ise osmoregülasyondan sorumlu temel organ olmayıp, çeşitli fizyolojik durumlar altında metabolik homeostaziden sorumludur (Babitha ve Peter, 2010).

Solungaçlar balıklarda ağır metalleri almada önemli rol oynarlar. Solungaçlar geniş yüzey alanları ile dış ortamdan doğrudan etkilendiğinden ağır metallerin ilk biriktiği organdır (Amundsen ve ark., 1997). Karaciğer toksik maddelerin biyo-dönüşümlerinde ve akümüle edilmesinde en önemli hedef organdır. Bu nedenle zararlı maddelerin etkisinde daha fazla kalmaktadır (Heath, 1995). Karaciğerin ağır metallerin tolere edilmesinde önemli bir yeri olmasının yanı sıra (Grosell ve ark., 1998), böbreklerin de toksik etkili maddelerin atılımında önemli bir görevi vardır. Ağır metaller böbreklerin işlevlerinin bozulmasına ve

tümörlerin oluşmasına neden olduğu belirtilmiştir (Hinton ve ark., 1988; Hinton ve Lauren, 1990).

Balıklarda belirli bir metalin birikimi dokuya bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Genel olarak ağır metaller sublethal derişimlerinde balıkların metabolik olarak aktif organlarında daha fazla birikmektedir (Kargın ve Erdem, 1992). Yapılan araştırmalar ağır metallerin karaciğer, böbrek, solungaç ve dalak dokularında daha yüksek düzeylerde biriktiğini (Karaytuğ ve ark., 2007) fakat kas, kan ve beyin gibi dokularda ise birikim düzeyinin düşük olduğunu göstermektedir (Woo ve ark., 1993; Kalay ve Erdem, 1995; Kalay ve Karataş, 1999).

Ağır metallerin dokulardaki birikimleri türler arasında ayırım göstermektedir. Kadmiyum sublethal derişimlerde en fazla *Cyprinus carpio* (Suresh ve ark., 1993), *Channa punctatus* (Shukla ve ark., 2007) ve *C. batrachus*'da solungaç dokusunda (Jayakumar ve Paul, 2006) birikirken, *Oreochromis aureus* (Woo ve ark., 1993) ve *C. gariepinus*'da böbrek dokusunda (Asagba ve ark., 2008), *Tilapia nilotica*'da karaciğer dokusunda (Erdem, 1991) biriktiği belirlenmiştir.

Metaller su organizmalarının genetik, fizyolojik, biyokimyasal ve davranış parametrelerini değiştirerek bu organizmalar için önemli bir risk oluştururlar (Scott ve Sloman, 2004). Krom, kurşun, cıva, çinko, bakır ve nikel gibi ağır metallerin balıkların karaciğer, kas, böbrek ve diğer dokularındaki birikimi sonucunda metabolizmayı olumsuz etkilediği, balıklarda büyüme ve gelişmeyi engellediği belirlenmiştir (Spehar, 1976; Anadon ve ark., 1984; Birge ve ark., 2000).

Organizmalarda temel yapısal bileşen protein olup sucul organizmalarda enerji kaynağı olarak da kullanılmaktadır. Besin ağının farklı seviyelerinde bulunan omurgasızlar ile omurgalıların toplam protein düzeyi metal etkisine bağlı olarak azalma göstermiştir (Vutukuru, 2003).

Adenozin trifosfataz'ın (ATPaz) hayvan hücrelerinde hücre içinde iyon pompası, osmotik basınç, iyon taşınımı, membran geçirgenliği, metabolik transformasyon ve elektrokimyasal gradientin korunması gibi önemli görevleri olup (Dang ve ark., 2000), toksisite çalışmalarında biyomarkır olarak kullanılmakta

olan membrana bağlı bir enzim grubudur (Wang ve ark., 2002). ATPaz enzimlerinin oldukça fazla elektronegatif özellik göstermeleri nedeniyle geçiş metallerine karşı duyarlı olduğu belirtilmiştir (Watson ve Beamish, 1981; Köksoy, 2002). En iyi bilinen ATPaz enzimleri Na^+/K^+ -ATPaz, Ca^{+2} ATPaz ve Mg^{+2} ATPaz'lardır. Na^+/K^+ -ATPaz enzimi bir metalloenzim olup kemikli balıkların solungaçlarında, bağırsağında ve böbrek epitelinde asit-baz dengesi ve osmoregülasyon mekanizmasında işlev görür (Lionetto ve ark., 2000). Hayvan hücrelerinde hücre içi K^+ derişimi hücre içi Na^+ derişiminden, hücre dışı Na^+ derişimi ise K^+ derişiminden fazladır (Köksoy, 2002). Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi bu derişim farklılıklarını sürdürmek için önemlidir. Na^+/K^+ -ATPaz enzimi, hücre içi 3 Na^+ hücre dışı 2 K^+ ile değıştirir. Bu değışim sırasında ise hücrenin enerji kaynağı olan 1mol ATP'nin hidroliz edilmesi ile açığa çıkan enerji kullanılır. Arka arkaya yapılan bu ortak taşınmada zar üzerinde yükün net ayrımı oluşur (elektrojenik durum). Hayvan hücrelerinde bu işlemle -50 ile -70 mV'luk bir zar potansiyel durumu oluşur. Özellikle de nöronlarda aksiyon potansiyelinin iletimi için bu potansiyel fark gereklidir. Çoğu hücre için ayırıcı olan bu özellik sinir hücrelerine özeldir (Nelson ve Cox, 2008).

Hem *in vivo* hem de *in vitro* ortamlarda ağır metallerin etkisinde kalmış su canlılarında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin oldukça önemli bir indikatör olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Watson and Beamish 1981; Stagg and Shuttleworth 1982; Kamunde ve Wood, 2003). Genellikle *in vitro* ortamlarda ağır metal etkisinde kalan organizmaların Na^+/K^+ -ATPaz aktiviteleri düşerken *in vivo* çalışmalarında kesin bir bilgiye ulaşılamamıştır (Stagg ve ark., 1992). Enzimlerin moleküler yapılarına ve fonsiyonel gruplarına bağlı olarak, enzimlerdeki aktif bölgelere metallerin bağlanması ile enzimin aktivitesinde bir azalma görülmektedir (Watson ve Beamish, 1981). Çevresel kirleticilerin etkisini belirlenmede yaygın bir şekilde kullanılan göstergelerden biri de Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değışimlerdir (Saravanan ve ark., 2011).

Serbest haldeki Ca^{+2} iyonunun yüksek düzeyli derişimlerinin salınımı fertilize olmuş yumurtanın gelişimini, iskelet kasının kasılmasını, salgı hücreleri yoluyla salgılanmanın ve kalmodulin mekanizmasıyla etkileşimin sürekliliğini sağlar. Hücrede serbest Ca^{+2} iyonunun canlı için optimal düzeyde tutulması için Ca^{+2} ATPaz pompasına gereksinim duyulur. Ca^{+2} ATPaz, P-ATPaz enzimlerinin bir formu olup kas kasılmasından hemen sonra kalsiyum transferini sağlar. Hücre zarı Ca^{+2} ATPaz ve sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} ATPaz homeostasi için önemli Ca^{+2} ATPaz enzimleridir (Alberts ve ark., 2009).

Balık dokuları, su ekosisteminde kirliliğin belirlenmesinde, çevresel risk analizlerinde ve su kalite kriterlerinin izlenmesinde her geçen gün önemli olmaktadır (Van Leeuwen, 1990). Ağır metallerin sublethal derişimlerinin etkisinde balık doku ve organlarındaki birikiminin değerlendirilmesi önem taşımaktadır (Wicklund ve ark. 1988). Ağır metaller balıklar ve su omurgasızlarında birikme eğilimindedirler ve biyoparçalanmaları gerçekleşmemektedir (Bitton ve Dutka, 1986; USEPA, 1991; Carpena ve ark., 1990). Balıklar, immün sistemlerinin omurgalılara benzer olması ve ağır metallerin belli bir süredeki toksik etkilerini göstermeleri (Hilmy ve ark., 1987) nedeniyle insan sağlığı çalışmalarında oldukça fazla kullanılan önemli deney canlılarıdır (Zelikoff, 1998). Su ekosisteminin en önemli elemanlarından olan balıklar su kirliliği izleme çalışmalarında, kronik toksisite deneylerinde, su kalite kriterlerinin belirlenmesinde kullanılan biyolojik indikatörlerdir (Handy, 1992). Biyolojik indikatörler çeşitli stres koşulları altında fizyolojik değişimleri belirgin bir şekilde gösterebilen canlılardır (Adams, 2002). Balıklar beslenme alanı olarak seçtikleri alanlardaki ağır metallerin zararlı etkilerini besin ağı yolu ile insanlara kadar ulaştırırlar (Saleh ve Marie, 2014). Ağır metallerin sucul organizmalara ve sucul ekosisteme etkisinin belirlenmesi için biyoizleme çalışmalarında biyomarkırların kullanımında önemli bir artış görülmektedir. Ağır metallerin organizmalardaki metabolik etkisi genellikle ilk olarak moleküler ve biyokimyasal düzeyde kendini göstermektedir. Biyomarkırlar ile fizyolojik, moleküler ve biyokimyasal

değişikliklerin ölçülmesi ağır metal kirlilik düzeyinin belirlenmesinde önemli olmaktadır.

1.1. *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758)

Tatlısu ekosistemlerinde dengeleyici bir rolü olan Orta Amerika'dan Asya sulak alanlarına kadar tüm temiz tatlısu ekosistemlerinde yaşayan *Lymnaea stagnalis* dünya üzerindeki geniş çaplı coğrafik dağılımlarından dolayı çeşitli çevresel kirleticilerin canlıların fizyolojik süreçleri üzerindeki etkilerini izlemek için kullanılabilecek Gastropoda sınıfının en önemli türlerindendir (Bluzat ve Seuge, 1983; Coeurdassier ve ark., 2003; Salanki ve ark., 2003).

Gastropoda sınıfı sucul omurgasızlar içerisindeki ağır metallere karşı toleransı en az olan taksondur. Bu durum çevre izleme çalışmalarında ağır metal kirliliğinin belirlenmesinde önemli bilgiler verebilmekle birlikte zoolojik gruplar içinde hızlı üreme döngüleri nedeniyle biyoindikatör olarak tercih edilmektedirler (Coughtrey ve Martin, 1977; Gomot, 1997).

Su ekosistemlerinde ağır metal derişimlerdeki artış, tatlısu kaynaklarını habitat olarak seçmiş salyangozların doğal populasyonlarında tehlikeye neden olmakla birlikte üst trofik seviyelerdeki balıkların, kerevitlerin ve kuşların da aynı şekilde etkilemelerine neden olmaktadır (Lodge ve ark., 1986). Ağır metallerin düşük derişimli düzeyleri ile ilgili çalışmalar sadece birkaç Copepoda (*Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia*) türü için mevcuttur (Dave ve Xiu, 1991; Diamond ve ark., 1992). Kronik toksisite ile ilgili çalışmalar oldukça azdır. Bu nedenle tatlısu ortamında ekolojik öneme sahip olan diğer organizmalar için yapılmış düşük derişimli metallerin kronik toksisite bilgilerine de gereksinim duyulmaktadır. Tatlısu salyangozları tatlısu habitatlarını kaplayan perfitik alglerle beslenirler; böylece makrofit populasyonlarının artmasını önleyerek pozitif bir etki gösterirler (Brönmark, 1985). Bu organizmaların, su bitkilerinin ve epiphytonların tüketimi ve ayrıştırılmasında kilit bir role sahip olduğu belirtilmiştir (Barnes, 1987).

Ağır metallerin sucul ekosistemlerde karışım halinde bulunmaları nedeniyle çalışmalar metal karışımlarının organizmalardaki toksik etkilerinin incelenmesi yönünde yoğunlaşmıştır (Weis, 1980; Wicklund ve ark., 1988). Toksikite testlerinin en önemli çalışma alanlarından birisi, sudaki organizmaların belirlemeye yönelik çalışmalardır. Amerika Birleşik Devletleri'nde, Çevre Koruma Ajansı (USEPA) kirleticilerin su canlıları için hem akut hem de kronik su kalite kriterlerini belirleme çalışmalarını yapmaktadır. USEPA kronik toksisite testlerini tanımlarken, onların kronik su kalite kriterlerini, yaşam döngüsü (LC) testlerini, kısmi yaşam döngüsü (PLC) testlerini veya ilk yaşam evresi (ELS) testlerini belirtmekte ve yapılacak çalışmaların bu kriterlere uygun olmasını istemektedir. Bu testler türlerin ortalama kronik değerlerini (SMCV) belirlemede kullanılmaktadır. Türlerin ortalama kronik değerlerinin dağılımı ise kronik su kalite kriterlerini belirlemede önemlidir (Stephan, 1985).

Tatlısu salyangozları ile yapılan çeşitli kronik ağır metal toksisite çalışmaları sonucunda tatlısu salyangozunun ağır metallere karşı oldukça duyarlı olduğu belirlenmiştir (Borgmann ve ark., 1978; Brix ve ark., 2012). Ayrıca tatlısu salyangozu türleri arasında *L. stagnalis*'in bugüne kadarki tatlısu salyangozları içindeki en duyarlı salyangoz türü olduğu da çeşitli kaynaklarda belirtilmiştir (Brix ve ark., 2012). Bakır (Cu), nikel (Ni) ve kurşun (Pb) gibi ağır metallerin kronik etkisinde test edilen *L. stagnalis*'in metallere karşı duyarlılığı çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (De Schamphelaere ve ark., 2008; Schlekot ve ark., 2010; Brix ve ark., 2011; Munley ve ark., 2013). Son yıllarda yapılan çalışmalarda tatlısu salyangozu *L. stagnalis*'in ağır metal etkileşimlerine oldukça duyarlı olduğu belirtilirken kabuk gelişiminde yüksek düzeyde Ca^{+2} iyonuna gereksinim duyduğu belirlenmiştir.

Ortamdaki ağır metaller salyangozların büyüme ve gelişme döneminde Ca^{+2} iyonuna bağlanarak, canlının homeostasinin bozulmasına neden olmaktadır (Grosell and Brix, 2004; Grosell ve ark., 2006).

USEPA, kronik su kalite kriterlerini belirlerken canlılarda yaşam döngüsü üzerine yapılmış çalışmaları tercih etmektedir. Bu döngü, F₁ döllerinin bir günlük döneminden başlayarak tüm yaşam evresi boyunca; büyüme, eşeysel olgunlaşma, üreme ve genellikle de hayatta kalma periyodunu izler. Balıklar için yaşam döngüsü çalışmaları türe de bağlı olarak yaklaşık olarak 6 ile 24 ay sürebilmektedir. Balıklara yönelik çalışmalar bu uzun dönemi de göz önünde tuttuğumuzda önemli maddi kaynaklar gerektirmektedir. USEPA yaşam döngüsü çalışmaları mümkün olmadığında, kısmi yaşam döngüsünü yani erişkin balığın kuluçka sonrası F₁ bireylerinin 30 günlük hayat safhasını kapsayan erken yaşam evresini konu alan çalışmaları da kabul etmektedir. Balıklar için yapılan bu tarz kısa süreli deneyler toksik maddelerin yaşam döngüsüne etkisi hakkında verilerin elde edilmesine olanak sağlamıştır (Macek ve Sleight, 1977; McKim, 1977)

Omurgasızlar içinde USEPA kronik su kalite kriterlerinin türetilmesinde yaşam döngüsü çalışmalarının yapılmasını güvenilir bulmuştur. Omurgasızlar ile yapılan yaşam döngüsü çalışmaları genellikle ≤ 60 gün ya da daha sıklıkla ≤ 28 gün süreyle yapılır ve bu çalışmalar balıkların ilk yaşam döngüsü ve kısmi yaşam döngüsü çalışmaları ile karşılaştırılabilir. Son 25 yılda ilk yaşam döngüsü test yöntemleri bazı omurgasız (amphipod, sucul böcekler ve tatlısu yumuşakçaları vs.) türler için geliştirilmiş fakat daha duyarlı olan tatlısu salyangozları için geliştirilmemiştir.

Omurgasızlarda ilk yaşam döngüsü için büyük bir veri kaynağı birikmiş olsa da, ilk yaşam döngüsü çalışmalarının, yaşam döngüsü çalışmalarında gözlenen sonuçları ne derece iyi tahmin edebildiğini gösteren bir analiz modeli geliştirilmemiştir. Sonuç olarak da USEPA genellikle kronik su kalite kriterlerini belirlemede ilk yaşam döngüsü verilerini gözönüne almamıştır. İlk yaşam döngüsü çalışmalardan elde edilen veriler baz alındığında kronik olarak ayrıca en duyarlı tatlısu canlılarının yumuşakçalar olduğu belirtilmiştir (USEPA, 2009).

Ağır metaller doğal sularda düşük derişimlerde ve karışımları şeklinde bulunmaktadır (Jezierska ve Witeska, 2006). Ancak antropojen kaynaklı olarak

da ağır metal seviyeleri artabilmektedir. Canlı ortamındaki düzeyleri genelde litrede nanogram ya da mikrogram düzeyindedir (Nussey ve ark., 1995). Bu araştırmada su organizmalarında toksik etkileri olan bakır, nikel ve kurşunun 5, 10, 20 ve 40 ppb derişimleri etkisinde tatlı su omurgasız türü olan *L. stagnalis*'in yetişkin bireyleri 6 hafta süre ile bırakılmış ve duyarlı oldukları kritik yaşam dönemleri belirlenmiştir. Elde edilen bu bilgiye bağlı olarak enzim çalışmaları yapılmıştır. Ergin salyangozlardan alınan yumurta keselerinin bakır, nikel ve kurşunun 5 ppb derişimli 6 hafta süreli etkisinde salyangozların yumurtadan çıkma sayıları takip edilmiştir. Böylece USEPA'nın 28 günlük ELS çalışmalarının uzun vadede tam yaşam döngüsü üzerindeki etkilerinin tahmin edilebilmesi değerlendirilmiştir.

1.2. *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)

C. gariepinus Clariidae familyasına ait bir tür olup protein kaynağı olarak yaygın bir şekilde tüketildiğinden ülkemizde ekonomik öneme sahip besin değeri yüksek ve kültür balıkçılığı yapılmakta olan bir türdür. Bu türün önemli bir aqua-kültür elemanı olduğu birçok literatürde belirtilmiştir (Freyhof ve ark., 2016). Ülkemizde halk arasında yöresel birçok ismi bulunmakla birlikte dünya çapında yaygın kullanılan ismi Kuzey Afrika kedi balığıdır. Afrika, Avrupa, Asya, Güney Amerika' ya kadar birçok alanda kültürü yapılmaktadır. Her ne kadar Çin'in su ürünlerinde bu balık ile ilgili istatistiki bulgular olmasa da, balığın çeltik tarlalarına adapte edilebilir olması bu türün her geçen gün üretim ve pazarlama alanında yerini almasını sağlamaktadır (Geldiay ve Balık, 1988; Sukop, 1995).

Türkiye'de Adana, Antakya ve Mersin bölgelerindeki nehir, göl, lagün ve sistemleri ile drenaj kanallarında yaygın olarak bulunmaktadır (Freyhof ve ark., 2016). Gelişiminin hızlı olması, düşük su kalitesine dirençliliği ve lezzetli eti nedeniyle yetiştiricilikte tercih edilen bir tür olup (Appelbaum ve Kamler, 2000) yaşam alanlarının tarımsal ve endüstriyel aktivitelerin etkisi altında olduğundan ve

yüksek yoğunlukta kirleticilerle etkileşim halinde olması nedeniyle araştırmada materyal olarak seçilmiştir.

Bir omurgalı balık türü olan *C. gariepinus*'un nikel (2 ppm), çinko (5 ppm) ve selenyum (5 ppm) ile bu metallerin ikili ve üçlü karışımlarının etkisinde 7, 14 gün sürede metal akümülayonu ve izleyen 7 günde biriken metalin eliminasyonu incelenmiştir. Belirtilen derişimlerdeki salt metallerin ve kombinasyonlarının juvenil *C. gariepinus*'un solungaç karaciğer ve böbrek dokusundaki metal birikimi ve eliminasyonu, Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesi, total protein düzeylerine etkisi incelenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Biyomarkırlar çevre izleme, tür koruma, halk sağlığı, ekotoksikolojik, ekofizyolojik çalışmalarda oldukça fazla kullanılmaktadır. Balıklar ksenobiyotik bileşiklerin (ağır metaller vb.) etkilerini belirlemede biyomarkır olarak kullanılmaktadır (Authman ve ark., 2015).

Kurşunun NOEC (etkisi gözlenmeyen derişim), LOEC (etkisi gözlenen en düşük derişim) ile EC₂₀ (% 20 etkili derişim) değerleri *Brachionus calyciflorus*, *Chironomus tentans* ve *L. stagnalis* için ayrı ayrı hesaplanmıştır. *L. stagnalis*'in bu türler arasında kurşuna karşı oldukça duyarlı olduğu belirtilmiştir. USEPA'nın *L. stagnalis* için belirlediği su kalite kriteri kurşun toksisitesi için 8 ppb'dir. Bu araştırmadan elde edilen bulgular USEPA'nın sonucuyla örtüşmüştür. Kronik kurşun etkisindeki tatlısu salyangozlarında Na⁺ ve Ca⁺² ölçümlerinde Na⁺ homeostazisinin karmaşık olduğu belirtilmiştir. Tatlısu salyangozu kabuk gelişiminde Ca⁺² alımına oldukça fazla gereksinim duyulmuş, Ca⁺² alım miktarı kabuk oluşumundaki azalmaya paralel olarak azalma göstermiştir (Grosell ve ark., 2006).

Kurşunun toksik etkisinde *L. stagnalis*'in EC₂₀'si 3 ppb olarak bulunmuştur. Kurşun etkisindeki *L. stagnalis*'in kabuk oluşumunu koruyabilmek için yüksek oranda Ca⁺² alımını gerçekleştirdiği belirtilmiştir (Grosell ve Brix, 2009).

L. stagnalis'in Ca⁺² alımının saatte 7000-8000 nmol/g ölçülmüş olup bu miktar bir tatlısu balığının Ca⁺² alımının yaklaşık 100 katı olduğu bildirilmiştir. Kurşun etkisinde salyangozlardaki ilk yaşam safhasında büyümenin durması net Ca⁺² akışının durmasından en az 4 gün önce başlamaktadır. Bu durum bize büyümenin durmasında Ca⁺²'in temel olarak rol oynamadığını göstermektedir. Kurşunun toksik etkisinde salyangozlarda yem alımının durduğu gözlenmiştir.

Yem verilmeyen salyangozlarda bir günde net Ca^{+2} alımında ~% 50 azalma gözlenmiştir (Brix ve ark., 2012).

Kurşunun 10 ppb'den daha az derişimlerinde salyangozların besin alma oranlarında bir duraklama olmazken, kurşunun 57 ppb derişiminde beslenme oranı % 98 durmaktadır. Kurşunun 3 ppb etkisinde salyangozların yem alımındaki durmanın, büyümede azalmaya neden olmadığı belirtilmektedir. Kurşun etkisinde salyangoz mantosundaki karbonik anhidraz aktivitesindeki azalmanın salyangoz gelişimi ile ilgili olup olmadığı belirlenememiştir. Kurşunun toksik etkisinde salyangozlarda besin ve net Ca^{+2} alımında azalma gözlenmiştir (Brix ve ark., 2012).

Kurşunun 56 gün süreli toksik etkisinde *L. stagnalis*'in bireylerinin hayatta kalma, gelişme, üreme ve embriyonik dönemlerindeki etkilerinin belirlemesi ile birlikte 28 günlük ELS test sonuçlarıyla karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ağır metal etkisinde 28 günlük gelişimin, 56 günlük üreme dönemi için belirleyici bir özellik olabileceği belirtilmiştir (Munley ve ark., 2013).

Çevresel ortamdaki aktif hareketi sırasında *L. stagnalis*, kabuğuna geri çekilmek için hücre dışı sıvısının % 40-60 ını kaybettiği belirtilmiştir. Hücre dışı sıvının kaybı sonrasında iyileşme süresini ve salyangozdaki birincil katyonik osmoliteyi sağlayan Na^{+} 'nın iyileşmedeki önemi belirtilmiştir (Ebanks ve Grosell, 2008).

Tatlısu salyangozları su ortamındaki Ca^{+2} ve CaCO_3 'ün eser düzey derişimlerinde de 10 gün içinde doğrudan embriyo gelişimi oluşmakta, anormal embriyo görülmemektedir (Ebanks ve ark., 2010).

Bakırın 96 saat süreli toksik etkisinde tatlısu salyangozları LC_{50} değeri 31 ppb bulunmuştur. Kronik bakırın 30 günlük etkisinde salyangozların büyümesinde oldukça belirleyici olması *L. stagnalis*'in bugüne kadar en duyarlı test organizması olduğunu göstermiştir (Brix ve ark., 2011).

Bakırın 10 ve 30 ppb etkisinde bırakılan su piresi *Bosmina longirostris*'in bakır 30 ppb etkisinde hayatta kalma, büyüme, eşeyssel olgunluğuna erişme ve yavru oluşumunun negatif yönde etkilendiği belirtilmiştir (Koivisto ve Ketola, 1995).

Bir iz element olan kobaltın 79 ppb derişimli 28 gün süreli etkisinde bırakılan *L. stagnalis*'in hemolenfindeki azalan Ca^{+2} ile birlikte büyümede de azalma gözlenmiştir. Kobaltın salyangoz büyümesinde negatif etkinin nedeni olarak, Ca^{+2} alımının ve homeostasinin bozulması ile birlikte beslenmenin durmasıyla olabileceği belirtilmiştir (De Schamphelaere ve ark, 2008).

Kadmiyumun 0, 25, 50, 100, 200 ve 400 ppb etkisinde *L. stagnalis*'de üremenin çeşitli safhalarında yumurta kesesi sayısı, yumurta sayısı, embriyo gelişimi ile yumurtadan çıkış süreleri incelenmiştir. Kadmiyumun 400 ppb etkisinde yumurta üretimi dururken, kadmiyumun 200 ppb etkisinde yumurtadan çıkış % 0.4 azalmıştır. Kadmiyum derişimleri etkisinde yumurtalarda anormallikler gözlenmiştir. Kadmiyumun 400 ppb derişiminde salyangoz embriyolarının ilk bölünme aşaması durmuştur. Kadmiyumun 100, 200 ppb'lik derişimlerinin etkisinde yumurta keselerin'deki embriyogenezde çeşitli safhaların gelişimlerinde (bölünme, gastrula, veliger ve ilk yumurta çıkışı) duraklama gözlenmiştir. Kadmiyumun 25, 100 ppb etkisinde kontrole göre yumurtadan çıkışlarda duraklama gözlenmiştir (Gomot, 1998).

Bakır etkisindeki *Lymnaea luteola*'da mortalite, göz oluşumu, ayak yapısı, kalp atış hızı, larva safhalarındaki gelişim ile yumurtadan çıkış periyotlarında duyarlı oldukları kritik yaşam dönemleri belirlenmiştir (Khangarot ve Das, 2010).

Kurşunun 19 ppb derişimli etkisinde *Lymnaea palustris* ile ilgili yapılan bir çalışmada salyangozlarda mortalite oranı etkilenirken, salyangozların büyüme oranları etkilenmemiştir (Borgmann, ve ark., 1978).

Ağır metallerin tek başlarına ve ikili kombinasyonlarının etkilerini belirlemek için kadmiyum, cıva, çinko, çinko+cıva, kadmiyum+çinko ve

çinko+cıva karışımlarının etkisinde bırakılan *Daphnia magna*'nın üreme fizyolojisi incelenmiştir. Metallerin ikili karışımları etkisinde *D. magna*'da üremede azalma belirlenirken, metal tuzlarının salt etkisinde bırakılan *D. magna*'da üremede değişim gözlenmemiştir (Biesinger ve ark., 1986).

Bakırın 0.1, 1.0 ve 10.0 ppm derişimlerinde 1, 5, 10, 20 gün süreli etkisinde bırakılan *T. nilotica*'da bakırın en fazla dalakda en az kas dokusunda biriktiği gözlenirken, bakır birikim miktarı bakımından dokular arasındaki sıralama dalak > karaciğer > bağırsak > mide > solungaç > kas şeklinde belirtilmiştir (Erdem ve Kargın, 1990). Bakırın 0.01, 0.10, 1.00, 10 ppm derişimlerinde 60 gün süreli etkileşiminde *C. carpio*'da en bakır fazla birikimi karaciğer dokusunda en az bakır birikimi, kas dokusunda belirlenmiştir. Organlar arasındaki bakır birikim miktarı sıralaması; karaciğer > dalak > mide > bağırsak > solungaç > kas olarak belirlenmiştir (Kargın ve Erdem, 1991).

Ağır metallerin balıklarda en fazla, metabolik aktivitenin hızlı olduğu karaciğer ve böbrek gibi organlarda biriktiği belirtilmektedir (Kargın ve Erdem, 1992). Bakır etkisinde bırakılan *Perca fluviatilis* ile yapılan bir çalışmada bakırın en çok karaciğer ve solungaç dokusunda biriktiği belirtilmiştir (Collvin, 1984). Sublethal ortam derişimlerinde ağır metallerin öncelikle solungaçlarda biriktiği belirtilmiştir (Hilmy ve ark., 1987). Metal birikiminin miktarı ortamdaki metalin derişimine, solunum ve metabolizma hızına bağlı olarak değişmektedir (Tort ve ark., 1982).

Gümüş, krom, nikel, kurşun, demir ve çinko etkisinde bırakılan *Penaeus semisulcatus*'da kas, solungaç, hepatopankreas ve gonad dokularında metal birikimi yaşa ve eşeye bağlı olarak değişim gösterdiği belirtilmiştir (Yılmaz ve Yılmaz, 2007).

Farklı derişimlerdeki bakır, çinko ve bu iki metalin karışımının etkisindeki *T. nilotica*'da iki metalin birlikte mortaliteye etkisinin metallerin tek başlarına

oluşturdıkları mortalite oranından daha fazla olduğu belirlenmiştir (Kargın ve Erdem, 1992).

Nikel'in *Tor putitora*'da en fazla birikim solungaçlarda olmuş, en az birikim karaciğer, kas ve deri olarak belirtilmiştir (Shakoori ve Yousafzai, 2006).

Nikelin 4.0 ppm, cıvanın 3.5 ppm ve nikel+cıva karışımının 3.0 ppm derişimlerinin 35 gün süreyle etkisine bırakılan *Lates calcarifer*'de metallerin etkisi incelenmiştir. Balıkların solungaçlarında 7. günde çeşitli histolojik hasarlar oluşmuştur. Solungaçlardaki hasar en az nikel derişiminin uygulandığı akvaryumda olup en fazla solungaç hasarı cıva ve karışım derişiminde olmuştur. Nikel derişimi etkisinde solungaç lamelindeki hipertropi, nekrosiz ve şişme gibi derişimler gözlenirken cıva derişimi etkisinde hiperplazi, lamel erimesi dejenaratif derişimler gözlenmiştir. Nikel+cıva karışımının solungaçlardaki epitel dokuda döküntü ve nekrosiz gözlenmiştir (Senthamilselvan ve ark., 2011).

Yetişkin *Pimephales promelas*'de yumuşak ve sert sularda akut Ni'in 4 ve 24 ppm derişimlerinin etkisi çalışılmıştır. Nikel toksisitesi suyun sertliği, pH, toplam askıda katı madde, tuzluluk, balık türü ve canlının gelişim evrelerine bağlı olarak derişmektedir. Genel olarak akut Ni toksisitesi yumuşak sular için 4-14 ppm sert sular için 24-44 ppm olarak belirtilmektedir (Birge and Black, 1980).

Çeşitli balıklarda yapılan çalışmalarda Ni'in ilk olarak kemik, solungaç ve böbreklerde biriktiği belirtilmiştir. Sucul ortamda artan Ni derişimi solungaç, böbrek, kemik, kas, karaciğer, beyin, kalp, mide, bağırsak, deri, pul ve gonadlarda (her bir yerde) biriktiği bir çok çalışmada belirtilmiştir (Sreedevi ve ark., 1992; Canlı and Kargın, 1995; Ptashynski ve Klaverkamp, 2002).

Endüstriyel işlemlerde oldukça fazla kullanılan nikel kloridin 5.7 ppm etkisine 10, 20 ve 30 gün sürelerde bırakılan gümüşü sazanda (*Hypophthalmichthys molitrix*) solungaç, karaciğer ve bağırsakta histopatolojik derişimler gözlenmiştir. Solungaç dokusunda hipertropi, lamellerde mukus artışı ve lamellerde erime görülürken karaciğerde kan damarlarında bozulmalar, hücrelerde vakouleşme,

hipertrofi ve yaralar, böbrek dokularında ise tübüler hücrelerde bozulma ve hiperplazi gözlenmiştir (Athikesavan ve ark., 2006).

Nikelin 96 saatlik LC₅₀ değeri *C. gariepinus* için 8.87 ppm belirlenmiştir. Tüm kan parametreleri (eritrosit, lökosit sayısı, hematokrit ve hemoglobin düzeyi) toksik nikel etkisinde azalma göstermiştir. Eritrositlerde deformasyonlar ve hematokrit seviyelerinde azalma belirlenmiştir (Ololade ve Oginni, 2010).

Besin yolu ile nikelin 10, 100 ve 1000 µg/g miktarlarının 10, 31, 104 gün süreli verilmesinde *Coregonus clupeaformis*'de en fazla nikel birikimi nikelin 1000 µg/g etkisinde 10. günde mide ve kör bağırsakta belirlenmiştir. Deneyin 31 ve 104. günlerinde balığın koruma mekanizmasının aktif olması ile nikel birikiminde azalmanın gözlemlendiği belirtilmiştir (Ptashynski ve Klaverkamp, 2002).

Nikel etkisindeki *C. gariepinus* kanında ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama hemoglobin miktarı (MCH) ve ortalama alyuvar hemoglobin derişimi (MCHC) aynı oranlarda azalma göstermiştir. Nikel derişiminin etkisinde kalan balıklarda hematolojik parametrelerde değışimlerin gözlenmesi nikel stresıyla ilgili bu parametrelerin iyi bir indikatör olabileceği belirtilmiştir (Ololade ve Oginni, 2010).

Nikelin protein metabolizması üzerinde etkilerini belirlemek için yapılan bir çalışmada nikelin 8 ppm ve 40 ppm etkisinde bırakılan *C. carpio*'da düşük derişimde 5, 10 ve 15. günde toplam protein ve serbest amino asit miktarı artarken yüksek derişim etkisinde ilk dört günde toplam protein miktarında azalış, serbest aminoasit miktarında ise artış gözlenmiştir (Sreedevi ve ark., 1992).

Nikel etkisinde *C. carpio*'da solungaç lamelleri mukusla dolarken, solungaç lamellerinin koyu kırmızı olduğu belirtilmiştir (Sreedevi ve ark., 1992). Nikel etkisinin *H. molitrix*'in farklı dokularında histopatolojik değışimlere neden olduğu belirtilmiştir (Athikesavan ve ark., 2006). Nikelin 1 ppm derişimli etkisinde *C. carpio* ve *T. nilotica*'da karaciğer, solungaç, beyin ve kas dokusu incelenmiş ve

nikel birikiminin en fazla karaciğer dokusunda olduğu belirlenmiştir (Canlı ve Kargın, 1995).

Nikelin 2 ve 20 ppm etkisinde 7 gün süreyle bırakılan *C. carpio* kas, karaciğer ve solungaç dokularında toplam protein düzeyleri ölçülmüştür. Protein düzeyindeki en fazla artış karaciğer dokusunda belirlenmiş, bunu sırayla solungaç ve kas dokuları izlemiştir (Canlı, 1996).

Balıklarda çinkonun dışarıdan alınımı bağırsaklar ve solungaçlar ile sağlanmaktadır. Çinko, bakır, mangan, kurşun, krom, nikel, alüminyum ve demirin *C. gariepinus* ve *Labeo umbratus* dokularındaki birikim sıralaması solungaç > karaciğer > deri > kas olarak belirlenmiştir (Coetzee ve ark., 2002).

Çinko nitratın farklı derişimleri etkisinde *Phoxinus phoxinus*'da deride hemoraji ve lezyonlar, omurgada deformasyonların görüldüğü belirtilmiştir (Bengtsson, 1974).

Çinkonun 6.62 ve 13.24 ppm ortam derişimlerinin 45 gün süreli etkisinde *C. punctatus*'da çinko birikimi en fazla karaciğer dokusunda gözlenirken karaciğeri böbrek, bağırsak, solungaç, kas dokuları takip etmiştir. *C. punctatus*'daki çinko toksisitesi için hedef dokuların karaciğer ve böbrek olduğu belirtilmiştir (Murugan ve ark., 2008).

Çinko ve bakırın 96 saat süreli LC₅₀ derişimi olan 18.62 ve 0.56 ppm etkisinde yetişkin *C. punctatus* bireylerinde metal birikiminin dokulardaki sıralaması solungaç > karaciğer > böbrek > kan > kas; solungaç > böbrek > kan > karaciğer > kas olarak belirlenmiştir (Shukla ve ark., 2007).

Çinkonun 450 ppb derişimli 30 gün süreli etkisinde gökkuşağı alabalığında deneylerin 2. günde % 24 oranında mortalite gözlenmiştir (Alsop ve ark., 1999).

Bakır, çinko kadmiyum ve karışımlarının 4 gün süreli etkisinde *Oncorhynchus tshawytscha*'ın metal karışımlarına duyarlılık düzeyi değişkenlik göstermiştir. Metallerin ikili ve üçlü kombinasyonlarında sinerjik etki gözlenmemiş olup antagonist etki gözlenmiştir (Finlayson ve Verrue, 1982).

Çinkonun 22 ppm ve 32 ppm derişiminde 96 saat süre etkisinde *C. lazera* ve *T. zillii*'de hemoglobin ve hematokrit seviyeleri ile kas ve karaciğer dokularında laktik asit derişimi artmıştır (Hilmy ve ark., 1987).

Kronik çinko etkisinde *C. punctatus*'da çinkonun en fazla birikim gösterdiği organ karaciğer olup bunu böbrek ve kas dokusu izlemektedir (Senthil ve ark., 2008).

Selenyumun etkisinde bırakılan balıklarda temel fizyolojik değişimler gözlenmektedir. Hemoglobin düzeyinde azalma ve kırmızı kan hücrelerinde yapısal deformasyonlar bu temel değişimlerden bazılarıdır. Bazı bireylerde ödem nedeniyle abdomende şişlikler ve dişilerde ovaryum folikülünde bozulmalar gözlenmiştir. Selenyumun balık dokularındaki birikimi ve buna bağlı üreme bozukluklarının görülmesi (yumurta hasarı gibi) selenyumun etkisinden sonraki 7 yıl boyunca etkisini göstermeye devam etmiştir (Sorensen, 1986). Selenyum derişimlerinin kas dokusuna oranla daha çok karaciğer, böbrek ve gonadları etkileme eğiliminde olduğu belirtilmiştir (Sorensen, 1991). Selenyum derişiminin ortamda artması sonucunda *Esox lucius*'da büyümenin durması, doku ve hücresel biyomoleküllerde yapısal hasarların oluşumu (yağ, protein ve DNA hasarları gibi), üremede bozukluk ve larval deformasyonlar ile ölümle sonuçlanan durumların gözleendiği rapor edilmiştir (Muscatello, 2006).

Balıklarda ve diğer omurgalılarda selenyumun birikiminin ilk olarak karaciğerde olduğu belirtilmiştir (Sato ve ark., 1980; Misra ve ark., 2012). Karaciğer selenoprotein sentezinin ve yıkım olaylarının gerçekleştiği temel bölgelerden biridir (Burk ve Hill, 2009). Genel olarak selenyumun birikimi tüm organlardaki selenomethionin ve selenosisteinin varlığından dolayı olabilmektedir. Ergin turna balıklarındaki selenyumun birikimi en fazla karaciğer ve böbrekte olurken, bunları ovaryum, kas ve kemik dokusunun izlediği bildirilmiştir (Muscatello ve ark., 2006).

Selenyumun *Carassius auratus*'daki fizyolojik etkilerinin belirlenmesi amacıyla farklı derişimlerdeki selenyumun 120 saatlik toksik etkisine bırakılan balıkların karaciğer metallothionein ve solungaç Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivite düzeyleri incelenmiştir. Yüksek derişimlerdeki selenyumun (3-4 ppm) düşük derişimdeki selenyuma (0-2 ppm) oranla akvaryum koşullarında fizyolojik stres ve akut toksik etkiye neden olduğu belirtilmiştir (Choi ve ark., 2015).

Selenyumun 10 ppb derişiminin 120 gün süreli etkisinde juvenil *Lepomis macrochirus* ve *Micropterus salmoides*'da önemli düzeyde selenyum birikiminin olduğu belirtilmiştir. En fazla selenyum birikimi dalak dokusunda olurken bunu kalp > böbrek > eritrosit > solungaç > plazma > beyaz kas > gonad > bağırsak > mide > beyin dokuları izlediği belirtilmiştir. Deneyin 90 gün sonundaki gözlemlerinde su sıcaklığı ve sertliğinin selenyumun derişimini ve dokulardaki dağılımını etkilemediği belirtilmiştir. Selenyum derişimleri 30 günlük bir eliminasyon denemesinden sonra dalak, karaciğer, böbrek, beyaz kas dokusunda değişmemiş fakat solungaç ve eritrositlerde ≤ 15 gün bir yarı-ömür tutma süresi gösterdiği belirtilmiştir (Lemly, 1982).

Selenyumun toksik etkisinde *Salmo gairdneri*'de hematolojik değişimler (Hodson ve ark., 1980), juvenil dönemde vücut gelişiminde azalma (Hamilton ve ark., 1986), büyümenin azalması (Hamilton ve ark., 1990) ve mortalitenin gözlemlendiği (Hilton ve ark., 1980; Hunn ve ark., 1987; Hamilton ve ark., 1990) belirtilmiştir.

Selenyum etkisinde 44 hafta boyunca bırakılan gökkuşığı alabalığında selenyum miktarı genel olarak dokularda artmıştır. Diğer yandan bağırsaklardaki selenyum birikimindeki artışın solungaçlardaki artıştan üç kat fazla olduğu belirtilmiştir (Hodson ve ark., 1980). Bu durum selenyumun ilk olarak besinlerle birlikte alınıp biriktiğinin bir göstergesi olarak açıklanabilir. Tatlısu balıklarındaki selenyum birikiminin temel kaynağı besinlerdir (Hodson and Hilton, 1983).

Selenyum birikiminin önemli bir kısmı besin yoluyla alınan selenyumdan kaynaklanmaktadır (Klaverkamp ve ark., 1983).

Selenyumun 1 ppm derişiminin 30 gün süreli etkisinde *Carcinus maenas*'da solungaç, hepatopankreas, kas ve hemolenfde selenyum birikirken gonadlarda birikmemiştir (Bjerregaard, 1982). *Scophthalmus maximus* türünde selenyum oldukça yavaş bir şekilde alınarak dokularda birikmektedir (Nielsen ve Bjerregaard, 1991).

Selenyumun 50, 100, 200, 400 ppb derişiminde 4 hafta süreli etkisinde *Pagrus major*'da selenyum birikimi en fazla karaciğer ve böbrek dokusunda belirlenirken bunu dalak > bağırsak > solungaç > kas dokusunun izlediği belirtilmiştir (Kim ve Kang, 2014).

Nikel sülfatın 45 ppm derişimi 90 saat süreli etkisinde *Colisa fasciatus* sabit ortam koşullarında bırakılmıştır. Nikel uygulamasından balığın lenfositlerinin sayısındaki azalışa bağlı olarak lökopeni, hematokrit ve hemoglobin değerlerinde artış ile polisitemia görülürken, ölmek üzere olan balıklardaki eritrositlerin sedimentasyonunda gecikme gözlenmiştir. Toplam trombosit sayısında, kanın pıhtılaşma süresinde ve hepatosomatik indekslerde kontrole oranla farklılık gözlenmemiştir (Agrawal ve ark., 1979).

Nikel ve kobaltın toksik etkisinde 120 gün bırakılan *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhinus mrigala*'da balıkların ağırlık, çatal boy ve yem tüketiminde önemli azalmalar gözlenmiştir (Javed, 2013).

Metal karışımların balık organlarındaki birikimi, biyodönüşümünü içeren birçok çalışma yapılmış olup bunlar her geçen gün artmaktadır. Bakır, çinko, nikel, krom, kadmiyum, kurşun karışımlarının etkisinde bırakılan *S. salar*'ın kas, solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki metallerin tek başlarına olan etkilerinde metal birikimleri gözlenmiştir. Metallerin bu dokulardaki birikimi metal karışımlarında sinerjik etkileri ile artmıştır (Svecevičius ve ark., 2014).

Krom, nikel, kadmiyum ve kurşunun 32 gün süre etkisinde *C. carpio*'da karaciğer, solungaçlar ve böbrekdeki metal birikim sıralaması $Cd > Pb > Ni > Cr$, $Pb > Cd > Ni > Cr$ ve $Pb > Cd > Cr > Ni$ olarak bulunmuştur (Vinodhini ve Narayanan, 2008).

Dokuz Arktik Tunicata türündeki vanadyum, manganez ve nikel birikimleri atomik absorpsiyon spektroskopisi ile ölçülmüş, tüm türlerde nikel birikimi (<15 ppm) en az düzeyde belirlenmiştir (Lebar ve ark., 2011).

Nikel kloritin farklı derişimlerinin 96 saatlik LC_{50} değeri *Oreochromis niloticus* için 27.2 ppm olarak hesaplanmıştır. Lethal (26.0 - 28.5 ppm) ve sublethal (1.5, 3.0, 5.0 ppm) derişimler etkisinde balık davranışlarında belirgin değışimler gözlenmiştir. Nikel derişimindeki artışa bağılı olarak balıklarda saldırgan davranışlar (birbirlerini dürtme ve ısırma gibi) ve nikel stresine bağılı düzensiz hareketler (yüzgeçte titreme, yüzmeye dengesizlik) gözlenmiştir. Ayrıca toplam lökosit sayısında azalma ve eritrosit sayısında, hematokrit, hemoglobin düzeyinde önemli düzeyde artışlar belirlenmiştir (Alkahem, 1994).

Tatlısu omurgasız ve omurgalı türünde 1, 2, 3 ve 4. günlerde lethal ve 1, 5, 10, 15. günlerde nikelin farklı derişimi etkisinde dokulardaki nikel birikimi ölçülmüştür. Tatlısu balığı *C. carpio*'un solungaç, böbrek, karaciğer, beyin ve kas dokusu ile tatlısu midyesi *Lamellidens marginalis*'in manto, ayak, hepatopankreas ve kas dokusundaki nikel birikimi süreye bağılı olarak artış göstermiştir. Tatlısu midyesi dokularındaki nikel birikiminin balık dokularına oranla daha fazla olduğu gözlenmiştir (Sreedevi ve ark., 1992).

Madencilik aktiviteleri ile su ekosistemlerinde toksik düzeye ulaşmış selenyum etkisindeki *Oncorhynchus clarki lewisi*'nin üreme ve teratojenik etkilerini belirlemek amacıyla her bir dişiden alınan yumurtaların gelişim evreleri incelenmiştir. Balık yumurtalarındaki selenyum miktarları ile mortalite oranı ve anomali gelişim durumu arasında önemli bir ilişki bulunmuştur. Dişilerdeki selenyum derişimi en fazla karaciğerde gözlenmiş, bunu sırasıyla yumurta ve kas

dokusu izlemiştir. Selenyum derişimindeki artışın döllenme ve yumurtadan çıkma süresi üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır (Kennedy ve ark., 2000).

Bakır ve çinkonun farklı derişimleri etkisinde *C. carpio*'da en fazla birikimin karaciğerde olduğu belirtilmiştir (Romanenko ve Yevtushenko, 1985).

Farklı türdeki balıkların solungaçlarında Na^+/K^+ -ATPaz dışında diğer ATPaz enzimleri Mg^{+2} ATPaz, Na^+/NH_4 -ATPaz ve Ca^{+2} ATPaz'ın iyon düzenleyici rolleri vurgulanmıştır (Watson ve Beamish, 1981). Çeşitli ATPaz aktivitelerinin Cr, Cu, Pb, Hg ve Zn gibi metaller tarafından etkilendiği belirtilmiştir (Shephard ve Simkiss, 1978; Watson ve Beamish, 1981).

Genel olarak *in vitro* metal etkileri ATPaz aktivitesinde azalışa neden olurken, *in vivo* etkiler ise çok açık olmamakla birlikte metallerin doğrudan etkilerine bağlı olduğu kadar, enzimlerin miktarına ve enzimlerin geri dönüşüm oranlarında dengeleyici olan homeostatik mekanizmalarla da ilişkili olabilmektedir. Bu duruma bağlı olarak ATPazlar gibi osmoregülatör enzimler üzerinde metallerin inhibitör etkilerinin sucul organizmalarda yararlı belirteçler olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Monserrat ve ark., 2007).

S. gairdneri'de kadmiyum etkisinin (Verbost, 1989), *T. zillii*'de bakır ve kurşun etkisinin (Ay ve ark., 1999), solungaç epitel dokusunda Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini azaltarak aktif iyon taşınımını engellediği ve solungaçlarda hipertropiye neden olduğu belirtilmiştir.

Çinkonun 0.4 ppm etkisinin *Chasmagnathus granulata*'da solungaç Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini azalttığı belirtilmiştir (Bianchini ve ark., 1999). Bakırın farklı süreli etkisinde bırakılan *Fundulus heteroclitus*'da solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde azalma (Blanchard ve Grosell, 2006), kurşun etkisinde bırakılan *Oncorhynchus mykiss*'de solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde inhibisyonun olduğu belirtilmiştir (Rogers ve ark., 2003).

Çeşitli balık türlerinde ağır metal etkisinin, hücre zarı geçirgenliğini bozarak serum elektrolit düzeyini etkilediği belirtilmiştir (Kuhnert, 1976; Hilmy, 1985).

Subletal derişimlerde kronik bakır etkisinin *O. mossambicus* (Rajkumar ve Das, 1991) ve *O. niloticus* (Ali ve ark, 2003)'da kas ve karaciğer dokularında glikojen düzeyini düşürdüğü, *C. carpio*'da cıva, krom ve nikel etkisinin de karbonhidrat metabolizmasını ve protein metabolizmasını bozarak önemli düzeyde değiştirdiği belirtilmiştir (Canlı, 1996).

Ağır metaller protein metabolizmasını etkileyerek dokudaki protein düzeyinde değişimlere neden olmaktadır. Bakırın artan ortam derişimine bağlı olarak karaciğer orijinli olan serum albümin artış göstermiştir (Romanenko ve Yevtushenko, 1985).

Bakırın düşük derişimli uzun süreli etkisinde *Heteropneustes fossilis* ile yapılan bir araştırmada kas ve karaciğer dokularında glikojen düzeyi ile birlikte toplam protein düzeyinin azalma gösterdiği belirtilmiştir (James ve Sampath, 1995).

C. carpio'da bakır ve çinko etkisinin, derişime bağlı olarak karaciğerde albumin sentezini arttırdığı saptanmıştır (Romanenko ve Yevtushenko, 1985). *O. mykiss*'de bakırın 26.9 ppb'lik ortam derişiminin 3 gün süreli etkisi, toplam protein ve laktat düzeylerinde herhangi bir değişime neden olmamıştır (Dethloff ve ark., 1999). Subletal Cd derişimlerinin 30 gün süre etkisinde *O. mykiss*'in ergin ve juvenil bireyleri ile yapılan bir araştırmada da toplam protein düzeyinde kontrole oranla önemli bir değişime neden olmadığı belirtilmiştir (Ricard ve ark., 1998).

Bakır ve çinko karışımının etkisinde *C. carpio*'da serum Cl^- ve Ca^{+2} düzeyleri artarken, serum glikoz, kolesterol ve toplam protein derişimlerinin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir (Dhanapakiam ve Ramasamy, 2001).

Kronik bakır etkisinde *C. carpio*'da solungaç yapısında bozulma ve Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde azalma gözlenirken, kortizol enjeksiyonu ile Na^+/K^+ -

ATPaz aktivitesindeki azalmanın ortadan kalktığı belirtilmiştir (DeBoeck ve ark., 2001).

Bakırın 100 ve 200 ppb derişiminin 6 gün süreli etkisinde *O. niloticus*'un yetişkin bireylerinde solungaç klorid hücrelerinde artma, Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Bakırın 200 ppb derişimli etkisinde juvenil *O. niloticus*'un plazmada Na^+ ve Cl^- düzeyinde azalma belirlenmiştir (Pelgrom ve ark., 1995).

Gümüşün 96 saat süreli 8.41 ± 0.17 ppb derişimli etkisindeki *Cambarus diogenes diogenes*'in hepatopankreas, hemolenf ve solungaçlarındaki gümüş birikimi ile iyon dengesi araştırılmıştır. İyon düzenlenmesinde Na^+ alınımindaki azalmanın solungaç dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki azalmadan kaynaklandığı belirtilmiştir. Gümüş toksisitesinin hemolenf Na^+ derişiminde azalmaya neden olduğu, hemolenf Cl^- derişiminde önemli oranda azaltmaya neden olmadığı belirtilmiştir (Grosell ve ark., 2002)

Solungaç epiteli gaz değişimi, iyon ve asit-baz dengesinin sağlanması ile azotlu metabolizma artıklarının vücuttan uzaklaştırılmasında işlev gören en önemli kısımdır. Bu işlemler epitel boyunca aktif ve pasif taşıma ile kontrol edilir. Çeşitli kirleticilerin (ağır metaller ve organik ksenobiyotikler vb.) solungaç epitelinin morfolojisini bozduğu belirlenmiştir. Kandaki iyonik seviyelerdeki değişimler ve Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki farklılıklar kirleticilerin toksik etkilerinden kaynaklanabilir (Evans, 1987).

In vivo ortamda besin yolu ile bakırın 30 gün süreli etkisinde bırakılan *C. gariepinus*'un besin performansı, hematolojisi, histolojisi, dokudaki Cu derişimi, Na^+ , K^+ iyonları ve Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi incelenmiştir. Bakır etkisinde balıkların yem alımında ve spesifik büyüme oranlarında azalma kaydedilmiş fakat deney sonunda ortalama vücut kütlelerinde oldukça düşük bir azalma gözlenmiştir. Doku elektrolitlerinde ve Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinde azalmanın gözleendiği belirtilmiştir (Hoyle ve ark., 2007).

Kromun 0.05, 0.1 ve 0.2 ppm derişimli 1, 7 ve 15 gün süreli etkisinde *Palaemonetes pugio*'nın metal birikimi, toplam protein ve glikojen seviyesi belirlenmiştir. Metal derişimi 15. günde 1. güne oranla artma gösterirken, toplam protein ve glikojen düzeyinde azalma belirlenmiştir (Çiftçi ve ark., 2012)

Ohio Nehri'nde kömür külü kirleticilerinin etkisinde *Lepomis sp.*'de biyokimyasal değişimler ile ATPaz enzim aktivitesi incelenmiştir. Balıklarda üreme problemleri sonucunda popülasyonda birey sayısındaki azalmanın kömür külündeki selenyum düzeyinin fazla olması ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Karaciğer glikojen düzeyinin karaciğerdeki selenyum düzeyindeki artış ile pozitif olarak ilişkili olduğu belirtilirken artan selenyum düzeyi ile lipid miktarı azalma göstermiştir. Protein düzeyi ise artan selenyum birikimi ile artarken ATPaz enzim aktivitesinin ise azaldığı belirtilmiştir (Lohner ve ark. 2001).

Kadmiyum, çinko ve karışımlarının 28 günlük 1 ppm derişimli etkisinde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda Na^+/K^+ -ATPaz ve Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitesi ve kas dokusunda Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitesi incelenmiştir. Solungaç dokusunda Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi metallerin tek başlarına etkisinde genel olarak azalma göstermiş, metal kombinasyonlarında Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi artmıştır. Kas dokusundaki Ca^{+2} ATPaz aktivitesi azalmış, fakat solungaç dokusundaki kadar azalma belirlenmemiştir. Solungaç Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitesi kontrolle kıyaslandığında çinko ve kadmiyum karışımının 28 gün süreli etkisi sonunda fark gözlenmemiştir. Metal kirliliğın olduğu alanlarda solungaç dokusunun biyomarkır olarak kullanılabileceğı bildirilmiştir (Eroğlu ve Canlı, 2013).

Tatlı su ekosistemlerinde artan tuz derişimi organizmalar için fizyolojik problemlere neden olmaktadır. Farklı düzeylerdeki sodyum klorür derişimlerinde (0, 2 ve 8 ppt) ve krom ile kurşunun 1µg/mL derişimli 14 gün süreli etkisinde *O. niloticus*'un solungaç ve bağırsak dokularındaki Na^+/K^+ -ATPaz aktiviteleri incelenmiştir. Enzim aktivitelerinin değişen tuzluluğa, doku çeşidine, metale ve metalin etki süresine bağılı olarak değişim gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca tuzluluk

ve metal karışımlarının osmoregülasyon organlarında ATPaz aktivitesinde önemli olduğu belirtilmiştir (Baysoy ve ark., 2013).

Farklı sodyum klorür düzeylerinde (2, 4 ve 8 ppt) bakırın 1.0 ppm derişiminin 14 gün süreli etkisinde *O. niloticus*'un solungaç, böbrek ve bağırsak dokularındaki Na^+/K^+ -ATPaz, Mg^{+2} ATPaz, ve Ca^{+2} ATPaz aktivitelerindeki değişimler belirlenmiştir. Dokulardaki ATPaz aktivitesinde tuzluluk miktarına, doku tipine ve etki süresine bağlı olarak değişimler gözlenmiştir. Salt tuzluluk etkisinde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi artarken, Ca^{+2} ATPaz aktivitesi azalma göstermiştir. Farklı tuzluluk derişimlerinde ve bakır etkisinde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi artış göstermiştir. Farklı tuzluluk derişimlerinde bağırsak ve solungaç dokusunda Ca^{+2} ATPaz aktivitesinde azalma, böbrek dokusunda artma gözlenmiştir. Salt tuzluluk ve bakır+tuzluluk kombinasyonlarında Mg^{+2} ATPaz aktivitesinde önemli düzeyde farklılıklar gözlenmiştir. Solungaç ve bağırsak dokusunda 14 gün sürede bakır birikiminin artan tuzluluk ile negatif ilişkili olduğu belirtilmiştir (Kulaç ve ark., 2013).

Bakır ve çinkonun 96 saat süreli akut ve kronik etkisinde *O. niloticus* solungaç, böbrek ve kas dokularındaki Na^+/K^+ -ATPaz, Mg^{+2} ATPaz, and Ca^{+2} ATPaz enzim aktiviteleri incelenmiş olup tüm metal etkilerinde ve etki süresinde enzim aktiviteleri genel olarak azalma, Mg^{+2} ATPaz aktivitesi ise artma göstermiştir. Ayrıca Na^+/K^+ -ATPaz ve Ca^{+2} ATPaz'ın Mg^{+2} ATPaz'dan daha etkili bir indikatör olduğu belirtilmiştir (Atlı ve Canlı, 2011).

Gümüş nitratin akut ve sublethal derişimli etkisinde *C. mrigala*'da solungaç Na^+/K^+ -ATPaz değişimleri, plazma elektrolitleri ve kan parametrelerindeki değişimler incelenmiştir. Gümüş nitratin her iki uygulamasında *C. mrigala*'da hiponatremiya, hipokalemiya, hipokloremiya ve hipoproteinemiya gözlenmiştir. Akut gümüş nitratin 96 saat süre etkisinde Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinde % 44.34 azalma belirlenirken, 7. gün sonunda önemli bir değişim

gözlenmemiştir. Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinde 14 günde azalma, plazma glukoz seviyesinde artma belirlenmiştir (Sathya ve ark., 2012).

O. mykiss solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin bağırsak dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesine oranla kronik bakır etkisine daha duyarlı olduğu gözlenmiştir (Kamunde ve Wood, 2003). Kronik sublethal bakırın 75 ppb etkisinde 2 ay sürede *O. mykiss* solungaç dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde artış gözlenmiştir (McGeer ve ark., 2000).





3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758)

Tatlısu salyangozları deneylerin yürütüleceği kontrollü ortam şartlarındaki UM-RSMAS Ekotoksikoloji Laboratuvarına Amerika Birleşik Devletleri Florida Eyaletinde özel çevre koruma alanı içerisinde bulunan tatlısu kaynaklarından toplanmıştır. Materyal olarak kullanılacak canlılardan *L. stagnalis* klorsuz çeşme suyu bulunan kültür akvaryumları içerisinde 1 ay süreyle tutularak laboratuvar ortam koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Stok akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmış olup tatlısu salyangozları haftada iki kez aynı saatlerde marul (Romain) ve tatlı patates ile beslenmiştir (Brix ve ark., 2012).

3.1.2. *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)

Bu araştırmada materyal olarak kullanılan organizmalardan bir diğeri olan *C. gariepinus* Mersin'in Silifke ilçesinde bulunan özel çevre koruma alanı içerisinde yer alan üreme havuzlarından, deneylerin yürütüleceği kontrollü ortam şartlarındaki Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Ekotoksikoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Balıkların adaptasyonları bir ay süresince merkezi havalandırmalı klorsuz şebeke suyu bulunan kültür havuzlarında sağlanmıştır. Bu süre içerisinde deneyde kullanılacak balıklar 27.45 ± 0.5 cm boy ve 106.30 ± 6.5 g ağırlığa ulaşmışlardır. Balıklar günde iki kez aynı saatlerde vücut ağırlıklarının % 2'si kadar hazır pellet balık yemi (Pellet No:2, Skretting-Optiline Trout, Utah, USA) ile akvaryum suyu değiştirilmeden önce beslenmişlerdir.

3.2. Metod

3.2.1. *L. stagnalis* Bireylerinin F₁ Dölü Salyangozlarının Yumurtadan Çıkma Sayısının Belirlenmesi

Deneylerde bakır (CuCl₂, Merck), nikel (NiCl₂, Merck) ve kurşun (Pb(NO₃)₂, Merck) çözeltilisinin uygun seyreltmeleri yapılarak kullanılmıştır. Deneyler üç seri halinde yürütülmüştür. 1. Seri deneylerde ergin *L. stagnalis* bireyleri Cu, Ni ve Pb nin 0, 5, 10, 20 ve 40 ppb derişimlerinin 6 hafta süre ile etkisinde bırakılarak duyarlı oldukları derişimler saptanmıştır. Deneyler metallerin her derişimi için 3 tekrarlı olarak yürütölmüş ve her metal için 15 adet olmak üzere toplam 45 adet 1 litre hacimli polipropilen akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumların her birine 900 ml metallerin belirlenen derişimlerdeki çözeltileri eklenerek her akvaryuma 1135 ± 0.01 mg yaş ağırlıktaki 4 ergin *L. stagnalis* bireyi yerleştirilmiştir. Bu şekilde her metal için 60 olmak üzere toplamda 180 ergin birey kullanılmıştır. Akvaryumların 900 ml ölçekli kısmından matkapla açılan 2 cm çaplı açıklıklara bireylerin ve yumurta keselerinin geçemeyeceği genişlikteki plastik filtreler silikon kullanılarak sabitlenmiştir. Akvaryumlardaki su değişimleri günlük olarak yapılmıştır. Önce akvaryum suları yarıya kadar boşaltılarak daha sonra klorsuz çeşme suyu ile akvaryum suları yavaş bir şekilde devir daim yapılmış suyun yanlardaki plastik filelerden atılması sağlanmıştır. Hazırlanmış taze stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak akvaryum ortamının ağır metal uygulamaları sağlanmıştır.

Deney akvaryum sularındaki ağır metallerin Cu, Ni, Pb'nun belirtilen derişimlerde sabit tutulması ve kontrolü için ağır metal uygulamasından sonraki her 24 saatte bir 0.45 µm seluloz nitrat şırınga (Acro-disc, Pall Life Science; MI- USA) ile su örnekleri filtre edilerek % 1 nitrik asit (HNO₃, Fisher Scientific, Trace Metal Grade) ile asitleştirilerek ağır metal analizleri grafit fırınlı atomik absorbsiyonda belirlenmiştir (Varian 220Z, Varian, Walnut Creek., CA, USA) (Brix ve ark.,

2011). Akvaryum sularının çözünmüş oksijen seviyesi ve sıcaklıkları Pro ODO Digital YSI ile belirlenmiştir. Deney akvaryum suyunun fiziksel ve kimyasal özelliklerinin aritmetik ortalama ve standart hataları Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Kültür ve Deney Akvaryumlarındaki Suyun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

	Kültür Akvaryumu	Deney Akvaryumları
Çözünmüş oksijen	215.5±38.99 (mmol/L)	213.3±21.03 (mmol/L)
Su sıcaklığı	21.4±0.20 °C	20.2±0.18 °C
Sıcaklık (Lab. ort.)	25± 1°C	25± 1°C
pH	7.47±0.09	7.75±0.03
HCO ₃	0.68±0 mmol/L	0.62±0 mmol/L
Na ⁺	1.14±0.02 mM	1.09±0.02 mM
Cl ⁻	1.08±0.05 mM	1.07±0.05 mM
Ca ⁺²	0.54±0.08 mM	0.52±0.07 mM
Mg ⁺²	0.13±0.02 mM	0.12±0.01 mM
Aydınlatma Peryodu	16 saat karanlık / 8 saat aydınlık	16 saat karanlık / 8 saat aydınlık

Deneyler sürdürüldüğü 6 hafta süresince salyangozlar 94 gramında 31.02 mg Ca⁺² içeren romaine türü marulla beslenmişlerdir (www.whfoods.com; Brix ve ark., 2012).

Birinci seri deneylerin devamı niteliğinde olan ve 6 hafta sürdürülen ikinci seri deneylerde yumurta keselerinden çıkan birey sayılarının saptanması amaçlanmıştır. Bu seride, birinci seride mortalitenin gözlenmediği veya yumurta keselerinin bırakıldığı kontrol, 10 µg Cu/L, 40 µg Ni/L ve 40 µg Pb/L derişimlerinin her birinden alınan 18'er adet yumurta kesesi kullanılmıştır. Kullanılan Cu, Ni ve Pb derişimleri baz alınarak deneyler 3 grup halinde ve üçer

tekrarlı olarak yürütülmüş ve her tekrarda 3 yumurta kesesi kullanılmıştır. Bu seri deneylerde her grupta 12 akvaryum toplamda 36 akvaryum kullanılmıştır.

Daha önce ağır metal uygulaması yapılmış (10 ppb bakır, 40 ppb nikel ve 40 ppb kurşun) yetişkin bireylerden alınan yumurta keseleri denenecek olan bakır, nikel ve kurşunun 0 ve 5'er ppb derişimlerine aktarılmıştır (Munley ve ark., 2013).

Bakır grubu dikkate alındığında bu grubun birinci serideki kontrolünden alınan 9 yumurta kesesi üç tekrarlı kontrol olarak ($n=3$) metal içermeyen suya (0 ppb Cu $\rightarrow$ 0 ppb Cu/L), diğer 9 kese ise yine üç tekrarlı ($n=3$) olarak 5ppb Cu çözeltisine (0 ppb Cu $\rightarrow$ 5 ppb Cu) aktarılmıştır. Aynı yöntemle birinci serideki 10 $\mu\text{gCu/L}$ çözeltisinden alınan 18 yumurta kesesinin dokuzu üç tekrarlı ve her tekrarda 3 kese olacak şekilde bakır içermeyen suya (10 ppb Cu $\rightarrow$ 0 ppb Cu), diğer dokuzu ise 5 $\mu\text{gCu/L}$ çözeltisine (10 ppb Cu $\rightarrow$ 5 ppb Cu) aktarılmıştır.

Benzer işlemler birinci serideki Ni ve Pb'nin 0 ppb ve 40 ppb çözeltilerinden çıkarılan 18'er yumurta kesesi için uygulanmıştır [(0 ppb Ni $\rightarrow$ 0 ppb Ni), (0 ppb Ni $\rightarrow$ 5 ppb Ni), (40 ppb Ni $\rightarrow$ 0 ppb Ni), (40 ppb Ni $\rightarrow$ 5 ppb Ni); (0 ppb Pb $\rightarrow$ 0 ppb Pb), (0 ppb Pb $\rightarrow$ 5 ppb Pb) (40 ppb Pb $\rightarrow$ 0 ppb Pb), (40 ppb Pb $\rightarrow$ 5 ppb Pb)].

İkinci seri deneylerde yumurtalardan çıkan salyangozlar besin yolu ile Ca^{+2} girişini engellemek amacıyla marul yerine Ca^{+2} içermeyen tatlı patatesle beslenmişlerdir (www.whfoods.com; Brix ve ark., 2012).

Üçüncü seri deneylerde Cu, Ni ve Pb'nin mortaliteye neden olmayan derişimlerinin 96 saat ve 42 gün süreli etkisinde ergin salyangozların dokularındaki Na^+/K^+ -ATPaz, Ca^{+2} ATPaz ve protein düzeyleri belirlenmiştir. Denenen metaller dikkate alınarak üç grup olarak planlanan deneylerde her grupta kullanılan 12 akvaryumdan altısı 96 saatte, diğer altısı ise 6 haftalık süreç sonunda deneylerden çıkartılmıştır. Bir grupta her süre için kullanılan 6 adet polipropilen akvaryumun üçüne 900 ml çeşme suyu, diğer üçüne ise aynı miktarda metallerin mortaliteye neden olmadığı belirlenen derişimlerindeki çözeltileri (10 ppb Cu, 40 ppb Ni, 40

ppb Pb) eklenmiş ve her akvaryuma 4 adet ergin *L.stagnalis* bireyi konmuştur. Deney çözeltileri her gün hazırlanan stok çözeltilerden değiştirilmiş ve bireyler günlük olarak romaine türü marulla beslenmişlerdir.

3.2.2. Ergin *L. stagnalis* Bireylerinin Na^+/K^+ -ATPaz, Ca^{+2} ATPaz Enzim Aktivitesi ve Toplam Protein Analizi

Bakır, nikel ve kurşun etkisindeki salyangozların dokularındaki Na^+/K^+ -ATPaz, Ca^{+2} ATPaz aktivasyonu ve Protein (BSA) miktar analizi yetişkin tatlısu salyangozları ortalama 1135 ± 0.01 mg yaş ağırlığa gelmesiyle 96 saat ve 42 gün süreli deneyler başlatılmıştır. Deneyler bir önceki deneyde belirlenen salyangozlar için % hayatta kalma durumuna bağlı en duyarlı oldukları dönemdeki ağır metal derişimleri (bakır için 10 ppb, nikel ve kurşun için 40 ppb) temel alınarak deney solusyonları günlük hazırlanmıştır. Belirtilen ağır metal etkileri altında ve kontrol grubu için 3 tekrarlı 1000 ml polipropilen akvaryumlarda 900 ml ye kadar hazırlanan test solusyonları içinde akvaryumlara 4'er birey yerleştirilerek 96 saatlik ve 42 günlerde her bir süre için 12 akvaryum 48 birey, toplam 24 akvaryum ve toplamda ise 96 birey kullanılmıştır.

Salyangozlar $+5^\circ\text{C}$ iklimlendirme dolabında uyuşturulduktan sonra hepatopankreas, kas ve manto dokuları disekte edilerek her biri ayrı ayrı 1.5 ml'lik eppendorf tüpleri içerisinde ölçüm zamanına kadar -80°C derin dondurucuda (Thermo Scientific) korunmuştur. Dokular soğuk buz üzerinde ve 20 mM Tris-HCL, 0.25 mM ve 1mM EDTA süroz (pH:7.7) karışımına doku ağırlığının 1/10 eklenerek 2-3 dakika teflon homojenizatörde homojenize edilmiştir. Dokular $13000 \times \text{g}$ ($+4^\circ\text{C}$) 20 dakika sentrifüj (Eppendorf ^{5415}D) edilmiştir. Na^+/K^+ ATPaz, Ca^{+2} ATPaz aktivitesi ve toplam protein seviyesi için süpernatantlar alınmıştır. Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesini ölçmek için kullanılan yöntem Çizelge. 3.3. de ayrıntılı olarak verilmiştir. İnorganik fosfat tayini Atkinson ve ark. (1973) göre yapılmıştır.

Ca^{+2} ATPaz aktivitesi ise CaCl_2 varlığında ve yokluğunda ölçülen enzim aktiviteleri arasındaki farka dayanarak hesaplanmıştır. İnorganik fosfat derişimi, Na^+/K^+ -ATPaz, Ca^{+2} ATPaz enzim aktivite ölçümleri 390 nm de, toplam protein düzeyleri ise hazır sığır serum albumin kitleri (Thermo Scientific) kullanarak mikropłaka okuyucuda (Spectra Max Plus³⁸⁴) 562 nm’de gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. *C. gariepinus* Doku Metal Analizi

Deneylerde toplam 8 tane akvaryum kullanılmıştır. 40x120x40 cm boyutlarında ve içerisinde 120 L klorsuz şebeke suyu bulunan deney akvaryumları kullanılmıştır. Deneylerde selenyum ($\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se}$, Merck), çinko (ZnCl_2 , Merck) ve nikel (NiCl_2 , Merck) çözeltilerinin akvaryumlarda homojen dağılması ve akvaryum tabanına çökmesini önlemek amacıyla trisodyumsitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi kullanılmıştır. Birinci akvaryuma selenyum (5 ppm), ikinci akvaryuma çinko (5 ppm Zn), üçüncü akvaryuma nikel (2 ppm Ni), dördüncü akvaryuma Se+Zn (5+5 ppm), beşinci akvaryuma Zn+Ni (5+2 ppm), altıncı akvaryuma Se+Ni (5+2 ppm), yedinci akvaryuma ise ve Se+Zn+Ni karışımı (5+5+2 ppm) eklenmiştir. Sekizinci akvaryuma ise kontrol grubu olarak metal içermeyen 120 L. çeşme suyu eklenmiştir. Her bir akvaryuma 9 balık konulmuş olup toplamda 72 balık kullanılmıştır. Deney süresinde selenyum, çinkonun ve nikelin belirtilen derişimleri için *C. gariepinus* bireylerinde 96 saat LC_{50} ’sinin 1/8, 1/7.3 ve 1/4.5’i olan derişimleri kullanılmıştır (Buhl ve Hamilton, 1991; Ololade ve Oginni, 2009; Ololade ve Oginni, 2010).

21 gün süre ile yürütölen deneylerin 7 ve 14 günlük sürelerinde balıklar metallerin belirlenen derişimlerinin etkisinde bırakılmış, son 7 günde ise deney balıkları metal içermeyen dinlenmiş çeşme suyuna alınarak metal eliminasyon düzeyleri incelenmiştir. Belirlenen süreler sonunda akvaryumlardan alınan her balığın solungaç, karaciğer ve böbrek dokuları ağır metal analizleri, enzim analizleri ve protein miktarlarının analizi için üç parçaya ayrılmıştır. Enzim ve

protein analizleri için kullanılacak dokular NaCl'nin % 0.59'luk çözelti ile yıkanmış ve tartılıp ependorf tüplerinde analiz zamanına kadar -80 °C derin dondurucuda (Sanyo/MDF-U30865) korunmuştur. Belirlenen her bir deney süresi sonunda 8 akvaryumdan 24, toplamda 72 balığın dokuları disekte edilmiştir.

Akvaryum sularının sertlik ve alkalinite değişimleri titrimetrik yöntemler kullanılarak belirlenmiştir. Akvaryum suyu pH değişimlerinde WTW 330i pH metre cihazı, çözülmüş oksijen miktarı ile sıcaklık değişimlerinde ise YSI 550A marka oksijen metre kullanılmıştır. Test solüsyonları iki günde bir hazırlanmıştır. Deney süresince cam malzeme temizliğine, çözeltilerin uygun saklama koşullarına dikkat edilmiştir (APHA/AWWA/WPCF, 1995). Çözeltilerin hazırlanmasında ultra saf su (Millipore Elix Milli-Q Sistem) kullanılmıştır. Deney akvaryumlarında klorsuz şebeke suyu kullanılmış olup ağır metal uygulamalarından sonra akvaryum suları filtre edilmiş ve ağır metal seviyeleri ölçümü ICP Spektrometre (Thermo Scientific, ICAP 6008) ile yapılmıştır. Deneylerin yürütüldüğü deney akvaryumlarındaki su ortamının bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin aritmetik ortalama ve standart hataları (n=3), Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Balıklar metal analizine hazırlanmak üzere çeşme suyu ile yıkanıp kurutma kağıdı ile kurutulduktan sonra balık boy ve ağırlıkları belirlenmiştir. Balıklar spinal felç yapılarak solungaç, karaciğer ve böbrek dokuları disekte edilmiştir. Çıkarılan dokular petri kaplarına aktarılmış ve etüvde (Mettler) 150 °C'de 48 saat süreyle kurutulmaya bırakılmıştır. Sabit tartıma getirilen dokular ± 0.0001 gr hassas terazide (Sartorius CP-2248) kuru ağırlıkları alınarak, dokular deney tüplerine aktarılmıştır. Dokuların üzerlerine 2:1 oranında nitrik asit (HNO_3 , Merck, % 65, Ö.A. 1.40) ve perklorik asit (HClO_4 , Merck, % 60, Ö.A. 1.53) karışımı eklenerek çeker ocakta 120 °C'de 3 saat süreyle yakılmıştır (Muramoto, 1983). Yakma işlemi tamamlanan örnekler polietilen tüplere aktarılmış ve üzerleri ultra saf su ile 5 ml'ye tamamlanarak selenyum, çinko ve nikel analizine hazır hale getirilmiştir.

(APHA/AWWA/WPCF, 1995). Dokulardaki metal düzeyleri ICP Spektrometre (Thermo Scientific, ICAP 6008 Series) cihazla belirlenmiştir.

Çizelge 3.2. Deney Akvaryumlarındaki Suyun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

	Akümülayon	Eliminasyon
Çözünmüş oksijen	7.17±0.26 mg O ₂ /L	7.4±0.09 mg O ₂ /L
Su sıcaklığı	22.4±0.14 °C	22.2±0.13 °C
Sıcaklık (Lab. ort.)	25± 1°C	25± 1°C
pH	8.29±0.08	8.6±0.03
Toplam sertlik	361.25±4.6 mg CaCO ₃ /L	376.25±7.83 mg CaCO ₃ /L
Toplam alkalinite	275±17.6 mg CaCO ₃ /L	287.5±16.3 mg CaCO ₃ /L
Salinite	0.07±0.01 µS/cm	0.06±0.01 µS/cm
Selenyum	4.90±0.10 mg/L	5.15±0.12 mg/L
Çinko	4.88±0.15 mg/L	5.20±0.23 mg/L
Nikel	2.01±0.09 mg/L	2.18±0.18 mg/L
Aydınlatma Peryodu	12 saat karanlık / 12 saat aydınlık	12 saat karanlık / 12 saat aydınlık

Enzim analizi ve protein tayini için dokular ağırlıklarının 1/10'u oranında homojenizasyon tamponu (250 mM Sukroz, 20 mM Trizma-Base, 1 mM EDTA - pH: 7.8) ile 9500 rpm'de 1.5 dakika süreyle buz makinasından alınan (Scotsman AF-20) buz küpleri üzerinde soğuk ortamda homojenize edilmiştir. Ependorf tüplerine aktarılan homojenatlar 13.000 g'de 20 dk (4°C) santrifüj edilmiş (Hettich, Zentrifugen Universal 320 R) ve elde edilen supernatantlar spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmek için saklanmıştır (Cao ve ark., 2003).

3.2.4. *C. gariepinus* Doku Na⁺/K⁺-ATPaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Cam deney tüpüne 870 µL inkübasyon ortamı ve 30 µL örnek konmuş ve sıcak su banyosunda 37 °C'de 5 dakika boyunca (Memmert) inkübe edilmiştir.

Tüplerin üzerlerine 100 µL 3 mM Na₂ATP konarak reaksiyon başlatılmıştır. İnkübasyon süresinin (30 dakika) ardından tüplere 500 µL soğuk saf su (+4°C) ilave edilmiş ve 390 nm de spektrofotometre (Uv Mini 1240- UV VIS marka) ile köre karşı okunmuştur (Atkinson ve ark., 1973). Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesini belirlemek için çözeltiler inkübasyon ortamları, örnek ve ATP olmak üzere farklı deney tüplerine tabloda belirtildiği şekilde eklenmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Na⁺/K⁺-ATPaz Yöntemi

	Toplam ATPaz	Mg ATPaz	Örnek Kör	ATP Kör	Kör
- İnkübasyon Ortamı	870 µL	-	870 µL	870 µL	870 µL
+ İnkübasyon Ortamı	-	870 µL	-	-	-
Örnek	30 µL	30 µL	-	30 µL	-
H ₂ O	-	-	30 µL	100 µL	130 µL
5 dakika inkübe edilir.					
ATP	100 µL	100 µL	100 µL	-	-
37 °C’de 30 dakika inkübe edilir					
500 µL soğuk saf su (+ 4 °C) eklenir.					

3.2.5. İnorganik Fosfat Tayini

İnorganik fosfat tayini ATP’den açığa çıkan bir fosfatın polioksietilen 10 lauril eter ile fosfomolibdatın oluşturduğu sarı renkli bileşiğin absorbansının 390 nm’de ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Atkinson ve ark., 1973).

- 1- % 5 polioksietilen 10 Lauril eter (Kullanılmadan önce oluşan bulanıklığın giderilmesi için 37 °C’de 30- 40 dk bekletildi)
- 2- % 2 Amonyum Molibdat
- 3- Ana ayraç: 10 mL % 5 (Polioksietilen eter, 25 mL % 2 Molibdik asit ve 65 mL saf su karıştırılarak hazırlandı).

Na^+/K^+ - ATPaz deneyi için inkübasyon ortamı pH: 7.7'de 100 mM NaCl, 20 mM KCl, 4 mM MgCl_2 , 3 mM ATP, 1mM oubain ve 40 mM tris baz olacak şekilde hazırlanıp 37 °C'de 5 dakika su banyosunda tutulmuştur. Deney tüplerine 3 ml ana ayıraçtan ilave edildikten sonra 10 dakika oda sıcaklığında bekletilerek 390 nm dalga boyunda açığa çıkan sarı renkli kompleksin absorbansının ölçülmesiyle inorganik fosfat miktarı belirlenmiştir. Sonuçlar 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 μM KH_2PO_4 çözeltisinden hazırlanarak elde edilen standart eğri üzerinden değerlendirilmiş, *C. gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki enzim aktivitesi belirlenmiştir.

3.2.6. Toplam Protein Analizi

Doku homojenatlarında protein analizleri Lowry yöntemine göre yapılmıştır (Lowry ve ark., 1951). Proteinlerin alkali bakır sülfat ilavesiyle, fosfotungstik asit ile mavi renkli kompleks oluşturması temeline dayanır. Oluşan bu renkli bileşiğin spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda absorbansı ölçülerek kantitatif olarak protein miktarı belirlenir. Proteinlerin çoğunda tirozin veya triptofan veya her iki aminoasit eşit oranlarda bulunmaktadır. Bu aminoasitler, fosfotungstik-fosfo molibdik asidi (Folin-Ciocalteu) redükleyerek mavi renk verirler. Bu yöntem ile, proteinler önce alkali ortamda bakır iyonu ile reaksiyona girerek bakır-protein kompleksini oluşturur, daha sonra ortama Folin-Ciocalteu çözeltisi eklendiğinde bakır-protein kompleksi, tirozin ve triptofan kökleriyle birleşir.

Çözeltiler ve ayıraçlar:

- 1- % 2 alkali Na_2CO_3 çözeltisi.
- 2- Bakır sülfat- sodyum potasyum tartarat çözeltisi (% 1 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. 2 g % 2'lik Na-K tartarat)

- 3- Günlük alkali çözelti (50 ml alkali Na_2CO_3 çözeltisi, 1ml $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - Na-K tartarat çözeltisi)
- 4- Folin-Ciocalteu Çözeltisi (1 ml Folin-Ciocalteu + 1.5 oranında saf su)
- 5- Standart Çözelti: 1 mL'de 1 mg (1000 $\mu\text{g/mL}$) sığır serum albumini olacak şekilde stok sığır serum albumini çözeltisi hazırlanmış ve bundan yapılan uygun seyreltmelerle 100 - 200 - 300 - 400 - 500 $\mu\text{g/mL}$ olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmıştır.

Protein miktarını belirlemek için çözeltiler kör, standart ve örnek olmak üzere farklı deney tüplerine tabloda belirtildiği şekilde eklenmiştir (Çizelge. 3.4.).

Örnek tüpleri karıştırılarak 30 dakika oda sıcaklığında beklenilmiş ve bu sürenin sonunda oluşan mavi renkli kompleks, 750 nm dalga boyunda su körüne karşı okunmuştur.

C. gariepinus dokularında toplam protein düzeyini belirlemek için stok sığır serum albumini çözeltisinden uygun seyreltmeler yapılarak 100 - 200 - 300 - 400 - 500 $\mu\text{g/mL}$ olacak şekilde hazırlanan standart derişimlerine karşılık gelen absorbans değerleri belirlenerek standart eğride regresyon eşitliği hesaplanmıştır.

Çizelge 3.4. Lowry Yöntemi ile Protein Tayini

Çözeltiler	Kör (ml)	Standart (ml)	Örnek (ml)
Saf Su	0.3	-	-
Standart (100 $\mu\text{g/mL}$)	-	0.3	-
Örnek	-	-	0.3
Alkali Çözelti	0.3	0.3	0.3
15 Dakika Oda Sıcaklığında Bekletilir.			
Folin-Ciocalteu	0.3	0.3	0.3

3.2.7. Na⁺/K⁺- ATPaz Enzim Aktivitesinin Hesaplanması

$$\text{ATPaz aktivitesi} = \frac{\text{OD}/0.0014^* \times 4.5 \text{ (mL)}}{1000 \times 0.03 \text{ (mL)} \times 0.5 \text{ (sa.)} \times \text{mg prot./mL}} \quad (3.1)$$

$$= \mu\text{mol Pi/mg prot./sa.}$$

* = İnorganik fosfat regresyon eşitliği

Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi, toplam-ATPaz (Ouabain içermeyen) aktivitesinden Mg²⁺ATPaz (Ouabain içeren) aktivitesinin çıkarılması ile hesaplanmıştır. Enzim aktiviteleri, $\mu\text{mol Pi/mg prot./sa.}$ cinsinden verilmiştir.

3.2.8. İstatistiksel Analizler

Kontrol ve deney grupları arasındaki istatistiksel ayırım $P < 0.05$ istatistik ayırma göre değerlendirilmiştir. Dataların hesaplanmasında ve grafik çizimlerinde Microsoft Excel programı kullanılmıştır. Deneylerden elde edilen verilerin istatistik analizlerinde regresyon analizi, varyans analizi, Student - Newman Keul's (SNK) uygulanarak SPSS paket program 23.0 ile yapılmıştır (Sokal ve Rohlf, 1969).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

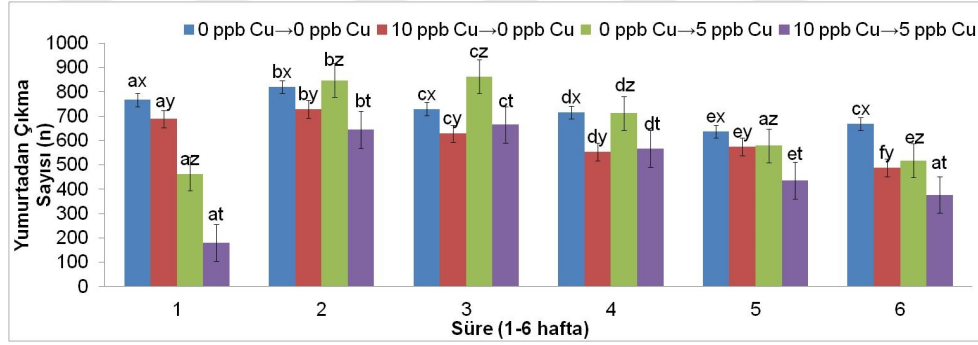
4.1.1. *L. stagnalis* F₁ Dölü Salyangozlarının Yumurtadan Çıkma Sayıları

Bakır, nikel ve kurşunun 5, 10, 20 ve 40 ppb derişimlerinde 6 hafta süreli etkisinde *L. stagnalis*'in yumurta kesesi bırakmaya duyarlı oldukları üst derişimler bakır için 10 ppb, nikel ve kurşun için 40 ppb olarak belirlenmiştir.

Metallerin belirlenen derişimlerinde bırakılan *L. stagnalis*'den elde edilen yumurta keseleri ilgili metalin 0 ve 5 ppb derişimlerinin etkisinde 6 hafta süre ile bırakılarak keselerden çıkan birey sayıları belirlenmiştir (Şekil 4.1 - 4.2 - 4.3).

Kontrol grubundan alınarak 5 ppb Cu etkisine aktarılan yumurta keselerinden çıkan yumurtaların açılımı kontrolde kalan yumurta keselerindeki yumurtalara göre 1. haftada % 40 oran ile en fazla azalmayı, 3. haftada ise % 15 oranla en fazla artmayı göstermiştir ($P<0.05$). Bakırın 10 ppb derişimli etkisinden toplanan yumurta kesesinin, bakırın 0 ppb derişimli etkisinde bırakılması ile elde edilen yumurta açılımı kontrole göre 2. haftada % 11 ve 6. haftada % 13 oranında en fazla azalmayı göstermiştir ($P<0.05$). Bakırın 10 ppb derişimli etkisinden toplanan yumurta kesesinin tekrar bakırın 5 ppb etkisinde bırakılması ile yumurta kesesinden çıkan birey sayısı kontrole göre en fazla azalmayı % 9 ile 3. haftada ve % 19 oranı ile 4. haftada göstermiştir ($P<0.05$). Birinci, 2., 5. ve 6. haftada bakırın 10 ppb etkisinde kalmış salyangozlardan alınan yumurta keselerinin, bakırın 5 ppb etkisindeki yumurta çıkış sayısı kontrole göre % 77, % 21, % 25 ve % 33 oranlarında azalma göstermiştir ($P<0.05$). Üçüncü ve 4. haftada bakır 10 ppb derişimlerinden alınan yumurta keselerinin bakır etkisinde bırakılmadan incelendiği yumurta keselerindeki yumurta açılımı kontrole göre % 14 ve % 21 oranlarında azalma göstermiştir ($P<0.05$). Bakırın tüm derişimlerinde en fazla yumurta açılım sayısı 2. ve 3. haftada belirlenmiştir ($P<0.05$). İkinci ve 3. haftada

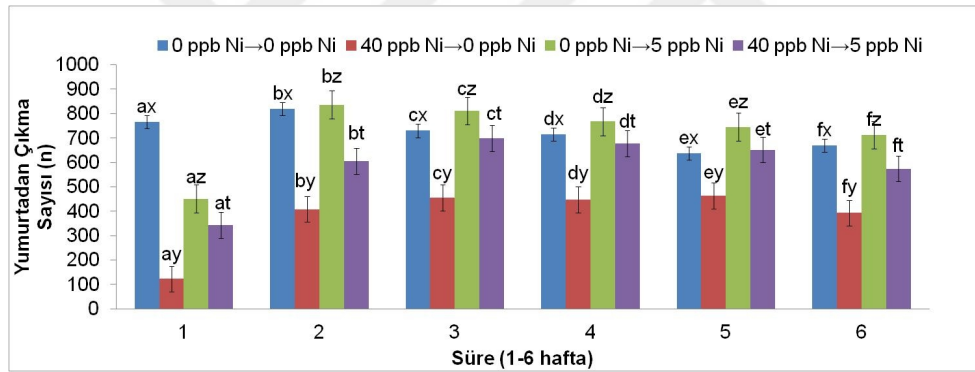
en fazla yumurta açılım sayısı kontrol grubundan alınan yumurta keselerinin tekrar bakırın 5 ppb etkisinde bırakılanlarında belirlenmiştir ($P<0.05$). Dördüncü haftada tüm gruplarda en fazla yumurtadan çıkış, kontrol grubundaki salyangozlardan alınan yumurta keselerinin bakırın 5 ppb etkisinde bırakılanlarında belirlenirken en az yumurta çıkışı bakırın 10 ppb etkisinde kalmış salyangozlardan elde edilen yumurta keselerinin bakır derişimi etkisinde bırakılmayanlarda belirlenmiştir. Beşinci ve 6. haftada salyangoz yumurta keselerinden çıkan yumurta sayısı en az bakırın 10 ppb derişimli etkisinden alınarak bakırın 5 ppb etkisinde bırakılan yumurta keselerinde belirlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Bakır derişimleri etkisindeki F1 dölü *L. stagnalis*'in yumurta keselerinden çıkma sayısı. a, b, c ve d harfleri süreler arası ayrımı, x, y, z ve t harfleri ise gruplar arası ayrımı belirtmek için kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır. $\bar{X} \pm Sx$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata, (n=3-6).

Kontrol grubundan alınarak nikelin 5 ppb derişimli etkisinde bırakılan yumurta keselerindeki yumurtaların açılım sayısı kontrole göre 1. haftada % 41 oranında azalma, 3. haftada % 11 oranında artma göstermiştir ($P<0.05$). Nikelin 40 ppb derişimdeki salyangozlardan alınan yumurta keseleri nikel derişimi etkisinde bırakılmayarak gözlenmiş ve yumurta açılım sayısı kontrole oranla tüm deney süresinde azalma göstererek, en fazla azalma 1. haftada (% 84), en az azalma da 5.

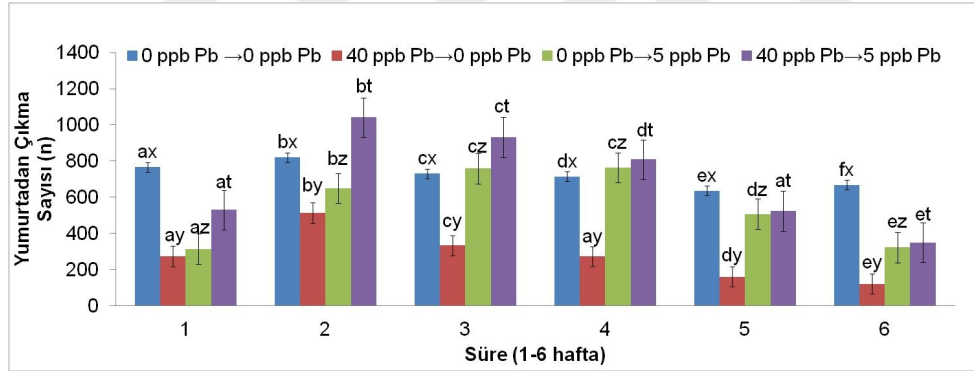
haftada (% 36) belirlenmiştir ($P<0.05$). Nikelin 40 ppb derişimli etkisinden alınan yumurta keselerinin nikelin 5 ppb etkisinde bırakılmasından elde edilen yumurta çıkış sayısı kontrole oranla tüm deney sürelerinde azalma göstermiş, yumurta çıkış sayısında en fazla azalma 1. haftada (% 55), en az azalma da 3. haftada (% 4) belirlenmiştir ($P<0.05$). Tüm haftalarda yumurta kesesindeki yumurta açılım sayısı en az nikelin 40 ppb derişimli etkisindeki salyangozlardan alınan yumurta keselerinin metal etkisinde bırakılmayanlarda belirlenmiştir ($P<0.05$). Birinci haftada en fazla yumurta açılım sayısı kontrol grubunda belirlenmiş, diğer tüm haftalarda ise en fazla yumurta açılım sayısı kontrol grubundan alınan yumurta keselerinin nikelin 5 ppb derişimli etkisindeki yumurta keselerinde belirlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Nikel derişimleri etkisindeki F1 dölü *L. stagnalis*'in yumurta keselerinden çıkma sayısı. (İstatistiksel kısaltmalar için bkz. Şekil 4.1)

Kontrol grubu salyangozlardan alınan yumurta keselerinin kurşunun 5 ppb etkisindeki yumurta açılım sayısı 3. ve 4. haftada kontrole göre % 4 ve % 9 oranlarında artma, diğer haftalarda da yumurta açılım sayısında kontrole oranla azalma belirlenmiştir. Birinci ve 6. haftada % 59 ve % 57 oranlarında en fazla azalma belirlenmiştir ($P<0.05$). Kurşun 40 ppb etkisinde kalmış salyangozlardan alınan yumurta keselerinin kurşun etkisinde bırakılmamasıyla gözlenen yumurta

açılım sayısı kontrole göre tüm sürelerde azalma göstermiş, en fazla azalma 6. haftada kontrole göre % 84 oranında, en az azalma 2. haftada % 37 oranında belirlenmiştir ($P<0.05$). Kurşunun 40 ppb derişimindeki salyangozlardan elde edilen yumurta keselerinin, kurşunun 5 ppb etkisinde bırakılmasıyla gözlenen yumurta açılım sayısında kontrole göre en fazla artma 3. haftada (% 28) ve en fazla azalma 6. haftada (% 53) belirlenmiştir ($P<0.05$). Birinci haftada tüm gruplarda yumurta kesesinden yumurta çıkışı olurken, en fazla yumurta açılım sayısı kontrol grubunda daha sonra kurşunun 40 ppb derişimindeki salyangozlardan alınan yumurta keselerinin, kurşun 5 ppb etkisine bırakılanlarında gözlenmiştir ($P<0.05$). İkinci, 3. ve 4. haftalarda en fazla yumurta açılım sayısı kurşunun 40 ppb etkisindeki salyangozlardan alınan yumurta keselerinin kurşunun 5 ppb etkisinde bırakılmasında belirlenmiştir ($P<0.05$). Beşinci ve 6. haftalarda da en fazla yumurta açılım sayısı kontrol grubunda belirlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Kurşun derişimleri etkisindeki F1 dölü *L. stagnalis*'in yumurta keselerinden çıkma sayısı. (İstatistiksel kısaltmalar için bkz. Şekil 4.1)

4.1.2. Ergin *L. stagnalis* Dokularındaki Toplam Protein Düzeyi ve Na^+/K^+ -ATPaz ile Ca^{+2} ATPaz Enzim Aktivitesi

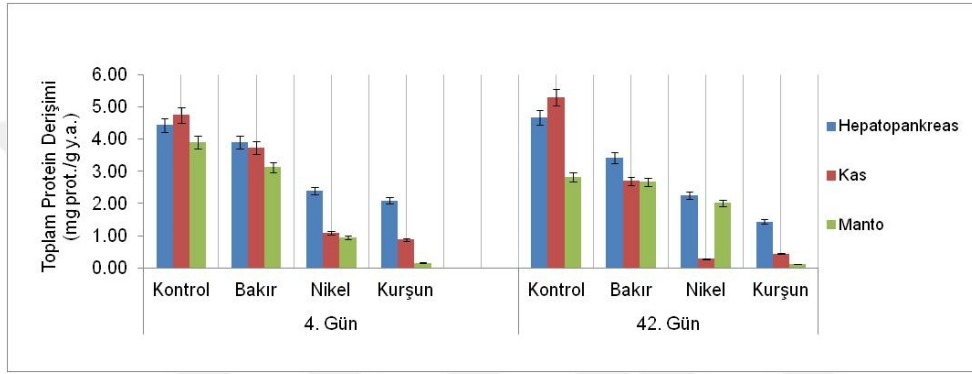
Bakırın 10 ppb, nikel ve kurşunun 40 ppb derişiminin 4 ve 42 gün süreli etkisindeki *L. stagnalis*'in hepatopankreas, kas ve manto dokularındaki toplam protein, Na^+/K^+ -ATPaz, Ca^{+2} ATPaz aktivitesi aritmetik ortalama ve standart hataları hesaplanarak istatistik değerdendirmeleri ile birlikte Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Bakırın 10 ppb, kurşun ve nikelin ise 40 ppb derişiminde 4. günde *L. stagnalis*'in hepatopankreasında toplam protein düzeyi kontrole göre % 12, % 46 ve % 53 oranında azalma göstermiştir ($P<0.05$). Bakırın 10 ppb etkisi 4. gündeki kas dokusu protein düzeyini kontrole göre % 21, nikelin 40 ppb etkisi protein düzeyini % 77, kurşunun 40 ppb etkisi ise toplam protein düzeyini % 81 oranında azalttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Bakırın 10 ppb etkisi manto dokusu protein düzeyini % 20 azaltırken, nikel ve kurşunun 40 ppb etkisi protein düzeyini % 76 ve % 96 oranında azaltmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4.1).

Bakırın 10 ppb etkisinde 42. gündeki *L. stagnalis*'in hepatopankreasında toplam protein düzeyi kontrole göre % 27 oranda, kurşun ve nikelin ise 40 ppb etkisinde % 52 ve % 69 oranında azalma göstermiştir ($P<0.05$). Kas dokusundaki toplam protein düzeyi bakırın 10 ppb, kurşun ve nikelin ise 40 ppb etkisinde % 49, % 95 ve % 92 azalma gösterirken, manto dokusunda protein düzeyi bakırın 10 ppb, kurşun ve nikelin ise 40 ppb etkisinde % 4, % 28 ve % 96 oranlarda azalma göstermiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.1).

Dördüncü ve 42. günlerdeki kontrol grubu *L. stagnalis*'in dokularındaki protein düzeyinin dokulara göre sıralaması kas > hepatopankreas > manto olarak belirlenmiştir. Bakır, nikel ve kurşunun 4. gündeki derişimleri etkisinde protein düzeyinin dokulara göre sıralaması hepatopankreas > kas > manto olarak belirlenmiştir. Bakırın 10 ppb derişimli 42 gün süreli etkisinde *L. stagnalis*'in

dokularındaki protein düzeyi hepatopankreas > kas = manto dokusu olarak belirlenmiştir. Nikelin 40 ppb etkisinde 42. gündeki protein düzeyinin dokulara göre sıralaması hepatopankreas > manto > kas dokusunda; kurşunun 40 ppb derişimli etkisinde salyangoz dokularındaki protein düzeyi sıralaması da hepatopankreas > kas > manto dokusu olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Ergin *L. stagnalis*'de total protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine denenen derişimlerdeki bakır, nikel ve kurşunun 4 ve 42. gündeki etkileri.

Çizelge 4.1. Bakır, nikel ve kurşunun farklı derişimlerinin 4 ve 42 gün süreli etkisinde ergin *L. stagnalis*'in hepatopankreas, kas ve manto dokularındaki toplam protein (mg/g y.a.) ile Na^+/K^+ -ATPaz ve Ca^{2+} -ATPaz enzim aktivite düzeyi ($\mu\text{mol Pi}/\text{mg prot.}/\text{sa}$).

DOKU	DERİŞİ M (ppb)	TOPLAM PROTEİN SÜRE (Gün)		Na^+/K^+ -ATPaz SÜRE (Gün)		Ca^{2+} -ATPaz SÜRE (Gün)	
		4. Gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	42. Gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	4. Gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	42. Gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	4. Gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	42. Gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Hepatopankreas	Kontrol	4.43±0.20 ax	4.67±0.18 ax	0.19±0.01 ax	0.19±0.00 ax	0.16±0.01 ax	0.15±0.00 ax
	10 Cu	3.90±0.14 bx	3.42±0.60 bx	0.19±0.01 ax	0.03±0.00 bx	0.16±0.01 ax	0.10±0.00 bx
	40 Ni	2.39±0.06 cx	2.26±0.01 cx	0.10±0.01 bx	0.12±0.00 cx	0.34±0.01 bx	0.14±0.01 ax
	40 Pb	2.09±0.06 cx	1.44±0.04 dx	0.07±0.00 cx	0.10±0.00 dx	0.11±0.02 cx	0.04±0.00 cx
Kas	Kontrol	4.74±0.13 ax	5.29±0.26 ax	0.23±0.01 ay	0.31±0.01 ay	0.15±0.01 ax	0.44±0.01 ay
	10 Cu	3.73±0.05 bx	2.70±0.09 by	0.11±0.01 by	0.22±0.00 by	0.07±0.00 by	0.06±0.00 by
	40 Ni	1.08±0.01 cy	0.29±0.02 cy	0.08±0.00 cy	0.02±0.00 cy	0.23±0.00 cy	0.18±0.00 cy
	40 Pb	0.88±0.01 cy	0.45±0.02 cy	0.20±0.00 dy	0.13±0.00 dy	0.24±0.01 cy	0.11±0.01 dy
Manto	Kontrol	3.91±0.04 ay	2.82±0.02 ay	0.19±0.00 ax	0.23±0.01 az	0.15±0.00 ax	0.33±0.01 az
	10 Cu	3.13±0.01 by	2.70±0.19 ay	0.06±0.00 bz	0.43±0.02 bz	0.13±0.01 bz	0.28±0.01 bz
	40 Ni	0.95±0.03 cy	2.02±0.16 bx	0.05±0.01 cz	0.08±0.00 cz	0.17±0.00 cz	0.10±0.01 cz
	40 Pb	0.16±0.00 dz	0.11±0.00 cz	0.16±0.00 dz	0.10±0.00 cx	0.15±0.00 az	0.26±0.01 bz

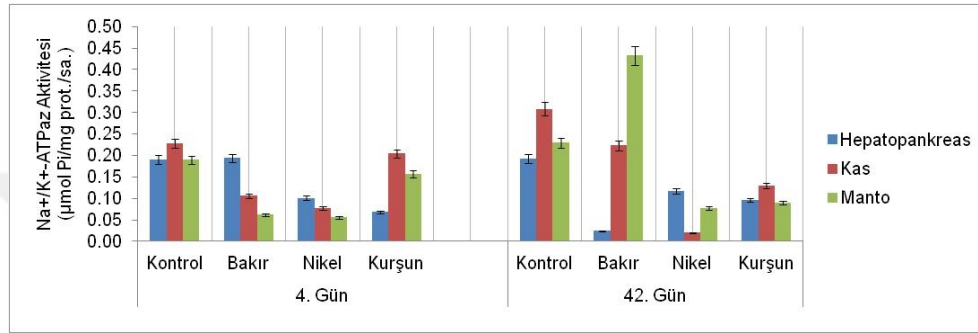
*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metallere göre x, y ve z harfleri ise dokular arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır. $\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata, (n=3).

Bakırın 10 ppb etkisindeki yetişkin *L. stagnalis*'in hepatopankreas, kas ve manto dokularında 4. gündeki Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi hepatopankreasda kontrole oranla önemli düzyede değişim göstermezken ($P>0.05$), nikel ve kurşunun 40 ppb etkisinde hepatopankreasda % 47 ve % 63 oranında azalma göstermiştir ($P<0.05$). Bakırın 10 ppb etkisi kas dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini % 52; nikel ve kurşunun 40 ppb etkisinde kas dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini % 65 ve % 13 oranında azalttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Dördüncü günde bakırın 10 ppb derişiminde manto dokusunda Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi kontrole göre % 68; nikel ve kurşunun 40 ppb etkisinin manto dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini % 74 ve % 16 oranında azalttığı belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.1).

Bakırın 10 ppb derişimi 42. günde yetişkin dönemli *L. stagnalis*'in hepatopankreas Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini kontrole göre % 84 oranında, nikel ve kurşunun 40 ppb etkisinde dokulardaki Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini % 37 ve % 47 oranında azalttığı belirlenmiştir. Kas dokusu Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi 42. günde bakır, nikel ve kurşun etkisinde % 29, % 94 ve % 58 oranında azalma göstermiştir ($P<0.05$). Bakırın 10 ppb etkisindeki manto dokusunda Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi kontrole göre % 87 artma, nikel ve kurşunun 40 ppb etkisindeki enzim aktivitesi ise % 65 ve % 57 oranında azalma göstermiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.1).

Belirtilen her iki deney süresinde de kontrol grubu *L. stagnalis*'in dokularındaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi en fazla kas dokusunda belirlenmiştir ($P<0.05$). Bakırın 10 ppb derişiminde 4. gündeki salyangoz dokularındaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi hepatopankreas > kas > manto dokusu olarak belirlenirken, 42. günde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi sıralaması da manto > kas > hepatopankreas olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Nikelin 40 ppb etkisinde 4. ve 42. günlerde enzim aktivitesinin en fazla olduğu doku hepatopankreas, 4. ve 42. gündeki enzim aktivitesinin en az olduğu doku ise manto ve kas dokusu olarak

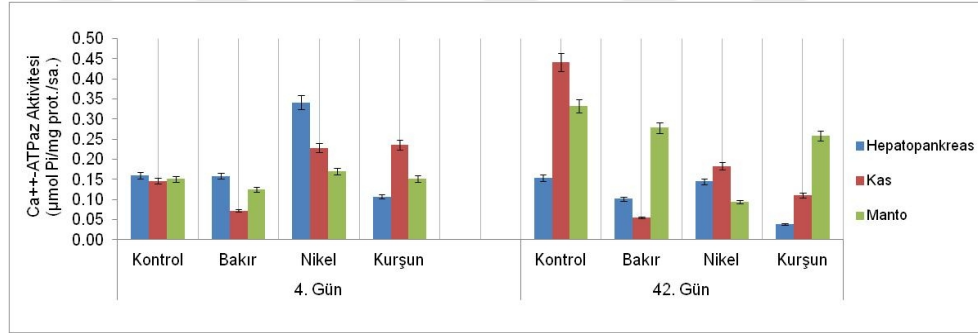
belirlenmiştir ($P<0.05$). Kurşunun 40 ppb etkisinde 4. günde doku Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi sıralaması en fazla kas > manto > hepatopankreas şeklinde, 42. gündeki doku enzim sıralaması ise kas > manto = hepatopankreas olarak belirlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Ergin *L. stagnalis*'de Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi (µmol Pi/mg prot./sa) üzerine denenen derişimlerdeki bakır, nikel ve kurşunun 4 ve 42. gündeki etkileri.

Bakır, nikel ve kurşunun eser derişimli etkisindeki *L. stagnalis*'in 4 gün süreli etkisinde, hepatopankreas dokusundaki Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitesi bakırın 10 ppb etkisinde kontrole göre değişim göstermezken ($P>0.05$), nikelin 40 ppb etkisinde % 112 artma, kurşunun 40 ppb etkisinde ise % 31 azalma gözlenmiştir ($P<0.05$). Bakırın 10 ppb derişimli 4. gündeki kas dokusu Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitesi kontrole göre % 53 oranda azalma göstermiştir ($P<0.05$). Nikelin ve kurşunun 40 ppb etkisi kas dokusu Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitesini % 53 ve % 60 oranında arttırmıştır ($P<0.05$). Bakırın 10 ppb ve etkisindeki manto dokusundaki enzim aktivitesi % 13 oranında azalma, nikelin 40 ppb derişimli etkisinde manto dokusu enzim aktivitesi kontrole göre % 13 oranında azalma göstermiş ($P<0.05$). Kurşunun 40 ppb etkisindeki manto dokusu Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitesinde önemli düzeyde değişim gözlenmemiştir ($P>0.05$) (Çizelge 4.1).

L. stagnalis'in hepatopankreas $\text{Ca}^{+2}\text{ATPaz}$ enzim aktivitesi 42. günde nikelin 40 ppb derişimli etkisinde kontrole göre önemli düzeyde değişim göstermemiştir ($P>0.05$). Bakırın 10 ppb ile kurşunun 40 ppb etkisi hepatopankreas $\text{Ca}^{+2}\text{ATPaz}$ enzim aktivitesini kontrole göre % 33 ve % 73 azaltmıştır ($P<0.05$). Kas dokusundaki enzim aktivitesi kontrole göre bakır etkisinde % 86 oranında, nikel etkisinde % 59 oranında ve kurşun derişimi etkisinde % 75 oranında azalma göstermiştir. Benzer olarak bakır, nikel ve kurşun etkisinde 42. günde manto dokusu $\text{Ca}^{+2}\text{ATPaz}$ enzim aktivitesi kontrole göre % 15, % 69 ve % 21 oranında azalma göstermiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.1).



Şekil 4.6. Ergin *L. stagnalis* 'in dokularındaki $\text{Ca}^{+2}\text{ATPaz}$ aktivitesi (µmol Pi/mg prot./sa) üzerine denenen derişimlerdeki bakır, nikel ve kurşunun 4 ve 42. gündeki etkileri

L. stagnalis'in 4. gün kontrol grubunda dokulardaki $\text{Ca}^{+2}\text{ATPaz}$ aktivitesinin dokulardaki düzeyi hepatopankreas > kas = manto, 42. günde $\text{Ca}^{+2}\text{ATPaz}$ aktivitesinin dokulara göre sıralaması da kas > manto > hepatopankreas olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Bakırın 10 ppb derişiminde 4 gün süreli etkisinde $\text{Ca}^{+2}\text{ATPaz}$ aktivitesinin dokulara göre sıralaması hepatopankreas > manto > kas dokusunda olurken, 42. gündeki dokulara göre enzim sıralaması manto > hepatopankreas > kas olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Nikelin 40 ppb 4. ve 42. günlerdeki etkisinde $\text{Ca}^{+2}\text{ATPaz}$ aktivitesi en fazla hepatopankreas ve kas

dokusunda belirlenmiş olup, kurşunun 40 ppb etkisinde Ca^{+2} ATPaz aktivitesi en fazla kas ve manto dokusunda belirlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.6).

4.1.3. *C. gariepinus*'un Dokularındaki Ağır Metal Birikimi

Selenyumun 5 ppm, çinkonun 5 ppm ve nikelin 2 ppm ortam derişimleri ile bu metallerin ikili ve üçlü kombinasyonları etkisinde bırakılan *C. gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve kas dokularında bu metallerin 7. ve 14. günlerdeki birikimi, izleyen 7 gün süre sonunda ise atılım düzeyleri incelenmiştir. Araştırmaların sürdürüldüğü 21 günlük sürede balıklarda mortalite gözlenmemiştir. Metal etkisinin başlangıcında bireylerde besin almama, akvaryum yüzeyine yönelme, akvaryum tabanında hareketsiz kalma, operkulum hareketlerinde artış gibi davranış değişiklikleri ile yüzgeçlerde dikleşme, kaudal yüzgeçte renk koyulaşması gibi morfolojik değişiklikler gözlenmiştir.

İncelenen metaller ve kombinasyonlarının etkisinde 7 ve 14 gün sürelerle incelenen *C. gariepinus*'un belirtilen dokularındaki metal birikim düzeyleri ile izleyen yedi gün sonundaki metal atılım düzeyleri Çizelge 4.2 - 4.10'da verilmiştir. Kontrol gruplarında süreye bağlı istatistik ayrım yoktur ($P>0.05$). Her üç metali tek tek ve karışımlarının kombinasyonları etkisinde metal düzeyleri genel olarak her iki birikim sürecinde de kontrole göre artarken, 14. gündeki artış da 7. güne oranla önemli düzeyde yüksektir ($P<0.05$). İzleyen yedi günlük atılım sürecinde dokulardaki metal düzeyleri genel olarak kontrol düzeylerine oranla dokuya bağlı olarak değişim göstermiştir.

Solungaç selenyum düzeyi tüm Se ve karışımlarının etkisinde kontrole göre ve 14. günde 7. güne oranla önemli artış göstermiştir ($P<0.05$). Solungaç dokusunda en fazla selenyum birikimi 7. ve 14. günlerde kontrole oranla $\text{Se}+\text{Zn}+\text{Ni}$ karışımı etkisinde olmuştur. 14. günde Se birikimi 7. güne oranla en fazla artma $\text{Se}+\text{Zn}$ karışımı etkisinde olurken (% 124), en az birikim salt Se

etkisinde (% 37) gerçekleşmiştir ($P<0.05$). Solungaç dokusu metal birikimi bakımından 14. günde Se ve karışımları arasında şu ilişki vardır; $Se+Zn+Ni > Se+Ni > Se+Zn > Se$ (Şekil 4.7 - 4.8). Depurasyon süreci olan yedi günlük süre sonunda Se ve tüm kombinasyonları etkisinde solungaç Se düzeyleri kontrol düzeyinin üzerinde kalmıştır ($P<0.05$). Solungaç Se düzeyinde en fazla depurasyon 14. gündeki birikime oranla yine bu üç metalin karışımında (% 76) olurken ($P<0.05$), en az depurasyon Se+Ni karışımında (% 58) gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un solungaç dokusundaki selenyum düzeyleri ($\mu\text{g Se/ g k.a.}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	2.99 $\pm$ 0.28 ax	3.06 $\pm$ 0.14 ax	3.00 $\pm$ 0.36 ax
Se	11.72 $\pm$ 0.91 bx	16.04 $\pm$ 0.48 by	4.72 $\pm$ 0.13 bz
Se+Zn	9.82 $\pm$ 0.53 bx	22.02 $\pm$ 0.85 cy	7.41 $\pm$ 0.46 cz
Se+Ni	17.92 $\pm$ 0.87 cx	31.33 $\pm$ 0.69 dy	13.30 $\pm$ 0.10 dz
Se+Ni+Zn	24.51 $\pm$ 1.08 dx	50.63 $\pm$ 1.12 ey	12.39 $\pm$ 0.27 dz

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Selenyumun karaciğerdeki birikimi tüm Se ve karışımlarının etkisinde kontrol düzeyine oranla her iki sürede de önemli artış gösterirken ($P<0.05$), 14. gündeki artış da 7. güne oranla önemli derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Karaciğer dokusunda en fazla selenyum birikimi 7. ve 14. günlerde Se+Ni karışımında belirlenmiştir. Yedinci güne oranla 14. günde en fazla artma Se+Zn karışımı etkisinde (% 198), en az artma ise salt Se etkisinde (% 27) gerçekleşmiştir ($P<0.05$). Karaciğer dokusu metal birikimi bakımından 14. günde Se ve karışımları

arasında şu ilişki vardır; $Se+Ni > Se+Zn > Se+Zn+Ni > Se$ (Şekil 4.7 - 4.8). Depurasyon süreci sonunda Se ve tüm kombinasyonları etkisinde karaciğer Se düzeyleri, selenyumun tek başına etkisi dışında, kontrol düzeyinin üzerinde kalmıştır ($P<0.05$). Karaciğer Se düzeyinde en fazla depurasyon 14. gündeki birikime oranla salt Se etkisinde (% 72) olurken, en az depurasyon Se+Ni karışımı etkisinde (% 16) belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un karaciğer dokusundaki selenyum düzeyleri ($\mu g\ Se/ g\ k.a.$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
Kontrol	14.17 $\pm$ 0.42 ax	12.49 $\pm$ 0.40 ax	14.17 $\pm$ 0.42 ax
Se	34.56 $\pm$ 2.18 bx	43.85 $\pm$ 1.57 by	12.43 $\pm$ 1.44 az
Se+Zn	21.25 $\pm$ 1.85 cx	63.24 $\pm$ 1.61 cy	23.33 $\pm$ 0.41 bx
Se+Ni	53.32 $\pm$ 0.68 dx	77.17 $\pm$ 1.03 dy	64.61 $\pm$ 0.76 cz
Se+Ni+Zn	31.77 $\pm$ 0.51 bx	54.20 $\pm$ 0.73 ey	23.64 $\pm$ 1.81 bz

$\bar{X} \pm S\bar{X}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Selenyum ve karışımları etkisinde *C. gariepinus*'da böbrek dokusundaki selenyum birikimi 7. ve 14. günlerde kontrol düzeyine oranla artış göstermiştir ($P<0.05$). Böbrek dokusunda en fazla selenyum birikimi 7. ve 14. günlerde Se+Ni karışımı etkisinde belirlenirken, en az selenyum birikimi ise salt Se etkisinde gözlenmiştir ($P<0.05$). Yedinci güne oranla % 10 kadar bir azalmanın gözleendiği Se+Zn+Ni karışımı etkisi dışındaki tüm gruplarda Se düzeyinde 14. günde önemli bir artış gözlenmiştir ($P<0.05$). Yedinci güne oranla 14. günde en fazla artma salt Se etkisinde (% 73), en az artma ise Se+Ni karışımı etkisinde (% 8) gerçekleşmiştir

($P<0.05$). Böbrek dokusu metal birikimi bakımından 14. günde Se ve karışımları arasında şu ilişki vardır; $Se+Ni > Se+Zn > Se+Ni+Zn > Se$ (Şekil 4.7 - 4.8). Depurasyon süreci sonunda Se ve tüm kombinasyonları etkisinde böbrek Se düzeyleri kontrol düzeyinin üzerindedir ($P<0.05$). Böbrek dokusundaki Se düzeyinde en fazla depurasyon 14. gündeki birikime oranla Se+Ni karışımı etkisinde (% 74) olurken ($P<0.05$), en az depurasyon Se+Ni+Zn karışımı etkisinde (% 61) gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un böbrek dokusundaki selenyum düzeyleri ($\mu g\ Se/g\ k.a.$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	5.06 $\pm$ 0.38 ax	5.21 $\pm$ 0.52 ax	5.85 $\pm$ 0.34 ax
Se	16.04 $\pm$ 0.13 bx	27.76 $\pm$ 0.49 by	8.81 $\pm$ 0.05 bz
Se+Zn	27.24 $\pm$ 0.27 cx	44.53 $\pm$ 0.69 cy	14.08 $\pm$ 0.48 cz
Se+Ni	67.98 $\pm$ 0.20 dx	73.30 $\pm$ 1.43 dy	19.23 $\pm$ 0.90 dz
Se+Ni+Zn	37.13 $\pm$ 0.69 ex	33.46 $\pm$ 0.12 ey	13.21 $\pm$ 0.35 cz

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

C. gariepinus'un solungaç dokusundaki çinko birikimi çinkonun selenyum ve nikel ile olan karışımları etkisinde kontrole oranla ve 14. günde de 7. güne oranla önemli bir artış göstermiştir ($P<0.05$). Yedinci ve 14. günde en fazla çinko birikimi salt Zn etkisinde, en az çinko birikimi Zn+Ni karışımı etkisinde belirlenmiştir. Solungaç dokusunda 7. güne oranla 14. günde en fazla artma Zn+Ni+Se karışımı etkisinde (% 26), en az artma ise Zn+Se karışımı etkisinde (% 12) gözlenmiştir ($P<0.05$). Solungaç dokusu çinko birikimi bakımından 14. günde Zn ve karışımları arasında şu ilişki vardır; $Zn > Zn+Ni+Se > Zn+Se > Zn+Ni$

(Şekil 4.9 - 4.10). Depurasyon süreci sonunda Zn ve tüm kombinasyonları etkisinde solungaç Zn düzeyleri çinkonun tek başına etkisi dışında kontrol düzeyinin üzerinde kalmıştır ($P<0.05$). Solungaç dokusu Zn düzeyinde en fazla depurasyon 14. gündeki birikime oranla Zn etkisinde (% 41) olurken ($P<0.05$), en az çinko depurasyonu Zn+Se karışımında (% 14) belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un solungaç dokusundaki çinko düzeyleri ($\mu\text{g Zn / g k.a.}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	92.96 $\pm$ 0.52 ax	90.88 $\pm$ 0.43 ax	90.36 $\pm$ 0.12 ax
Zn	134.33 $\pm$ 0.33 bx	163.42 $\pm$ 0.82 by	95.78 $\pm$ 0.04 az
Zn+Se	131.55 $\pm$ 0.68 cx	147.25 $\pm$ 1.46 cy	127.04 $\pm$ 0.85 bz
Zn+Ni	108.87 $\pm$ 0.43 dx	129.17 $\pm$ 0.93 dy	105.15 $\pm$ 0.52 cz
Zn+Ni+Se	122.20 $\pm$ 0.69 ex	154.10 $\pm$ 0.55 ey	102.10 $\pm$ 0.45 dz

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Karaciğer dokusu çinko düzeyi 7. ve 14. günlerde çinko ve tüm karışımlarının etkisinde, 14. günde Zn+Ni dışında, kontrole oranla önemli bir artış göstermiştir ($P<0.05$). Karaciğer dokusunda en fazla çinko birikimi 7. günde Zn+Ni+Se karışımı etkisinde, 14. günde Zn+Se karışımı etkisinde belirlenmiştir ($P<0.05$). Yedinci güne oranla 14. günde en fazla artma Zn+Se karışımı etkisinde (% 34), en az artma ise salt Zn etkisinde (% 26) gerçekleşmiştir ($P<0.05$). Karaciğer dokusunda çinko birikimi Zn+Ni ve Zn+Se+Ni karışımlarında 14. günde 7. güne oranla %10 kadar düşme göstermiştir. Karaciğer dokusu Zn birikimi bakımından 14. günde Zn ve karışımları arasında şu ilişki vardır; Zn+Se > Zn >

Zn+Ni+Se > Zn+Ni (Şekil 4.9 - 4.10). Depurasyon süreci sonunda Zn ve tüm kombinasyonları etkisinde karaciğer çinko düzeyleri Zn+Se karışımı dışında kontrol düzeyinin altına düşmüştür ($P<0.05$). Karaciğer dokusundaki Zn düzeyinde en fazla depurasyon 14. gündeki birikime oranla Zn+Se karışımında (% 37) olurken ($P<0.05$), en az depurasyon Zn+Ni karışımında (% 9) gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un karaciğer dokusundaki çinko düzeyleri ($\mu\text{g Zn / g k.a.}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
Kontrol	144.33 $\pm$ 0.33 ax	147.16 $\pm$ 0.76 ax	145.40 $\pm$ 0.93 ax
Zn	164.33 $\pm$ 0.66 bx	207.32 $\pm$ 0.66 by	138.91 $\pm$ 0.74 bz
Zn+Se	183.27 $\pm$ 1.49 cx	245.67 $\pm$ 1.20 cy	155.43 $\pm$ 1.35 cz
Zn+Ni	167.87 $\pm$ 0.43 dx	148.02 $\pm$ 0.02 ay	134.50 $\pm$ 0.06 dz
Zn+Ni+Se	213.67 $\pm$ 1.45 ex	193.16 $\pm$ 1.08 dy	133.22 $\pm$ 2.32 dz

$\bar{X} \pm S\bar{X}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Böbrek dokusu çinko birikimi 7. ve 14. günlerde kontrole oranla tüm çinko ve karışımlarında önemli bir artış göstermiştir ($P<0.05$). Yedinci ve 14. günlerde en fazla çinko birikimi sırasıyla Zn+Ni ve Zn+Ni+Se karışımı etkilerinde olmuştur ($P<0.05$). Böbrek dokusu metal birikimi 14. günde Zn ve karışımları arasında şu ilişki vardır; Zn+Ni+Se > Zn+Se > Zn+Ni > Zn (Şekil 4.9 - 4.10). Yedinci güne oranla 14. günde en fazla artma Zn+Ni+Se karışımı etkisinde (% 36), en az artma ise Zn etkisinde (% 19) gerçekleşmiştir ($P<0.05$). Böbrek dokusunda Zn birikimi Zn+Ni karışımında 14. günde 7. güne oranla % 7 kadar düşme göstermiştir.

Depurasyon süreci sonunda böbrek dokusu çinko düzeyleri Zn+Ni+Se karışımı dışındaki tüm Zn ve karışımlarında kontrol düzeyinin üzerinde kalmıştır ($P<0.05$). Böbrek dokusundaki Zn düzeyinde en fazla depurasyon 14. gündeki birikime oranla yine bu üç metalin karışımında (% 59) olurken ($P<0.05$), en az depurasyon salt çinkoda (% 17) gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un böbrek dokusundaki çinko düzeyleri ($\mu\text{g Zn / g k.a.}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	111.60 $\pm$ 0.45 ax	111.13 $\pm$ 0.47 ax	111.87 $\pm$ 0.38 ax
Zn	135.67 $\pm$ 0.88 bx	161.43 $\pm$ 0.82 by	134.41 $\pm$ 1.00 bx
Zn+Se	171.97 $\pm$ 0.59 cx	219.77 $\pm$ 0.91 cy	116.54 $\pm$ 1.16 cz
Zn+Ni	187.63 $\pm$ 0.15 dx	174.85 $\pm$ 0.43 dy	125.80 $\pm$ 0.08 dz
Zn+Ni+Se	183.43 $\pm$ 0.48 ex	248.87 $\pm$ 0.95 ey	101.48 $\pm$ 0.82 ez

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Solungaç dokusu nikel düzeyi tüm Ni ve tüm kombinasyonlarının etkisinde kontrole oranla ve 14. günde de 7. güne oranla önemli bir artış göstermiştir ($P<0.05$). Solungaç dokusundaki nikel birikimi en fazla 7. ve 14. günde salt Ni etkisinde, en az Ni+Zn karışımı etkisinde belirlenmiştir ($P<0.05$). Solungaç nikel birikimi 14. günde Ni ve karışımları arasında şu ilişki vardır; $\text{Ni} > \text{Ni+Se+Zn} > \text{Ni+Se} > \text{Ni+Zn}$ (Şekil 4.11 - 4.12). Solungaç dokusu nikel düzeyinde 7. güne oranla 14. günde en fazla artma salt Ni etkisinde (% 72), en az artma ise Ni+Zn etkisinde (% 32) gerçekleşmiştir ($P<0.05$). Depurasyon süreci sonunda Ni ve tüm kombinasyonları etkisinde solungaç nikel düzeyleri kontrol düzeyinin üzerindedir

($P<0.05$). Solungaç dokusundaki nikel düzeyinde en fazla depurasyon 14. gündeki birikime oranla üç metalin karışımında (% 74) olurken ($P<0.05$), en az depurasyon Ni+Zn karışımında (% 39) gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un solungaç dokusundaki nikel düzeyleri ($\mu\text{g Ni/g k.a.}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	8.06 $\pm$ 0.40 ax	8.12 $\pm$ 0.16 ax	8.06 $\pm$ 0.60 ax
Ni	42.84 $\pm$ 0.52 bx	73.56 $\pm$ 0.19 by	33.05 $\pm$ 0.17 bz
Ni+Se	22.64 $\pm$ 0.11 cx	32.78 $\pm$ 0.27 cy	10.89 $\pm$ 0.54 cz
Ni+Zn	19.17 $\pm$ 0.53 dx	25.26 $\pm$ 0.14 dy	15.36 $\pm$ 0.31 dz
Ni+Se+Zn	33.84 $\pm$ 0.37 ex	50.94 $\pm$ 0.38 ey	13.48 $\pm$ 0.28 ez

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Karaciğer dokusu nikel birikimi tüm Ni ve karışımlarının etkisinde kontrole oranla ve 14. günde de 7. güne oranla önemli bir artış göstermiştir ($P<0.05$). Yedinci ve 14. günlerde en fazla nikel birikimi Ni etkisinde, en az ise Ni+Zn etkisinde belirlenmiştir. Karaciğer dokusu nikel birikimi bakımından 14. günde Ni ve karışımları arasında şu ilişki vardır; $\text{Ni} > \text{Ni+Se+Zn} > \text{Ni+Se} > \text{Ni+Zn}$ (Şekil 4.11 - 4.12). Yedinci güne oranla 14. günde en fazla artma Ni+Zn karışımı etkisinde (% 100), en az artma ise Ni+Se karışımı etkisinde (% 23) gerçekleşmiştir ($P<0.05$). Depurasyon süreci sonunda Ni ve tüm kombinasyonları etkisinde karaciğer nikel düzeyleri kontrol düzeyinin üzerinde kalmıştır ($P<0.05$). Bu süre sonunda karaciğer dokusunda en fazla Ni depurasyonu 14. gün düzeyine

oranla Ni+Se+Zn karışımında (% 66) gözlenirken ($P<0.05$), en az depurasyon salt Ni'de (% 28) belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un karaciğer dokusundaki nikel düzeyleri ($\mu\text{g Ni/g k.a.}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	8.78 $\pm$ 0.49 ax	8.79 $\pm$ 0.30 ax	7.90 $\pm$ 0.40 ax
Ni	71.49 $\pm$ 0.19 bx	91.64 $\pm$ 0.53 by	65.96 $\pm$ 0.40 bz
Ni+Se	41.23 $\pm$ 0.42 cx	50.55 $\pm$ 0.44 cy	22.13 $\pm$ 1.69 cz
Ni+Zn	20.77 $\pm$ 0.22 dx	41.59 $\pm$ 0.69 dy	18.69 $\pm$ 0.17 dz
Ni+Se+Zn	32.96 $\pm$ 0.48 ex	60.46 $\pm$ 0.04 ey	20.49 $\pm$ 0.33 cdz

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Böbrek dokusu nikel düzeyi tüm Ni ve karışımlarının etkisinde kontrole oranla ve 14. günde de 7. güne oranla önemli bir artış göstermiştir ($P<0.05$). Böbrek dokusunda en fazla nikel birikimi 7. ve 14. günlerde doğrudan Ni etkisinde olurken, bu dokuda nikel birikimi bakımından 14. günde Ni ve karışımları arasında şu ilişki vardır; Ni > Ni+Se+Zn > Ni+Zn > Ni+Se (Şekil 4.11 - 4.12). Böbrek dokusunda 7. güne oranla 14. günde en fazla artma Ni+Zn karışımı etkisinde (% 113), en az artma ise salt Ni etkisinde (% 20) gerçekleşmiştir ($P<0.05$). Depurasyon süreci sonunda Ni ve tüm kombinasyonları etkisinde böbrek Ni düzeyleri Ni+Se karışımı dışında kontrol düzeyinin üzerinde kalmıştır ($P<0.05$). Böbrek dokusundaki Ni düzeyinde en fazla depurasyon 14. gündeki birikime oranla salt Ni etkisinde (% 79) olurken ($P<0.05$), en az depurasyon Ni+Se+Zn karışımı etkisinde (% 71) gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un böbrek dokusundaki nikel düzeyleri ($\mu\text{g Ni/g k.a.}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
Kontrol	13.49 $\pm$ 0.16 ax	13.43 $\pm$ 0.11 ax	13.21 $\pm$ 0.19 ax
Ni	84.29 $\pm$ 0.95 bx	101.43 $\pm$ 0.76 by	21.66 $\pm$ 0.17 bz
Ni+Se	32.51 $\pm$ 0.18 cx	54.15 $\pm$ 0.15 cy	13.95 $\pm$ 0.48 az
Ni+Zn	31.20 $\pm$ 0.58 cx	66.65 $\pm$ 0.48 dy	15.53 $\pm$ 0.25 cz
Ni+Se+Zn	52.81 $\pm$ 0.54 dx	72.00 $\pm$ 0.94 ey	20.65 $\pm$ 0.53 bz

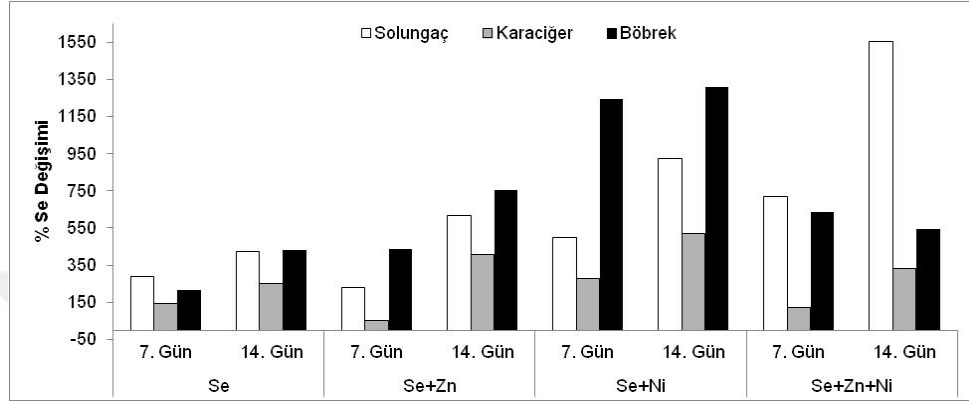
$\bar{X} \pm S\bar{X}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Birikim deneylerinin sürdürüldüğü 7. günde denenen tüm metal ve metal karışımı kombinasyonlarında her üç dokudaki metal birikimleri kontrole göre önemli derecede artmıştır ($P < 0.05$). Metallerin 14. gündeki doku birikimleri de, Se+Ni+Zn karışımı etkisinde böbrek dokusundaki selenyum birikimi ve Zn+Ni karışımı etkisinde karaciğer ve böbrekteki çinko birikimi ile Zn+Ni+Se karışımında karaciğer dokusundaki çinko birikimi dışında, 7. gün birikimlerine göre önemli düzeylerde artış göstermiştir ($P < 0.05$). Benzer şekilde Zn+Ni karışımı etkisinde 14. gündeki karaciğer dokusunda çinko birikimi dışında kontrole göre önemli düzeylerde artış gözlenmiştir ($P < 0.05$) (Şekil 4.7 - 4.12).

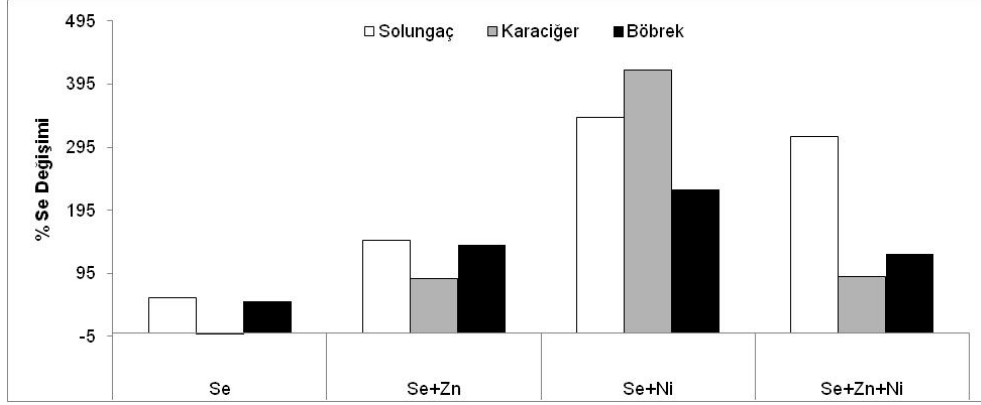
Selenyumun 14 günlük birikim sürecinde en fazla birikim kontrole göre solungaçta Se+Ni+Zn ve Se+Ni karışımında, karaciğer ve böbrekte ise Se+Ni karışımında olurken, en düşük selenyum birikimi her üç dokuda da 14. günde selenyumun etkisinde olmuş, metal karışımları birikimi artırmıştır (Şekil 4.7). Metal birikiminin arttığı 14. günde selenyum birikimi Se+Ni+Zn etkisinde

solungaç > böbrek > karaciğer sıralaması gözlenirken, diğer metaller etkisinde böbrek > solungaç > karaciğer sıralaması gözlenmiştir (Çizelge 4.2-4.4).



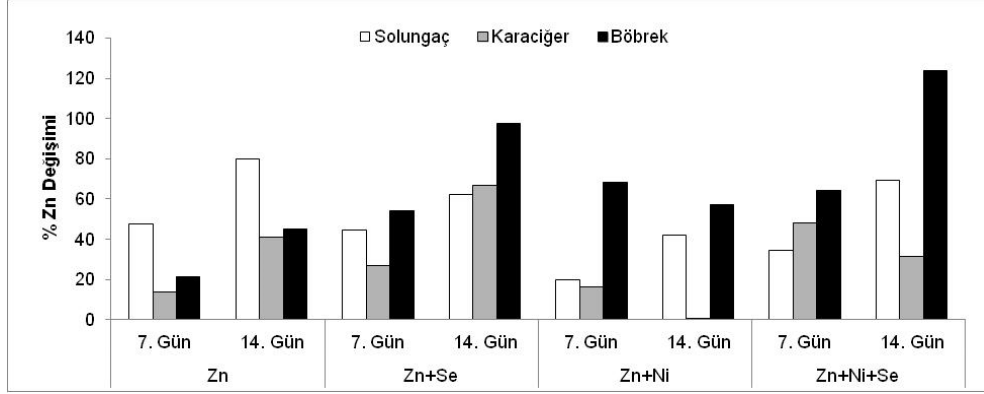
Şekil 4.7. Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde *C.gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki selenyum düzeyleri ($\mu\text{g Se/g k.a.}$).

Metal atılım süreci olan 7 günlük depurasyon süresinde selenyum kontrole göre karaciğerde Se+Ni karışımında (% 355) artma, salt Se etkisinde azalma (% 12) göstermiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.8). Selenyumun 14. güne göre eliminasyonunun en yüksek düzeyi % 71 oran ile solungaçta, en düşük düzeyi ise % 16 oran ile karaciğerde gerçekleşmiştir. Metal eliminasyonun gerçekleştiği 21. günde salt Se etkisindeki eliminasyonun dokulardaki gerçekleşme sıralaması karaciğer > solungaç > böbrek olarak belirlenirken, diğer metaller etkisinde eliminasyonun dokularda gerçekleşme sıralaması karaciğer > böbrek > solungaç olarak belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.2-4.4).



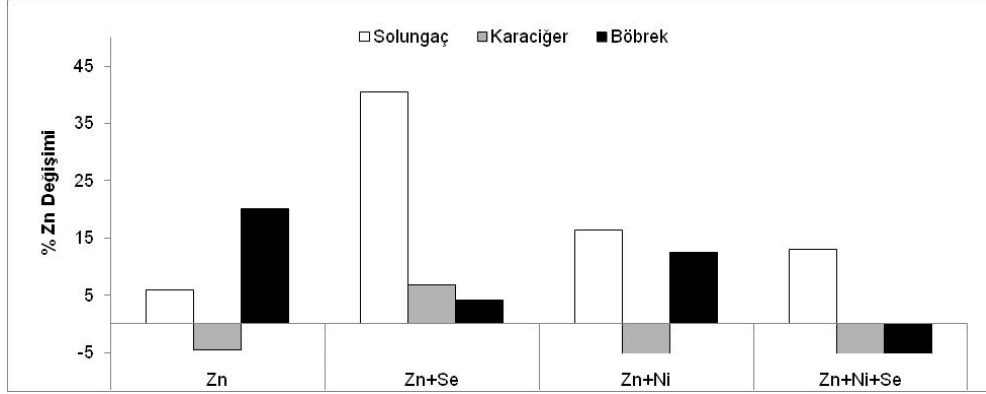
Şekil 4.8. Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde *C.gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki selenyum düzeyleri ($\mu\text{g Se/g k.a.}$).

Çinkonun 14 günde solungaçtaki en fazla birikimi salt Zn etkisinde, karaciğerde Zn+Se karışımı etkisinde, böbrekte ise Zn+Ni+Se karışımı etkisinde olurken ($P<0.05$), en düşük çinko birikimi solungaç ve karaciğer dokusunda Zn+Ni karışımı etkisinde, böbrek dokusunda salt Zn etkisinde gözlenmiştir. Çinko birikimi 14. günde Zn etkisinde dokularda karaciğer > solungaç > böbrek, Zn+Se karışımında karaciğer > böbrek > solungaç sıralaması gösterirken, Zn+Ni, Zn+Ni+Se karışımları etkisinde çinko birikiminde böbrek > karaciğer > solungaç sıralaması gözlenmiştir (Çizelge 4.5-4.7) (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde *C.gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki çinko düzeyleri ($\mu\text{g Zn/ g k.a.}$).

Metal atılım süreci olan 7 günlük depurasyon süresinde çinko eliminasyonunun 14. güne oranla en yüksek düzeyi % 59 ile böbrekte, en düşük düzeyi ise % 9 ile karaciğerde gerçekleşmiştir ($P<0.05$). Çinko eliminasyonunun 14. güne oranla salt Zn etkisindeki eliminasyonun organlar arasındaki ilişkisi solungaç > karaciğer > böbrek, Zn+Se karışımı etkisinde böbrek > karaciğer > solungaç, Zn+Ni, Zn+Ni+Se karışımları etkisinde ise böbrek > solungaç > karaciğer olarak gözlenmiştir ($P<0.05$). Yedi günlük çinko eliminasyonunda kontrole oranla en fazla çinko düzeyi solungaç dokusu Zn+Se karışımında (% 40), en az çinko düzeyi ise böbrek dokusu Zn+Ni+Se karışımında (% 9) belirlenmiştir (Çizelge 4.5-4.7) (Şekil 4.10).

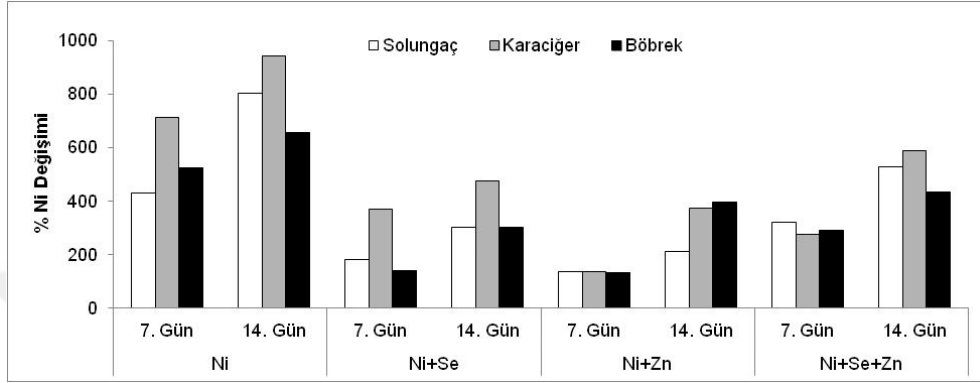


Şekil 4.10. Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde *C.gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki çinko düzeyleri ($\mu\text{g Zn/ g k.a.}$).

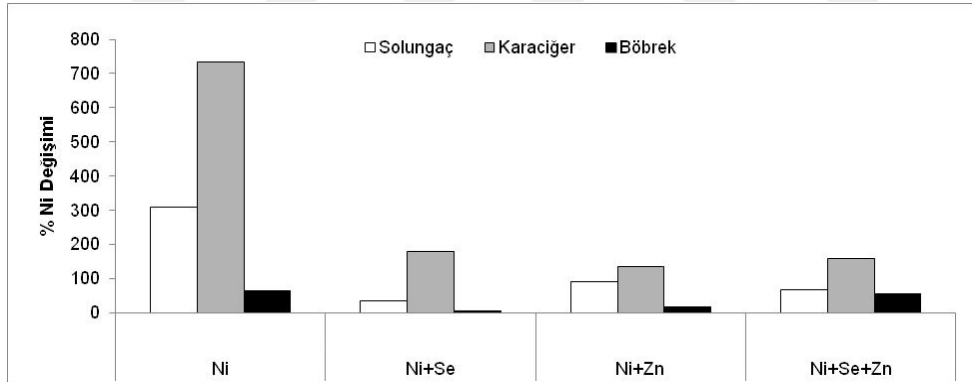
Nikelin 14. gündeki tüm dokulardaki birikimi en fazla salt Ni etkisinde gözlenirken ($P<0.05$), en az nikel birikimi solungaç ve karaciğerde Ni+Zn karışımı etkisinde, böbrek dokusunda ise Ni+Se etkisinde belirlenmiştir ($P<0.05$). Nikel birikiminin 14. günde tüm metal ve karışımları etkisinde nikel birikiminde böbrek > karaciğer > solungaç sıralaması gözlenmiştir. Kontrole göre en fazla artma karaciğer dokusunda salt Ni etkisinde (% 942), en az nikel birikimi solungaç dokusunda Ni+Zn etkisinde (% 211) belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.8-4.10) (Şekil 4.11).

Nikelin 14. güne oranla eliminasyonunun en yüksek düzeyi salt Ni'de % 78 ile böbrekte, en düşük düzeyi ise % 28 ile karaciğerde gerçekleşmiştir ($P<0.05$). Bir haftalık metal eliminasyonunda 14. güne oranla salt Ni ve Ni+Se karışımı etkisindeki nikel eliminasyonu doku sıralaması böbrek > solungaç > karaciğer olurken, Ni+Zn karışımı etkisinde nikelin eliminasyon sıralaması böbrek > karaciğer > solungaç, Ni+Se+Zn karışımı etkisinde nikel eliminasyon sıralaması ise solungaç > böbrek > karaciğer olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Nikel eliminasyonunda kontrole oranla en fazla nikel düzeyi karaciğer dokusunda salt Ni

etkisinde (% 734), en az nikel düzeyi ise böbrek dokusunda Ni+Se karışımında (% 6) belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.8-4.10) (Şekil 4.12).



Şekil 4.11. Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde *C.gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki nikel düzeyleri ($\mu\text{g Ni/ g k.a.}$).



Şekil 4.12. Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde *C.gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki nikel düzeyleri ($\mu\text{g Ni/ g k.a.}$).

4.1.4. Ağır Metal Birikiminin *C. gariepinus* Doku Protein Düzeyine Etkisi

Yedi ve 14 gün sürede metal birikimi etkisindeki *C. gariepinus* solungaç, karaciğer ve böbrek dokusunun toplam protein düzeyleri ile metal atılım süresi olan 7 gün sürede belirtilen dokuların toplam protein düzeyleri Çizelge 4.11-4.19'de verilmiştir.

Selenyum ve karışımlarının etkisinde 7. günde solungaç dokusundaki protein düzeyinde kontrole göre azalma gözlenmiştir ($P<0.05$). Metal akümülyasyonun 14. gününde Se+Ni ve Se+Ni+Zn karışımları etkisindeki protein düzeyinde kontrole göre azalma, diğer metal etkilerinde ise kontrole göre protein düzeyinde önemli düzeyde artış gözlenmiştir ($P<0.05$). Birikimin 14. gününde solungaç dokusu protein düzeyleri selenyum ve tüm kombinasyonlarının etkisinde 7. güne göre önemli düzeyde artarken, 7. ve 14. günde Se+Zn+Ni karışımı etkisinde kontrole göre % 77 ve % 26 ile en fazla azalmayı göstermiştir ($P<0.05$). Metal birikiminin 14. gününde Se+Zn karışımı etkisinde solungaç dokusu protein düzeyi kontrole göre % 68 oranında artma göstermiştir ($P<0.05$). Metal depurasyonu sürecinde solungaç dokusu protein düzeyi Se+Ni etkisinde kontrole göre azalma, diğer metal karışımları etkisinde artma göstermiştir. Metal atılım süreci olan 7 günlük sürede protein düzeyinde 14. güne göre artma belirlenmiştir, en fazla artma salt Se'da % 69 oranında, en az artma ise Se+Zn karışımı etkisinde % 7 olarak belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.11) (Şekil 4.13 - 4.14).

Selenyum ve metal kombinasyonlarının 7. ve 14. gündeki etkisinde karaciğer dokusundaki protein düzeyleri, 14. günde Se+Zn dışındaki, tüm gruplarda kontrole göre artmıştır ($P<0.05$). Karaciğer dokusu protein düzeyi 7. günde Se+Ni karışımında kontrole göre % 153 ve 14. günde Se etkisinde % 51 oranında artma saptanmıştır ($P<0.05$). Protein düzeyleri selenyum ve tüm metal karışımları etkisinde 14. günde 7. güne göre önemli düzeyde azalırken, protein düzeyindeki en fazla azalma Se+Ni karışımı etkisinde % 48 oranda belirlenmiştir ($P<0.05$). Metal depurasyon sürecinde protein düzeyinde 14. güne göre önemli

düzeyde artma gözlenirken, en fazla artış Se+Zn karışımı etkisinde % 57 olarak belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.12) (Şekil 4.13 - 4.14).

Çizelge 4.11. Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un solungaç dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
Kontrol	23.43±0.18 ax	22.50±0.32 ax	22.70±0.40 ax
Se	15.53±0.60 bx	30.90±0.49 by	52.23±0.35 bz
Se+Zn	7.00±0.55 cx	37.90±0.25 cy	40.66±0.38 cz
Se+Ni	10.23±0.44 dx	17.10±0.06 dy	21.23±0.17 dz
Se+Ni+Zn	5.33±0.47 ex	16.73±0.50 dy	27.20±0.46 ez

$\bar{X} \pm S\bar{X}$ = Aritmetik ortalama ± Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

C. gariepinus'un böbrek dokusundaki protein düzeyi 7. ve 14. günlerde Se ve tüm kombinasyonlarında kontrole göre önemli düzeylerde artmıştır ($P<0.05$). Protein düzeyi 7. günde salt Se etkisinde kontrole göre % 348, 14. günde Se+Ni karışımları etkisinde % 152 oranında artış göstermiştir ($P<0.05$). Yedinci ve 14. gündeki en az artış ise üç metalin karışım etkisinde, sırasıyla % 45 ve % 102 olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Böbrek dokusu protein düzeyleri denenen salt Se ve Se+Zn kombinasyonları etkisinde 14. günde 7. güne göre, depurasyon sürecinde ise 14. güne göre önemli düzeyde azalma göstermiştir ($P>0.05$). Böbrek dokusu protein düzeyinde metal depurasyon sürecinde kontrole göre Se etkisinde değişim gözlenmezken ($P>0.05$), en fazla artma Se+Zn etkisinde (% 74) saptanmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4.13) (Şekil 4.13 - 4.14).

Çizelge 4.12. Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un karaciğer dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	13.40±0.20 ax	13.27±0.27 ax	13.07±0.43 ax
Se	22.13±0.38 bx	20.00±0.26 by	28.67±0.63 bz
Se+Zn	20.66±0.35 bx	12.50±0.52 ay	19.60±0.31 cx
Se+Ni	34.03±0.52 cx	17.70±0.40 cy	21.20±0.38 dz
Se+Ni+Zn	22.16±0.53 bx	18.00±0.25 cy	21.30±0.20 dx

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama ± Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Çizelge 4.13. Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un böbrek dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	16.63±0.28 ax	16.30±0.30 ax	16.26±0.33 ax
Se	74.63±0.86 bx	36.23±0.46 by	16.33±0.47 az
Se+Zn	43.90±0.49 cx	35.80±0.35 by	28.37±0.94 bz
Se+Ni	40.56±0.47 dx	41.17±0.23 cx	26.66±0.38 cy
Se+Ni+Zn	24.17±0.58 ex	33.07±1.08 dy	24.10±0.15 dx

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama ± Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

C. gariepinus'un solungaç dokusundaki protein düzeyinde en fazla azalma 7. ve 14. günde Zn+Ni+Se karışımları etkisinde (% 77 ve % 26) olurken, çinko ve

karışımlarında 14. günde kontrole göre artma gözlenmiştir ($P<0.05$). Protein düzeyi 14. günde Zn+Ni karışımı etkisinde % 117 ile en fazla artışı göstermiştir ($P<0.05$). Solungaç dokusunda metal depurasyon sürecinde 14. güne göre Zn ve Zn+Ni etkisinde doku protein düzeyinde azalma (% 29 ve % 4), Zn+Se ve Zn+Ni+Se (% 7 ve % 63) etkisinde artma saptanmıştır ($P<0.05$). Solungaç dokusu protein düzeyi metal depurasyon sürecinde kontrole düzeyinin üzerinde kalmış, en fazla artış Zn+Ni karışımında (% 106) gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.14) (Şekil 4.15 - 4.16).

Karaciğer dokusundaki protein düzeyi 7. günde tüm metal gruplarında ve 14. günde Zn+Se ve Zn+Ni karışımları etkisi dışındaki tüm gruplarda protein düzeyinde kontrole göre artma gözlenmiştir ($P<0.05$). Protein düzeyindeki en fazla artma 7. günde Zn+Ni karışımı etkisinde (% 115) ve 14. günde salt Zn etkisinde (% 142) belirlenmiştir ($P<0.05$). Karaciğer dokusunda 14 gündeki protein düzeyi 7 güne göre Zn+Ni karışımı etkisinde % 58 ile en fazla azalma, salt Zn etkisinde % 30 oranında artma belirlenmiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon süresindeki protein düzeyi 14. güne göre salt Zn'da azalma (% 44), diğer metal kombinasyonlarında ise artma göstermiştir. Metal eliminasyon süresi olan son yedi günlük sürede protein düzeyinde kontrole oranla artma gözlenirken, en fazla artma Zn+Ni karışımında (% 99) gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.15) (Şekil 4.15 - 4.16).

Böbrek dokusu 7. ve 14. günde tüm metal ve karışımları etkisinde protein düzeyinde kontrole oranla artma gözlenmiştir ($P<0.05$). Kontrole göre salt Zn etkisinde 7. günde % 249 oranda ve Zn+Ni karışımı etkisinde 14. günde % 163 oranda en fazla artma belirlenmiştir ($P<0.05$). Böbrek dokusu protein düzeyinde 7. güne oranla 14. günde en fazla azalma salt Zn etkisinde (% 28), en fazla artma Zn+Ni karışımları (% 38) etkisinde gözlenmiştir ($P<0.05$). Son bir haftalık metal atılım sürecinde protein düzeyinde 14. güne oranla tüm çinko ve karışımlarında azalma gözlenirken, en fazla azalma Zn+Ni karışımında % 58 olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon süresinde kontrole oranla protein düzeyindeki en fazla

artma Zn+Se karışımında (% 74) gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.16) (Şekil 4.15 - 4.16).

Çizelge 4.14. Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un solungaç dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	23.43±0.18 ax	22.50±0.32 ax	22.70±0.40 ax
Zn	18.90±0.25 bx	42.50±0.26 by	30.00±0.28 bz
Zn+Se	7.00±0.55 cx	37.90±0.25 cy	40.66±0.38 cz
Zn+Ni	12.73±0.43 dx	48.97±0.38 dy	46.96±0.29 dz
Zn+Ni+Se	5.33±0.47 ex	16.73±0.50 ey	27.20±0.46 ez

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama ± Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Çizelge 4.15. Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un karaciğer dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	13.40±0.20 ax	13.27±0.27 ax	13.07±0.43 ax
Zn	24.80±0.51 bx	32.13±0.30 by	17.87±0.54 bz
Zn+Se	20.66±0.35 cx	12.50±0.52 ay	19.60±0.31 cx
Zn+Ni	28.83±0.41 dx	12.03±0.35 ay	26.03±0.33 dz
Zn+Ni+Se	22.17±0.53 ex	18.00±0.25 cy	21.30±0.20 ex

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama ± Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Çizelge 4.16. Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un böbrek dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	16.63±0.28 ax	16.30±0.30 ax	16.26±0.33 ax
Zn	58.13±0.53 bx	41.76±0.23 by	23.63±0.32 bz
Zn+Se	43.90±0.49 cx	35.80±0.35 cy	28.37±0.94 cz
Zn+Ni	31.10±0.49 dx	43.03±0.33 by	18.00±0.45 dz
Zn+Ni+Se	24.16±0.33 ex	33.06±1.08 dy	24.10±0.15 bx

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama ± Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

C. gariepinus'un solungaç dokusu protein düzeyinde 7. günde tüm nikel ve karışımları etkisinde ve 14. gün Ni+Zn dışındaki tüm nikel ve karışımları etkisinde kontrole göre azalma göstermiştir ($P<0.05$). Nikelin selenyum ve çinko ile olan üçlü karışımı etkisinde kontrole oranla 7. gündeki protein düzeyi (% 77) ve 14. günde salt Ni etkisindeki protein düzeyi (% 48) en fazla azalmayı göstermiştir ($P<0.05$). Solungaç dokusu protein düzeyi 14. günde Ni+Zn etkisindeki protein düzeyi 7. güne göre % 284 oranında artmıştır ($P<0.05$). Metal eliminasyonda protein düzeyinde kontrole göre Ni+Zn karışımında en fazla artma (% 106), Ni+Se karışımında azalma (% 6) belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.17) (Şekil 4.17 - 4.18).

Karaciğer dokusunda 7. günde tüm metal derişimlerinde ve 14. günde Ni+Se, Ni+Se+Zn karışımları etkisinde protein düzeyinde kontrole göre artma gözlenmiştir ($P<0.05$). Yedinci günde kontrole göre en fazla artma Ni+Se karışımı etkisindeki protein düzeyinde (% 153) ve 14. günde Ni+Se+Zn karışımları etkisinde (% 36) gözlenmiştir. Nikelin selenyum ve çinko ile olan ikili ve üçlü karışımları etkisinde 14. gün protein düzeyi 7. günde kine oranla azalma

gösterirken, metal eliminasyon etkisindeki protein düzeyi de 14. gün protein düzeyine oranla artma göstermiştir ($P<0.05$). Metal birikiminin 7. güne oranla 14. gündeki protein düzeyi en fazla azalmayı Ni+Zn karışımı etkisinde (% 58), metal eliminasyonunda 14. güne oranla protein düzeyindeki en fazla artma da Ni+Zn karışımı etkisinde (% 116) belirlenmiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyonunda nikel ve karışımları etkisinde karaciğer protein düzeyindeki en fazla artma kontrole oranla Ni+Zn karışımı etkisinde (% 99) saptanmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4.18) (Şekil 4.17 - 4.18).

Çizelge 4.17. Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un solungaç dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	23.43±0.17 ax	22.50±0.32 ax	22.70±0.40 ax
Ni	13.73±0.28 bx	11.70±0.55 by	32.86±0.60 bz
Ni+Se	10.23±0.44 cx	17.10±0.06 cy	21.23±0.17 cz
Ni+Zn	12.73±0.43 bx	48.96±0.38 dy	46.96±0.29 dz
Ni+Se+Zn	5.33±0.47 dx	16.73±0.50 cy	27.20±0.46 ez

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Böbrek dokusu protein düzeyi 7. ve 14. günlerde kontrole göre önemli düzeyde artma göstermiştir ($P<0.05$). Yedinci günde protein düzeyinde en fazla artma kontrole göre Ni+Se karışımı etkisinde (% 143), 14. günde Ni+Zn karışımı etkisinde (% 163) belirlenmiştir. Metal eliminasyonunda protein düzeyi nikelin selenyum ve çinko ile olan karışımlarında kontrole göre artarken, 14. gün metal birikimine göre azalma göstermiştir. Metal eliminasyonu protein düzeyinde kontrole göre en fazla artma Ni+Se karışımında (% 64), 14. gün protein düzeyine

oranla en fazla azalma da Ni+Zn karışımında (% 58) belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.19) (Şekil 4.17 - 4.18).

Çizelge 4.18. Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un karaciğer dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	13.40±0.20 ax	13.27±0.27 ax	13.06±0.43 ax
Ni	27.50±0.17 bx	13.40±0.45 ay	22.13±0.89 bz
Ni+Se	34.03±0.52 cx	17.70±0.40 by	21.20±0.38 bz
Ni+Zn	28.83±0.40 dx	12.03±0.34 ay	26.03±0.32 cz
Ni+Se+Zn	22.16±0.53 ex	18.00±0.25 by	21.30±0.20 bx

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama ± Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

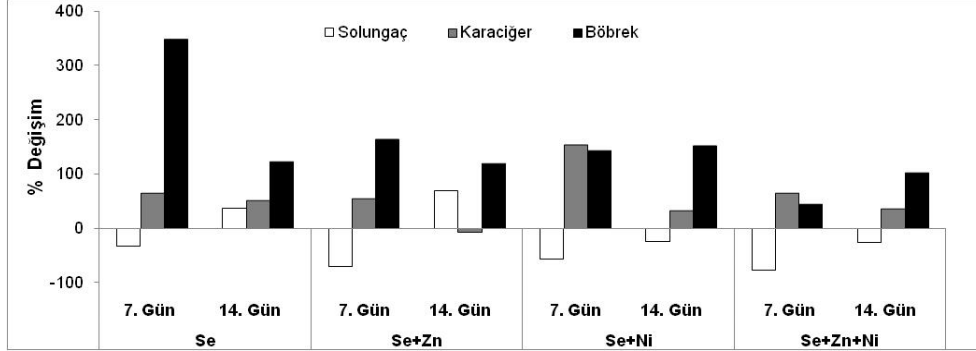
Çizelge 4.19. Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un böbrek dokusundaki protein düzeyleri (mg/g y.a.).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	16.63±0.28 ax	16.30±0.30 ax	16.26±0.33 ax
Ni	26.46±0.13 bx	36.83±0.16 by	19.46±0.33 bz
Ni+Se	40.56±0.27 cx	41.17±0.23 cx	26.66±0.38 cy
Ni+Zn	31.10±0.49 dx	43.03±0.33 dy	18.00±0.45 dz
Ni+Se+Zn	24.17±0.33 ex	33.06±1.08 ey	24.10±0.15 ex

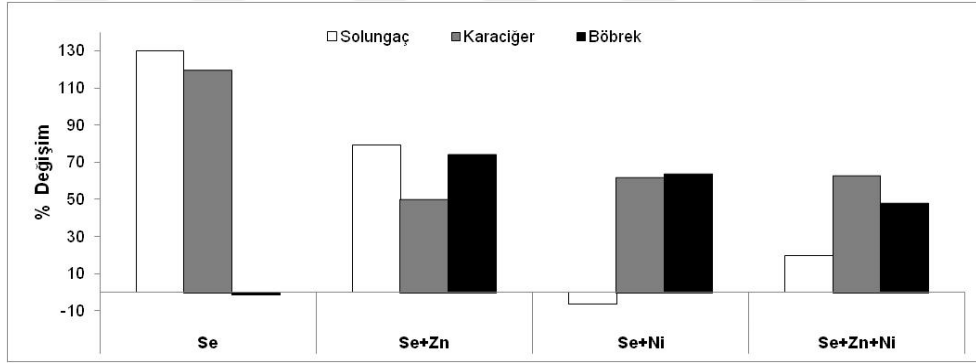
$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama ± Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Salt Se etkisinde protein düzeyi 7. günde kontrole göre en fazla artmayı böbrek dokusunda gösterirken, Se+Ni+Zn karışımı etkisindeki protein düzeyi solungaç dokusunda önemli düzeyde en fazla azalmayı göstermiştir ($P<0.05$). Böbrek dokusu 14. günde Se+Ni karışımı etkisinde protein düzeyi tüm dokular içinde en fazla artmayı göstermiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon süresindeki protein düzeyi 14. gününe oranla en fazla artışı salt Se etkisinde solungaç dokusunda (% 69) göstermiştir. Selenyumun çinko ve nikel ile olan ikili ve üçlü karışımlarının eliminasyonunda kontrole oranla protein düzeyindeki en fazla artma solungaç dokusunda salt Se'da % 130 oranında gözlenirken, Se+Ni karışımında % 6 oranında azalma belirlenmiştir ($P<0.05$). Selenyumun çinko ve nikel ile olan ikili ve üçlü karışımları ile salt etkisinde *C. gariepinus* solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki protein düzeyinin 7. gündeki dokulardaki dağılımı böbrek > karaciğer > solungaç dokusu olarak belirlenmiştir. Salt Se etkisindeki protein düzeyi 14. günde böbrek > solungaç > karaciğer, Se+Zn karışımları etkisinde solungaç > böbrek > karaciğer, Se+Ni ve Se+Ni+Zn karışımları etkisinde böbrek > karaciğer > solungaç dokusu olarak belirlenmiştir. Metal eliminasyonunun olduğu son bir haftalık süreçte protein düzeyi salt Se'de solungaç > karaciğer > böbrek, Se+Zn ve Se+Ni+Zn karışımlarında solungaç > böbrek > karaciğer, Se+Ni karışımında böbrek > karaciğer > solungaç dokusu olarak belirlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.13-4.14).



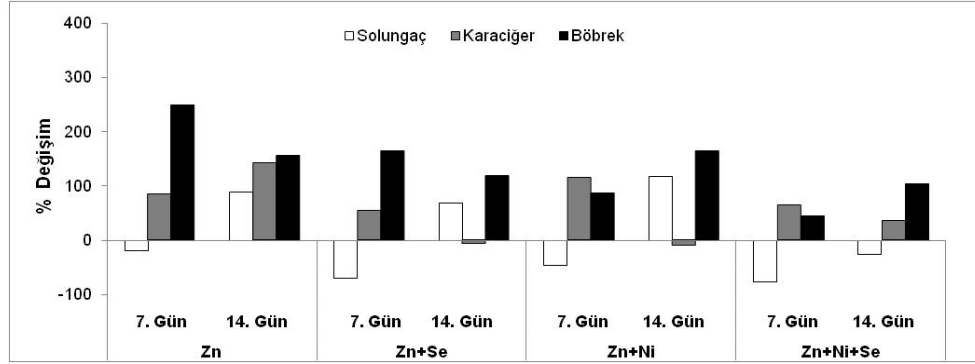
Şekil 4.13. Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde *C. gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).



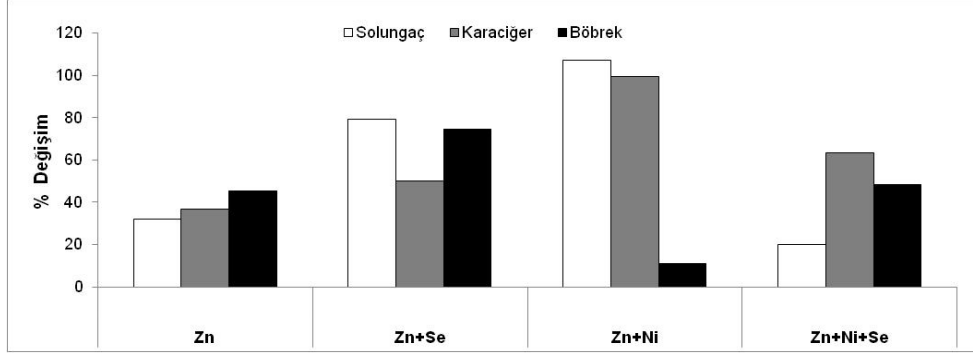
Şekil 4.14. Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde *C. gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).

Salt Zn etkisindeki protein düzeyi 7. ve 14. günde kontrole göre en fazla artış böbrek dokusunda % 249 ve % 156 oranlarında belirlenmiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon sürecinde karaciğer dokusu protein düzeyi 14. güne göre en fazla artma Zn+Ni karışımı (% 116) etkisinde belirlenmiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon sürecinde protein düzeyinde kontrole oranla en fazla artma solungaç dokusunda Zn+Ni karışımında % 106, en az artma böbrek dokusunda Zn+Ni karışımında % 11 oranında belirlenmiştir ($P<0.05$).

Çinkonun selenyum ve nikel ile olan ikili, üçlü karışımları ve salt etkisinde 7. günde protein düzeyi böbrek > karaciğer > solungaç olarak gözlenmiştir. Salt Zn, Zn+Se ve Zn +Ni karışımlarının etkisinde 14. gündeki protein düzeyi dokular arasında solungaç > böbrek > karaciğer ve Zn+Ni+Se karışımı etkisinde böbrek > karaciğer > solungaç olarak belirlenmiştir. Metal eliminasyon etkisinde Zn, Zn+Se ve Zn+Ni+Se karışımlarındaki protein düzeyi dokular arasında solungaç > böbrek > karaciğer, Zn+Ni karışımında solungaç > karaciğer > böbrek olarak belirlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.15-4.16).

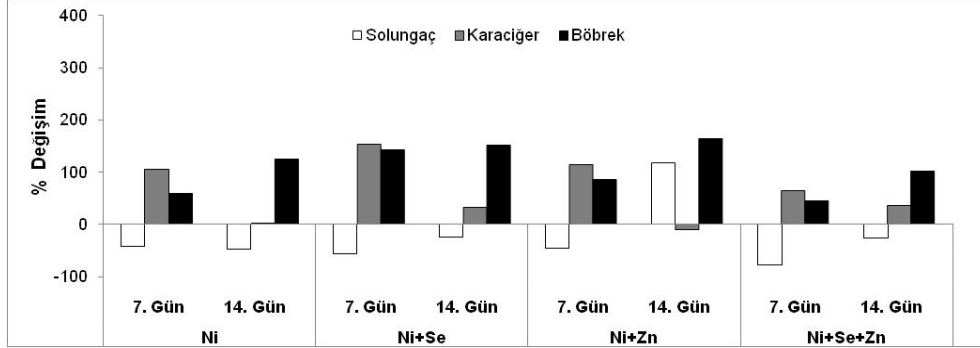


Şekil 4.15. Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde *C.gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).

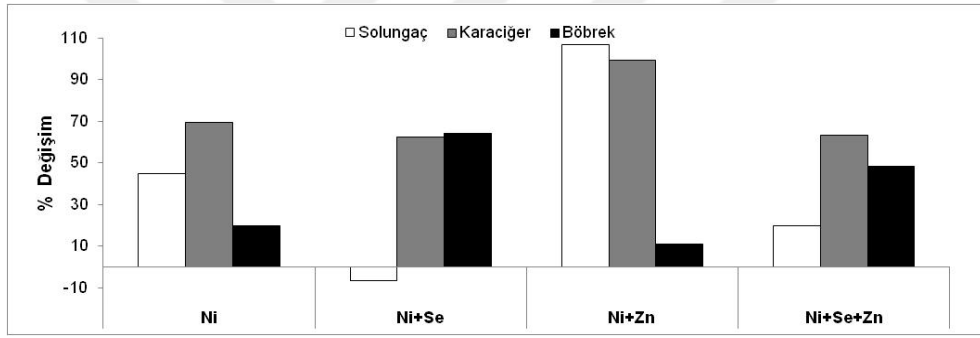


Şekil 4.16. Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde *C.gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).

Nikelin selenyumla olan ikili karışımı etkisinde 7. günde karaciğer dokusu protein düzeyi kontrole göre % 153 oranında artma gösterirken ($P<0.05$), 14. günde solungaç dokusu Ni+Zn karışımı etkisinde % 176 artma göstermiştir ($P<0.05$). Son bir haftalık metal eliminasyon süresinde protein düzeyi 14. gün metal birikim etkisindeki protein düzeyine oranla en fazla artma solungaç dokusunda salt Ni'de % 180 belirlenirken, en fazla azalma böbrek dokusunda Ni+Zn karışımında % 58 olarak gözlenmiştir ($P<0.05$). Salt Ni etkisinde 7. gündeki protein düzeyi dokular arasında karaciğer > böbrek > solungaç, nikelin karışımlarında ise böbrek > karaciğer > solungaç olarak belirlenmiştir. Salt Ni, Ni+Se, Ni+Se+Zn karışımları etkisinde 14. günde protein düzeyi dokular arasında böbrek > karaciğer > solungaç, Ni+Zn karışımı etkisinde solungaç > böbrek > karaciğer olarak belirlenmiştir. Metal eliminasyon süresinde salt Ni ve Ni+Zn karışımında protein düzeyi dokular arasında solungaç > karaciğer > böbrek, Ni+Se karışımında böbrek > solungaç > karaciğer, Ni+Se+Zn karışımında solungaç > böbrek > karaciğer olarak belirlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.17-4.18).



Şekil 4.17. Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde *C.gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).



Şekil 4.18. Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde *C.gariepinus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein düzeyleri (mg/g y.a.).

4.1.5. Ağır Metal Birikiminin *C. gariepinus* Doku Na^+/K^+ -ATPaz Aktivitesine Etkisi

Salt selenyum, çinko ve nikel ile bu metallerin ikili ve üçlü karışımlarının 7 ve 14 gün süreli etkisindeki *C. gariepinus* solungaç, karaciğer ve böbrek dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi ile metal birikim sürecini izleyen 7 günlük metal atılım periyodu Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri Çizelge 4.20-4.28'de gösterilmektedir.

Selenyumun Zn ve Ni ile bu metallerin kombinasyonlarında 7 gün süreli etkisinde solungaç dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrole oranla önemli düzeyde azalırken, 14. günde enzim aktivitesi Se+Ni+Zn karışımı etkisi dışında salt Se ve karışımlarında benzer olarak önemli düzeyde azalma göstermiştir ($P<0.05$). Enzim aktivitesindeki en fazla azalma 7 ve 14. günde % 49 ve % 69 ile salt Se etkisinde belirlenmiştir ($P<0.05$). Solungaç dokusunda 14. günde Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi 7. güne oranla salt Se etkisinde % 39 oranı ile en fazla azalmayı göstermiştir ($P<0.05$). Birikimi izleyen bir haftalık eliminasyon süreci sonunda Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri salt Se ve üç metal karışımının etkisinde kontrole göre değişim göstermezken ($P>0.05$), Se+Zn ve Se+Ni karışımlarında aktivite yaklaşık % 48 ve % 45 artarak kontrole göre önemli düzeyde değişim göstermiştir ($P<0.05$). Tüm derişimlerde metal eliminasyonu Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi 14. gündeki enzim aktivitesine oranla önemli düzeyde artış göstermiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.20) (Şekil 4.19-4.20).

Selenyum ve tüm karışımlarının 7 ve 14 günlük birikim süreçleri etkisinde karaciğer Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde kontrole oranla önemli düzeyde azalma saptanmıştır ($P<0.05$). Karaciğer enzim aktivitesi 7. ve 14. günde kontrole göre en fazla azalmayı salt Se ve Se+Ni karışımı etkisinde % 85, % 81 ve % 90, % 92 oranında göstermiştir ($P<0.05$). Genel olarak enzim aktivitesi 7. ve 14. günde azalma göstermiş, 14. günde de 7. güne oranla enzim aktivitesi azalmaya devam

etmiştir ($P<0.05$). Karaciğer dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi metal atılım sürecinde en fazla azalma kontrole göre salt Se'da % 70 oranında belirlenmiştir ($P<0.05$). Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi metal atılımın gerçekleştiği son bir haftada 7. ve 14. güne göre önemli düzeyde artma göstermiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.21) (Şekil 4.19-4.20).

Çizelge 4.20. Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un solungaç dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	4.77±0.22 ax	4.81±0.24 ax	4.99±0.43 ax
Se	2.44±0.04 bx	1.50±0.24 by	4.76±0.22 az
Se+Zn	3.17±0.10 cx	2.41±0.16 cy	7.37±0.27 bz
Se+Ni	3.44±0.27 cx	2.56±0.10 cy	7.23±0.19 bz
Se+Ni+Zn	3.39±0.09 cx	4.69±0.23 ay	5.60±0.10 az

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Böbrek dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi 7 ve 14 günlük metal birikim süreçlerinde kontrole göre önemli düzeyde azalma göstermiştir ($P<0.05$). Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi 7. ve 14. günde Se+Zn karışım etkisinde kontrole göre % 72 ve % 83 oranlarında en fazla azalmayı göstermiştir ($P<0.05$). Enzim aktivitesindeki azalma 14. günde de 7. güne göre, Se+Ni etkisi dışında, devam etmiş ($P<0.05$), maksimum azalma % 69 ile salt Se etkisinde belirlenmiştir. Böbrek dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi 7 günlük eliminasyon süreci sonunda Se+Ni karışımı etkisinde kontrole göre % 50 oranında önemli düzeyde artma göstermiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyonunda böbrek dokusu enzim aktivitesi 14 güne oranla önemli

düzeyde artma göstermiş olup, en fazla artma salt Se ve Se+Zn karışımı etkisinde belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.22) (Şekil 4.19-4.20).

Çizelge 4.21. Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un karaciğer dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	18.36 $\pm$ 0.47 ax	18.36 $\pm$ 0.47 ax	18.07 $\pm$ 0.19 ax
Se	2.75 $\pm$ 0.12 bx	1.84 $\pm$ 0.10 by	5.46 $\pm$ 0.25 bz
Se+Zn	6.87 $\pm$ 0.02 cx	4.67 $\pm$ 0.55 cy	15.67 $\pm$ 0.19 cz
Se+Ni	3.52 $\pm$ 0.17 bx	1.45 $\pm$ 0.11 by	9.73 $\pm$ 0.20 dz
Se+Ni+Zn	7.47 $\pm$ 0.25 cx	5.44 $\pm$ 0.26 cx	13.85 $\pm$ 0.98 ey

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Çizelge 4.22. Selenyumun tek başına Zn ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un böbrek dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	15.25 $\pm$ 0.53 ax	15.19 $\pm$ 0.19 ax	14.92 $\pm$ 0.53 ax
Se	8.50 $\pm$ 0.23 bx	2.66 $\pm$ 0.16 by	18.30 $\pm$ 0.13 bz
Se+Zn	4.32 $\pm$ 0.17 cx	2.64 $\pm$ 0.10 by	20.06 $\pm$ 0.42 cz
Se+Ni	8.61 $\pm$ 0.10 bx	8.33 $\pm$ 0.18 cx	22.45 $\pm$ 0.17 dy
Se+Ni+Zn	7.59 $\pm$ 0.18 bx	5.62 $\pm$ 0.20 dy	21.49 $\pm$ 0.10 dz

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Çinkonun Se ve Ni ile olan kombinasyonları etkisinde solungaç dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi kontrole göre 7. günde Zn+Ni karışımında ve 14. günde Zn+Ni+Se karışımı etkisi dışında salt Zn ve karışımları etkisinde önemli düzeyde azalma göstermiştir ($P<0.05$). Solungaç dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi 7 ve 14 gün süreli metal birikiminde kontrole göre Zn+Se karışımı etkisinde % 34 ve % 50 oranında en fazla azalma göstermiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon sürecinde enzim aktivitesi 14. güne göre Zn+Ni karışımında % 246 oranı ile en fazla artışı göstermiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon sürecinde Zn+Ni+Se karışımı solungaç dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi kontrole göre önemli bir değişim göstermezken ($P>0.05$), salt Zn'de % 39 oranında azalma, Zn+Se ve Zn+Ni karışımında % 48 ve % 75 oranında artma belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.23) (Şekil 4.21-4.22).

Çizelge 4.23. Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un solungaç dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	4.77±0.22 ax	4.81±0.24 ax	4.99±0.43 ax
Zn	3.56±0.05 bx	2.61±0.18 by	3.02±0.01 bz
Zn+Se	3.17±0.10 cx	2.41±0.16 cy	7.37±0.27 cz
Zn+Ni	4.89±0.35 ax	2.52±0.05 by	8.73±0.06 dz
Zn+Ni+Se	3.39±0.08 bx	4.69±0.23 ay	5.60±0.09 az

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama ± Standart hata.

*: SNK: a, b, c harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

C. gariepinus'un karaciğer dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi 7. ve 14. günler ile metal eliminasyon sürecinde kontrole göre önemli düzeyde azalma

göstermiştir ($P<0.05$). Yedinci günde çinkonun Ni ile karışımı ve 14. günde çinkonun Se karışımı etkisinde enzim aktivitesi kontrole göre % 76 ve % 74 oranında en fazla azalmayı göstermiştir. Karaciğer enzim aktivitesi 7. güne göre 14. günde Zn+Ni karışımları etkisinde %19 oranında artma, salt Zn ve çinkonun diğer karışımları etkisinde 14. güne oranla azalma belirlenmiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon sürecinde enzim aktivitesi kontrole göre salt Zn ve çinkonun tüm karışımlarında azalma göstermiştir. Metal eliminasyon enzim aktivitesi kontrole göre Zn+Ni karışımında % 63 oranında önemli düzeyde azalma göstermiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.24) (Şekil 4.21-4.22).

Çizelge 4.24. Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un karaciğer dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	18.36 $\pm$ 0.47 ax	18.36 $\pm$ 0.47 ax	18.07 $\pm$ 0.19 ax
Zn	14.47 $\pm$ 0.10 bx	8.60 $\pm$ 0.23 by	10.67 $\pm$ 0.13 bz
Zn+Se	6.87 $\pm$ 0.02 cx	4.67 $\pm$ 0.55 cy	15.67 $\pm$ 0.19 cz
Zn+Ni	4.37 $\pm$ 0.20 dx	5.18 $\pm$ 0.05 cy	6.65 $\pm$ 0.09 dz
Zn+Ni+Se	7.47 $\pm$ 0.25 cx	5.44 $\pm$ 0.26 cx	13.85 $\pm$ 0.98 ey

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Çinkonun Ni ve Se ile ikili ve üçlü karışımlarının 7 ve 14 gün süreli etkisinde böbrek dokusu enzim aktivitesinde kontrole göre önemli düzeyde azalma belirlenmiştir ($P<0.05$). Çinkonun selenyumla karışımı etkisinde enzim aktivitesi 7 ve 14. günlerde % 72 ve % 83 oranında kontrole göre azalma göstermiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon enzim aktivitesinde 14. güne göre en fazla artış

Zn+Se karışımında % 659 oranında belirlenmiştir. Metal eliminasyon enzim aktivitesi kontrole göre salt Zn'da azalma, çinkonun tüm karışımları etkisinde artma belirlenmiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon enzim aktivitesinde kontrole göre en fazla artma Zn+Ni karışımında % 69 oranında saptanmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4.25) (Şekil 4.21-4.22).

Çizelge 4.25. Çinkonun tek başına Se ve Ni ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un böbrek dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
Kontrol	15.25±0.53 ax	15.19±0.19 ax	14.92±0.53 ax
Zn	13.85±0.53 bx	3.93±0.44 by	12.74±0.36 bx
Zn+Se	4.32±0.17 cx	2.64±0.10 cy	20.06±0.42 cz
Zn+Ni	6.65±0.17 dx	11.28±0.10 dy	25.15±0.49 dz
Zn+Ni+Se	7.59±0.18 dx	5.62±0.17 ey	21.49±0.10 ez

$\bar{X} \pm S\bar{X}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

C. gariepinus'un solungaç dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi 7. günde Ni+Zn karışımı ve 14. günde Ni+Se+Zn karışımı etkisi dışındaki diğer salt metal ve metal kombinasyonları etkisinde kontrole göre önemli düzeyde azalma belirlenmiştir ($P<0.05$). Solungaç dokusu enzim aktivitesi 7. ve 14. günlerde kontrole göre en fazla azalmayı salt Ni etkisinde % 51 ve % 69 oranlarında göstermiştir ($P<0.05$). Enzim aktivitesinin metal eliminasyon sürecinde kontrole göre salt Ni ve Ni+Se+Zn karışımında bir değişim belirlenmezken ($P>0.05$), nikelin Se ve Zn ile oluşturduğu ikili karışımlarda % 45 ve % 75 oranında enzim aktivitesinde artma belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.26) (Şekil 4.23-4.24).

Çizelge 4.26. Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un solungaç dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	4.77±0.22 ax	4.81±0.24 ax	4.99±0.43 ax
Ni	2.32±0.23 bx	1.51±0.20 bx	4.70±0.30 ay
Ni+Se	3.44±0.27 cx	2.56±0.10 cy	7.23±0.19 bz
Ni+Zn	4.89±0.35 ax	2.52±0.05 cy	8.73±0.06 cz
Ni+Se+Zn	3.39±0.09 cx	4.69±0.23 ay	5.60±0.10 az

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Nikelin selenyum ve çinko ile olan kombinasyonlarında *C. gariepinus*'un karaciğer dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi metal akümülayon ve eliminasyon sürelerinde kontrole göre azalma göstermiştir ($P<0.05$). Yedinci gündeki enzim aktivite düzeyi kontrole göre en fazla azalma Ni+Se karışımı etkisinde % 81 oranında ve 14. gündeki salt Ni etkisinde % 93 oranında belirlenmiştir ($P<0.05$). Son bir haftalık metal eliminasyon sürecinde enzim aktivitesi 14. güne göre artarken ($P<0.05$), en fazla artma Ni+Se karışımında % 571 oranında belirlenmiştir. Metal eliminasyon sürecinde kontrole göre enzim aktivite düzeyi nikelin Se ve Zn ile olan karışımlarında azalma göstermiş, en fazla azalma salt Ni'de % 68 oranında belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.27) (Şekil 4.23-4.24).

Nikelin Se ve Zn ile olan karışımlarının 7 ve 14 gün süreli etkisinde *C. gariepinus*'un böbrek dokusu Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyinde kontrole oranla azalma gözlenmiştir ($P<0.05$). Enzim aktivitesi kontrole göre en fazla azalmayı salt Ni'in 7 ve 14 gün süreli etkisinde % 69 ve % 77 oranı ile göstermiştir. Nikelin Zn

ile karışımı etkisinde 14. günde enzim aktivitesi 7. güne göre % 70 oranında artma, salt Ni etkisinde ise % 25 oranı ile en fazla azalmayı göstermiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon etkisindeki enzim aktivitesinin metal akümülayon sürelerindeki enzim aktivitelere oranla artma göstermiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon süresi enzim altivitesinde kontrole göre salt Ni'de % 27 oranında azalma, Ni+Zn karışımında % 69 oranda en fazla artma belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.28) (Şekil 4.23-4.24).

Çizelge 4.27. Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un karaciğer dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).

METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	18.36 $\pm$ 0.46 ax	18.37 $\pm$ 0.47 ax	18.07 $\pm$ 0.19 ax
Ni	4.41 $\pm$ 0.18 bx	1.28 $\pm$ 0.08 by	5.84 $\pm$ 0.30 bz
Ni+Se	3.52 $\pm$ 0.17 bx	1.45 $\pm$ 0.11 by	9.73 $\pm$ 0.20 cz
Ni+Zn	4.37 $\pm$ 0.20 bx	5.18 $\pm$ 0.05 cy	6.65 $\pm$ 0.09 bz
Ni+Se+Zn	7.48 $\pm$ 0.25 cx	5.44 $\pm$ 0.26 cx	13.85 $\pm$ 0.98 cy

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

*: SNK: a, b, c harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Çizelge 4.28. Nikelin tek başına Se ve Zn ile çeşitli kombinasyonlardaki karışımlarının 7 ve 14 gün süreli birikim etkisi ile 14 günlük metal birikimini izleyen 7 günlük metal eliminasyon sürecinde *C.gariepinus*'un böbrek dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyleri ($\mu\text{mol Pi/mg rot./sa}$).

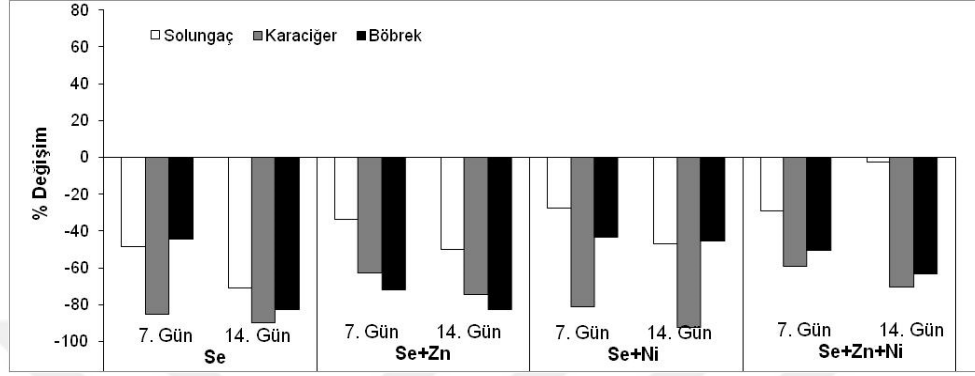
METAL	SÜRE (Gün)		
	7 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	14 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *	21 $\bar{X} \pm S\bar{x}$ *
Kontrol	15.25±0.53 ax	15.19±0.19 ax	14.92±0.53 ax
Ni	4.72±0.30 bx	3.52±0.20 by	10.91±0.01 bz
Ni+Se	8.61±0.10 cx	8.33±0.18 cx	22.45±0.17 cy
Ni+Zn	6.65±0.17 dx	11.28±0.10 dy	25.15±0.49 dz
Ni+Se+Zn	7.59±0.18 dx	5.62±0.17 ey	21.49±0.10 cz

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata.

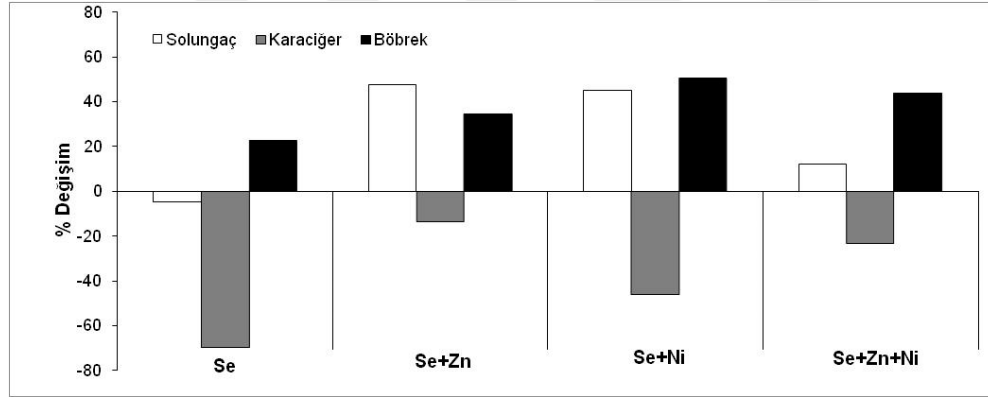
*: SNK: a, b, c, d, e harfleri metaller, x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Enzim aktivitesinde kontrole göre 7. günde en fazla azalma salt Se etkisinde karaciğer dokusunda % 85, 14. günde Se+Ni karışımında karaciğer dokusunda % 92 oranında belirlenmiştir ($P < 0.05$). Yedinci günde salt Se, Se+Ni, Se+Ni+Zn karışımları etkisinde *C. gariepinus* doku Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi böbrek > karaciğer > solungaç, Se+Zn karışımı etkisinde karaciğer > böbrek > solungaç olarak belirlenmiştir. Metal birikimin 14. gününde salt Se ve Se+Ni+Zn karışımların etkisindeki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi böbrek > karaciğer > solungaç, Se+Zn karışımı etkisindeki enzim aktivite düzeyi karaciğer > böbrek > solungaç, Se+Ni karışımı etkisindeki enzim aktivite düzeyi böbrek > solungaç > karaciğer olarak belirlenmiştir. Metal eliminasyon etkisinin incelendiği son bir haftalık dönemde böbrek dokusu enzim aktivitesi 14. gün enzim aktivitesine göre Se+Zn karışımında % 659 oranında en fazla artmayı göstermiştir. Kontrole göre metal eliminasyon süresinde en fazla artma Se+Ni karışımında % 50 oranında

böbrek dokusunda belirlenirken, en fazla azalma da salt Se'da % 70 oranında karaciğer dokusunda belirlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.19-4.20).



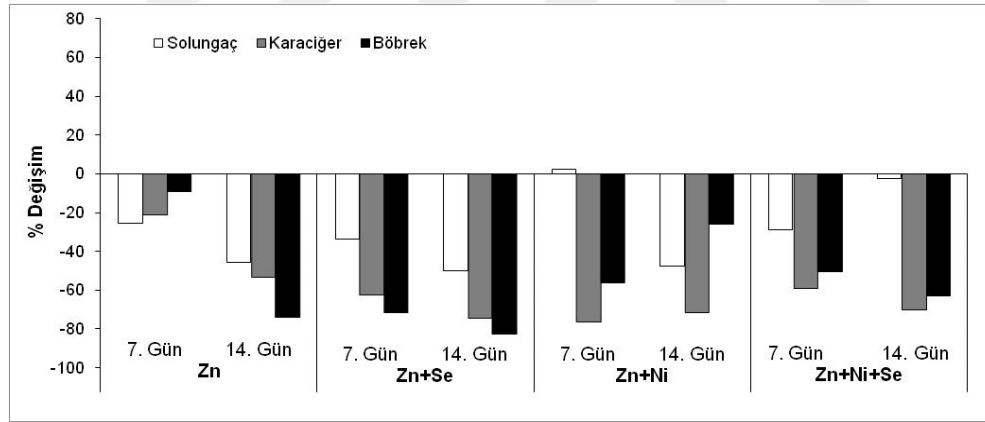
Şekil 4.19. Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde *C. gariepinus* solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi/mg prot./sa}$).



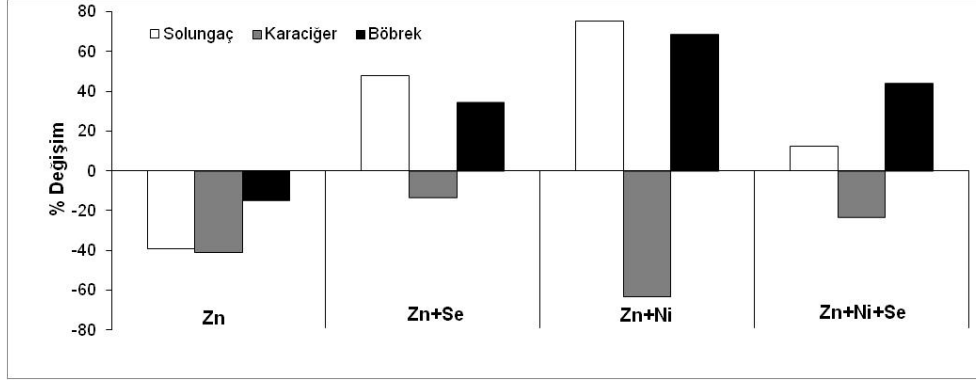
Şekil 4.20. Selenyumun tek başına Zn ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde *C. gariepinus* solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi/mg prot./sa}$).

Yedinci günde Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyindeki en fazla azalma kontrole göre Zn+Ni etkisinde % 76 oranında karaciğer dokusunda belirlenirken, 14. günde enzim aktivitesindeki en fazla azalma Zn+Se karışımı etkisinde % 83

oranında böbrek dokusunda belirlenmiştir ($P<0.05$). Yedinci gündeki enzim aktivite düzeyinin salt Zn ve Zn+Se karışımı etkisindeki dokulara göre sıralaması karaciğer > böbrek > solungaç, Zn+Ni karışımı etkisinde böbrek > solungaç > karaciğer, Zn+Ni+Se karışımı etkisinde böbrek > karaciğer > solungaç olarak belirlenmiştir. Çinkonun Se ve Ni ile olan karışımlarının 14 gün süreli etkisinde enzim aktivite düzeyinin dokulara göre sıralaması salt Zn ve Zn+Se karışımı etkisinde karaciğer > böbrek > solungaç, Zn+Ni ve Zn+Ni+Se karışımı etkisinde böbrek > karaciğer > solungaç dokusu olarak belirlenmiştir. Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi metal eliminasyonu süresinde 14. gün metal birikim etkisine göre artış göstermiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon süresinde kontrole göre en fazla artma Zn+Ni karışımında % 75 oranında solungaç dokusunda, en fazla azalma Zn+Ni karışımında % 63 oranında karaciğer dokusunda gözlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.21-4.22).



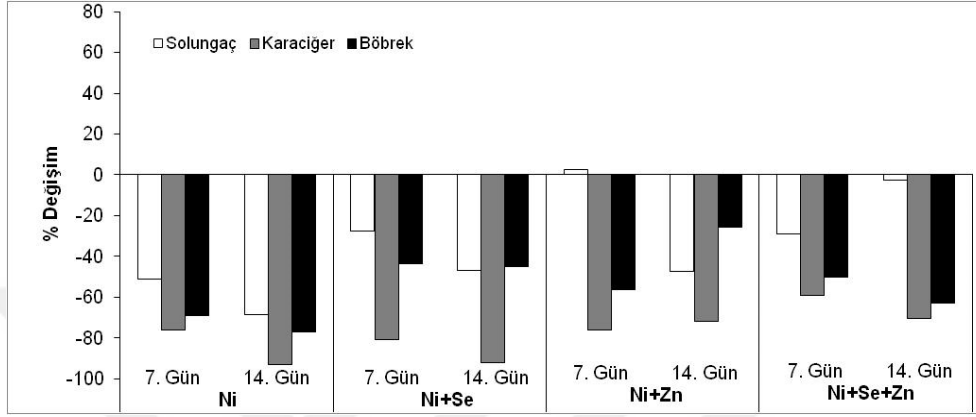
Şekil 4.21. Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde *C. gariepinus* solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi/mg prot./sa}$).



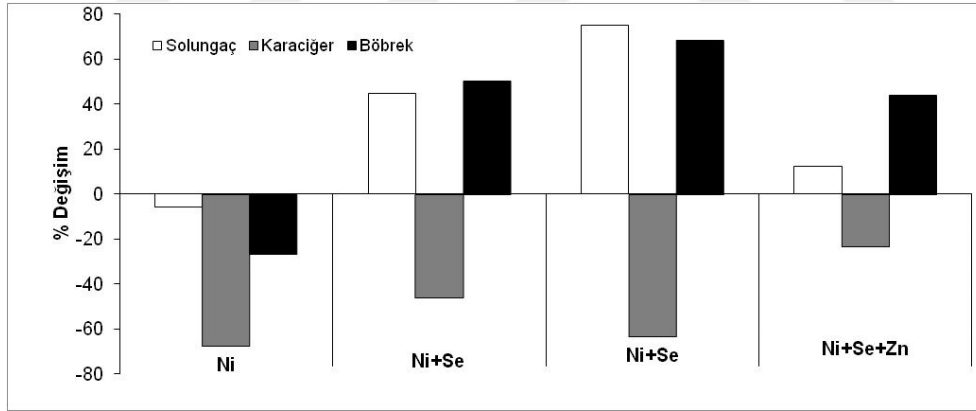
Şekil 4.22. Çinkonun tek başına Se ile Ni kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde *C. gariepinus* solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi}/\text{mg prot.}/\text{sa}$).

Yedinci gündeki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki en fazla azalma kontrole göre Ni+Se karışımı etkisinde % 81 oranında karaciğer dokusunda, 14. gündeki en fazla azalma da salt Ni etkisinde % 93 oranında karaciğer dokusunda belirlenmiştir ($P<0.05$). Yedinci gündeki enzim aktivite düzeyinin salt Ni, Ni+Se ve Ni+Se+Zn karışımı etkisindeki dokulara göre sıralaması böbrek > karaciğer > solungaç, Ni+Zn karışımı etkisinde böbrek > solungaç > karaciğer olarak belirlenmiştir. Enzim aktivite düzeyinin dokulara göre sıralaması 14. günde salt Ni ve Ni+Se karışımı etkisinde böbrek > solungaç > karaciğer, Ni+Zn ve Zn+Ni+Se karışımı etkisinde böbrek > karaciğer > solungaç dokusu olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Son bir haftalık metal eliminasyon süresindeki enzim aktivite düzeyi metal akümülyasyonun süresindeki enzim aktivite düzeyine göre genel olarak artış göstermiştir ($P<0.05$). Metal eliminasyon süresindeki Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyindeki en fazla artma kontrole göre Ni+Zn karışımında % 75 oranında solungaç dokusunda olurken, en fazla azalma da salt Ni'de % 68 oranında karaciğer dokusunda belirlenmiştir. Na^+/K^+ -ATPaz aktivite düzeyi metal

eliminasyonu süresinde 14. gün metal birikim etkisine göre artış göstermiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.23-4.24).



Şekil 4.23. Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 ve 14 günlük birikim süreci etkisinde *C. gariepinus* solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi}/\text{mg prot.}/\text{sa}$).



Şekil 4.24. Nikelin tek başına Se ile Zn kombinasyonlarının 7 günlük atılım süreci etkisinde *C. gariepinus* solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol Pi}/\text{mg prot.}/\text{sa}$).

4.2. Tartışma

4.2.1. Eser Düzeydeki Ağır Metallerin *L. stagnalis*'in Yumurta Kesesinde Çıkan Birey Sayılarına ve Toplam Protein ile Enzim Aktivitelerine Etkileri

Çeşitli ağır metallerin toksik etkilerini belirlemek için omurgasızlarla ilgili bir çok çalışma mevcuttur. Bunlardan nikel etkisinde *Biomphalaria glabrata*, *Physa acuta* ve *L. stagnalis*, kurşun etkisinde *Radix auricularia japonica* (Ravera, 1991) ile *L. stagnalis*' in biyoindikatör olarak kullanımı ile ilgili deneyler yapılmıştır (Grosell ve Brix, 2004; Grosell ve ark., 2006; Khangarot ve Das, 2010).

Kadmiyumun 1800-10.000 ppb derişimli 2 gün süreli etkisinde *Physella gyrina*'da yumurtadan çıkan birey sayısında azalma, kadmiyumun 125 ppb etkisinde *P. acuta* yumurtadan kesesinden yumurta çıkışının olmaması, 725 ppb etkisinde yumurta kesesi bırakmama gözlenmiştir (Agostini, 1983). Kadmiyumun *Lymnaea luteola* için LC₅₀ derişimi 2. günde 2100 ppb, 4. günde 1520 ppb olarak belirlenmiştir (Khangarot and Ray, 1988). Kadmiyumun 200 ppb etkisinde *L. stagnalis*'de 49. günde yumurtadan çıkan birey sayısında azalma, kadmiyumun 400 ppb etkisinde 49. günde yumurta kesesi bırakmada azalma belirlenmiştir (Gomot, 1998). Kadmiyumun *Potamopyrgus antipodarum* için LC₅₀ derişimi 2. günde 1000-4000 ppb olarak belirlenmiştir (Moller ve ark., 1994). Kadmiyumun 832.6 ppb derişiminin 4 gün süreli etkisinde tatlısu sülüğü *Nepheleopsis obscura*'nın yumurta kesesinden çıkan birey sayısında azalma belirlenmiştir (Wicklum ve ark., 1997). Kadmiyum, çinko, vanadyum ve civa etkisinde tatlısu omurgasız embriyolarında anomali yüzdesinde artışa ve yavaş gelişim performansına rastlanmıştır (Ravera, 1991). Kadmiyumun 7 haftalık kronik toksisite deneylerinde 20 °C inkübasyonda eşeyssel olgunluğa gelmiş *L. stagnalis*'de üreme, yumurta kesesi oluşumu ve yumurtaların yumurta kesesinden çıkışı ile yumurtaların gelişiminde yavaşlama belirlenmiştir. Kadmiyumun 400 ppb etkisinde yumurta

oluşumunda duraklama, 200 ppb etkisinde yumurtadan çıkışta % 0.4 azalma belirlenmiştir (Gomot, 1998). Ağır metal etkisinin salyangozlarda serebral gonglion üzerine etki ettiği ve ilk olarak kaudodorsal hücrelerin nörohormon üretmesine, sonra da ovulasyonu ve salyangozun yumurta bırakmasını engellediği belirtilmiştir (Geraerts ve Bohlken, 1976). Eser düzeyli bakır, nikel ve kurşun derişimleri etkisinde yumurtadan çıkan birey sayısında kontrole oranla azalma belirlenmiştir. Eser kadmiyum derişimi etkisinde zigotun bölünme safhasında kadmiyumun mitotik zehir etkisi eser düzeydeki bakır, nikel ve kurşun etkisinde de gözlenmiştir. Eser düzeyli artan derişimli ağır metal etkisi salyangozlarda morfogenetik bir inhibitör olarak sülfüdril gruplarını (-SH) ve homeostatik su-iyon dengesini bloke ederek metabolik büyüme ve gelişme üzerinde negatif etki göstermektedir (Kagi ve Vallee, 1961).

Kadmiyumun 50 ppb etkisinde yumurta kesesindeki bireylerin çıkışı kontrole oranla 5-10 gün süre ile gecikme göstermiştir. Kadmiyumun 400 ppb etkisinde sadece 11 tane yumurta oluşumu gözlenirken, diğerlerinde yumurta gelişimi belirlenmemiştir. Ayrıca kadmiyumun 50 ppb etkisinde *L. stagnalis* yumurtalarında bölünme safhası bloke olurken, 200 ppb etkisindeki salyangoz yumurtalarında morula, veliger safhasında duraklama, ayak kısmının visceral kütleden ayrımı sırasında ve kabuk tomurcuğu ile göz pigmantasyonun oluşumu sırasında duraklamalar belirlenmiştir. Kadmiyumun 400 ppb etkisinde ise sadece 3 tane polinükleer yumurta oluşumu belirlenirken, diğer yumurtalarda gelişim görülmemiştir (Gomot, 1998). Bakırın 40 ppb derişim etkisinde 3. hafta yetişkinlerde mortalite nedeniyle ve 20 ppb derişim etkisinde ise yumurta kesesi elde edilememiştir.

Eser düzeylerdeki bakır, nikel ve kurşun derişimi etkisinde ergin salyangozların duyarlılık gösterdikleri derişimler olan bakırın 10, nikelin 40, kurşunun 40 ppb etkisinde *L. stagnalis*'in 4. ve 42. günde hepatopankreas, manto ve kas dokularındaki protein derişimi en fazla kas dokusunda belirlenmiştir.

Kurşunun 40 ppb derişiminde 4. gün etkisinde manto ve kas dokusundaki protein düzeyinde kontrole göre % 95 ve % 82, 42. günde % 96 ve % 92 oranlarında azalma belirlenmiştir. Ağır metal etkisindeki belirtilen dokularda kasılma proteinlerinin Ca^{+2} 'a olan ilgisi doku protein düzeylerindeki azalmayı açıklayabilir (Schiaffino ve Reggiani, 1996). Genel anlamda kalsiyum ağır metallerin antogonisti olarak özellik göstermektedir (Stacey ve ark., 1983; Hemelraad ve ark., 1987; Glyn, 2001; Cooper ve ark., 2006).

Kadmiyum ve bakır etkisinde *O. mykiss* larvalarında vücut Na^{+} ve Ca^{+2} iyon düzeyinde azalma belirlenmiştir (McGeer ve ark., 2000). Kobaltın eser derişimli 28 gün süreli etkisinde *L. stagnalis*'in hemolenf Ca^{+2} iyon derişiminde ve büyümede azalma gözlenmiştir (De Schamphelaere ve ark., 2008). Salyangozların kabuk gelişiminde Ca^{+2} ihtiyacının artması nedeniyle bu canlının eser metal etkisinde büyüme ve gelişmesinin yüksek düzeyde duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir (Grosell ve Brix, 2004; Grosell ve ark., 2006). Salyangozların gelişim sürecinde kabuk gelişimi için gereksinim duydukları yüksek düzeylerdeki Ca^{+2} iyonu su ve besinlerden alınmaktadır. Fakat çevrede artan miktarlarda ağır metalin bulunması canlının Ca^{+2} homeostasisine karşı daha duyarlı olmasını sağlamaktadır (Grosell ve Brix, 2004; Grosell ve ark., 2006). Eser kurşun derişimi etkisinde *L. stagnalis* ve *Lymnaea palustris*'in salyanyongozlar arasında kurşun derişimine en duyarlı türler olduğu belirtilmiştir (Grosell ve ark., 2006; Borgmann ve ark., 1978). Salyangoz gelişimi için gerek duyulan Ca^{+2} iyonun kurşunun antogonisti olması, bu türün neden kurşuna karşı duyarlı olduğunu açıklamaktadır (Rogers ve ark., 2003).

Kadmiyum etkisinde bırakılan *S. gairdneri* solungaçlarında kalsiyum alımında azalma, hipokalsemiya ve Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitesinde azalma belirlenmiştir (Verbost ve ark., 1989). Kadmiyum derişimi etkisinde *S. salar*'da böbrek ve solungaçlarda kadmiyum birikerek Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitesinde azalma gözlenmiştir (Berntssen ve ark., 2003). Çinko derişimi etkisinde *O.*

mykiss'de solungaç Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitesinde azalma belirlenmiştir (Hogstrand ve ark., 1996). Metal etkisinden sonra Ca^{+2} taşınımının azalması nedeniyle doku Ca^{+2} ATPaz enzim aktivitesinde azalma belirlenmiştir (Rogers ve Wood, 2004). Bakırın 75 ppb derişimli 2 ay süreli etkisinde *O. mykiss*'de solungaç $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPaz aktivitesinde kontrole oranla 2.5 kat artış gözleendiği belirtilmiştir (McGeer ve ark., 2000). Bakırın 10, nikelin 40, kurşunun 40 ppb derişimli etkisinde bırakılan *L. stagnalis*'in yetişkin bireylerinde 4. ve 42. günde enzim aktivasyonlarında azalma belirlenmiştir. Enzim aktivitesindeki bu azalma metallerin enzim -SH gruplarına yüksek düzeyli birleşme eğiliminden, iyon homeostasinden ve hücre zarının bozulmasından kaynaklı olabilirken enzim aktivitesindeki artmanın ise iyon taşınmasındaki onarım mekanizmasının faaliyete geçmiş olabileceği şeklinde açıklanabilir (McDonald ve Wood, 1993; Fernando ve ark., 2007).

4.2.2. *C. gariepinus* Dokularındaki Ağır Metal Birikiminin Toplam Protein Düzeyi ile $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPaz Aktivitesine Etkileri

Sucul ortamdaki metallerin toksik limitlerinin artmasına bağlı olarak, canlılarda metabolik ve fizyolojik değişimler gözlenmektedir. Ağır metal etkisinde balıklarda öncelikle merkezi sinir sistemi hasarı, dokularda ödem, kan dolaşımının bozulması ve toksik limitin artması ve canlı toleransının azalması ile mortalitenin gözleendiğini belirten çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Filenko ve ark., 1989; Lemus ve Chung, 1999). Deney süresinde selenyum, çinkonun ve nikelin belirtilen derişimleri için *C. gariepinus* bireylerinde 96 saat LC_{50} 'sinin 1/8, 1/7.3 ve 1/4.5'i olan derişimleri kullanılmıştır (Buhl ve Hamilton, 1991; Ololade ve Oginni, 2009; Ololade ve Oginni, 2010). Selenyum, çinko ve nikel ile ikili ve üçlü karışımlarının etkisinde 7 ve 14 gün süre ile 14 günlük birikim sürecini izleyen 7 gün süreli metal eliminasyon etkisinde bırakılan *C. gariepinus*'da mortalite gözlenmemiştir. *C. gariepinus*'da selenyum, çinko ve nikel birikimine rağmen balıklarda ölüm

gözlenmemesi canlının karaciğer ve böbreklerinin detoksifikasyon, osmoregülasyon ve glutasyon sistemlerinin çok etkili olduğunu göstermektedir. Bu dokularda glutasyon ve metallothionein gibi metal bağlayıcı proteinlerin metalleri esterleştirerek toksik etkinin diğer dokulara yayılması engellenmektedir.

Tatlısu canlılarında çevresel kirleticilerin ortamdaki etkilerine karşı öncelikli olarak davranış değişiminin görüldüğü belirtilmiştir (McGeer ve ark., 2000; Khunyakari ve ark., 2001; Karataş ve ark., 2005). Kadmiyum etkisindeki *C. carpio*'da ve bakır etkisindeki *Poecilia reticulata*'da besin alımının durması, akvaryum yüzeyine yönelme, yüzme performansında düşme, operkulum hareketlerinde ve solungaçlardan mukus salınmasında artış, fiziksel etkilere karşı duyarsızlık ve yüzgeç ışınlarında dikleşme gibi değişikliklerin görüldüğü belirtilmiştir (Vutukuru, 2005; Vutukuru ve diğ., 2007; Khunyakari ve ark., 2001). Kadmiyumun farklı derişimleri etkisinde *O. mykiss*'de besin alımının azaldığı belirtilmiştir (McGeer ve ark., 2000). Kadmiyum, selenyum, arsenik, krom, bakır etkisinde *Notemigonus crysoleucas* 96 saat süreli etkisinde LC₅₀ derişimleri belirlenmiştir. Selenyum ve kadmiyum etkisinde balıklarda davranışsal olarak tepki gözlenmezken, diğer metaller etkisinde ortamdaki kaçma davranışı gözlenmiştir (Hartwell ve ark., 1989). Deneylerde nikel, selenyum, çinko ve karışımlarının etkisinde *C. gariepinus* besin alımının kontrole oranla azaldığı ve yüzme performansının azaldığı gözlenmiştir. Bu durumun metal etkisinde bırakılan balıklardaki metabolik aktivitenin azaltılarak, besine ulaşma ve davranış için gereksinim duyulan enerjiyi değişen ortam koşullarında canlının adaptasyon amacıyla kullanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ağır metallerin dokulardaki birikimi ve toksik etkileri canlı türü ile ortam koşullarına bağlı olarak değişim gösterir. Balıklarda doku metal birikimi ortamdaki metal derişimine, metalin etki süresine, ortamdaki metallerin birbirleri ile olan ilişkilerine, su sertliğine, alkaliniteye, sıcaklığa, pH ile çözünmüş oksijen derişimine, balığın türüne, balığın yaşına, balığın metabolik aktivitesine ve balığın

habitatına bağlı olarak değişim gösterdiği çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Pagenkopf, 1983; Hilmy ve ark., 1987; Heath, 1995; Goyer, 1991; Sorensen, 1991; Nussey, 1998; Hollis ve ark., 1999; Romeo ve ark., 1999; Witeska ve Jezierska, 2003). Bu araştırmada laboratuvar ve akvaryum ortam koşulları sabit tutularak, diğer parametrelerin ağır metallerin dokulardaki birikimine ve metal toksisitesi üzerine etkileri minimum düzeye indirgenmiştir.

Balık dokularında metal eliminasyonu, eliminasyon süresine, su sıcaklığına, etkileşim halinde olan ajanlara, balığın yaşına, balığın metabolik aktivitesine ve metalin biyolojik olarak yarılanma süresine bağlı olarak değişmektedir (Larsson ve ark., 1985; Heath, 1995; Rao ve ark., 1988; Douben, 1989; Woo ve ark., 1993; Kargın, 1996; Nielsen ve Andersen, 1996). Balıkdaki metal birikimi solungaç, safra, idrar, deri ve mukus yoluyla elimine edilmektedir. Genel olarak metal eliminasyon rotası metal birikim rotasından daha fazla çeşitlilik gösterir. Fakat dokulardaki metal bağlayıcı proteinlerin varlığı nedeni ile metal birikimi metal eliminasyonundan daha hızlı olmaktadır (Varanasi ve Markey, 1978; Heath, 1995). Çinko, selenyum ve karışımlarının metal eliminasyonu etkisinde *C. gariepinus*'da kontrole oranla en fazla çinko eliminasyonu solungaç dokusunda, en az metal eliminasyonu ise karaciğer dokusunda belirlenmiştir. Nikelin selenyum ve çinko ile oluşturduğu ikili ve üçlü karışımların etkisindeki nikel eliminasyonu *C. gariepinus*'da kontrole göre en fazla karaciğer dokusunda, en az böbrek dokusunda belirlenmiştir.

Ağır metallerin etki yolları ile yapılan çalışmalarda mortalitenin en fazla su yollu etkisinde belirlendiği gözlenmiştir. Selenyumun besin ve su yollu etkisinde bırakılan *Lepomis macrochirus*'de en fazla mortalitenin 30 gün süreli selenyumun su yollu etkisinde % 87.5 oranında gözlendiği belirtilirken, selenyumun 90 gün süreli besin alınımı etkisinde % 22.5 mortalite belirlenmiştir (Cleveland ve ark., 1993). *C. gariepinus* ile yürütülen bu araştırmada akvaryum ortamı selenyum ve çinkonun 5, nikelin 2 ppm derişimi ile bu metallerin ikili ve üçlü kombinasyonları

etkisinde 7, 14 gün metal birikim ve 7 günlük metal atılım sürelerinde metal toksisite deneyleri yapılmıştır.

Kadmiyum etkisindeki *C. gariepinus* dokulardaki kadmiyumun 30 gün süreli birikimi ile 15, 30 ve 45 gün süreli atılımı incelenmiştir. En fazla kadmiyum birikimi böbrek ve karaciğer dokusunda artış görüldüğü belirtilmiştir. Kadmiyum atılımında ise karaciğer dokusunda önemli bir değişim gözlenmezken, solungaç ve kas dokusunda azalma, böbrek dokusunda artış gözlenmiştir (Erdem ve ark., 2005). Karaciğer ve böbreğin ağır metal birikiminde metabolik olarak aktif organlar olduğu belirtilmiştir (Chan ve Cherian, 1992; De Conto Cinier ve ark., 1999; Olsvik ve ark., 2001). Karaciğer metallerin depolanmasında ve detoksifikasyonunda oldukça önemli bir organ olup metal birikimini belirlemede biyoindikatör özellik gösterdiği belirtilmiştir (Ali ve ark., 2003). *C. gariepinus* ile yürütülen bu araştırmada 7. ve 14. günde çinko birikimi en fazla karaciğer ve böbrek dokusunda belirlenmiştir. Se+Ni+Zn karışımının 14 gün süreli etkisinde böbrek dokusunda çinko birikimi kontrole göre % 123 oranında artarken, 21. gündeki metal eliminasyonunda 14. güne göre % 59 oranla azalma belirlenmiştir ($P<0.05$). Karaciğer ve böbrek dokusunda 7. ve 14. günde Se+Ni etkisindeki selenyum birikimi, salt Se etkisindeki selenyum birikiminden daha fazla bulunmuştur ($P<0.05$). Metal eliminasyonunun gözlemlendiği 7 gün sürede salt Se eliminasyonundaki Se düzeyi 14. güne oranla karaciğer dokusunda en fazla belirlenmiştir (% 72). Karaciğer ve böbrek dokusunda 7 ve 14. günlerde en fazla nikel birikimi salt nikel etkisinde belirlenmiştir ($P<0.05$). Ağır metal etkisindeki balıkların böbreklerinde yüksek düzeylerde metal birikiminin olduğu belirtilmiştir (Thomas ve ark., 1985; Suresh ve ark., 1993). Böbreklerdeki ağır metallerin yüksek düzeylerdeki birikimi, bu organın ağır metal atılımında önemli bir rolünün olduğunu ve metallothioneinlerin sentezlenmesi ile ilgili olduğunu düşündürmektedir (Kito ve ark., 1986). Selenyumun çinko ve nikel ile ikili ve üçlü karışımlarının 14 gün süreli akümülayonu etkisindeki *C. gariepinus*'un selenyum

birikimi en fazla karaciğer dokusunda, çinko ve nikel birikimi ise en fazla böbrek dokusunda belirlenmiştir. *C. gariepinus* ile yürütülen bu araştırmada denenen tüm sürelerde nikelin en fazla böbrek dokusunda biriktiği, bunu sırasıyla karaciğer ve solungaç dokularının izlediği saptamıştır. Böbrek dokusundaki nikel birikimin diğer dokulara oranla daha fazla olması nikelin yüksek derişimlerinin herhangi bir biyolojik işlevi olmaması nedeniyle su ve metabolizma atıkları ile vücuttan atılmak üzere böbreğe taşınmasından, atılım sürecinde bu dokuda reabsorbsiyonundan ve metallothionein gibi metal bağlayıcı proteinlere bağlanmasından kaynaklanabilir.

Balıklarda solungaçlar geniş bir yüzeye sahip olmaları ve dış ortamdaki metal ile doğrudan ilişkide olmaları nedeniyle solungaçlarda metal birikimi yüksek düzeyde gerçekleşmektedir (Blasco ve Puppo, 1999). Solungaçlar osmoregülasyon mekanizması, vücut elektrolit dengesinin sağlanmasında, azotlu artıkların atılmasında ve solungaç solunumunda önemli bir rolü olmakla birlikte yüzey alanı balığın tüm dış yüzey alanının yarısından fazlasını oluşturmakta ve saatte yaklaşık 48 litre suyu dış ortamdan alınıp-verilmektedir (Claiborne ve ark., 2002; Marshall, 2002). Solungaç dokusu aquatik ortamdaki toksik metaller için ilk hedef dokudur ve solungaçların metalin vücuda girişinde önemli bir giriş yolu olduğu belirtilmiştir (Tao ve ark., 1999). Çinkonun düşük derişimli (6.62 ppm) etkisinde *Channa punctatus*'da 15. günde en fazla çinko birikimi solungaç dokusunda en az çinko birikimi ise bağırsak dokusunda belirlenirken yüksek derişimli (13.24 ppm) etkisinde en fazla birikim böbrek en az birikim ise bağırsak dokusunda belirlenmiştir (Murugan ve ark., 2008). Çinkonun 5 ppm derişiminin 7 gün süre etkisinde *C. gariepinus*'da solungaçlarda çinko birikimi kontrole göre % 45 oranla, 14. günde % 80 oranında artış göstermiştir ($P<0.05$). Solungaç dokusunda selenyum birikimi 7. ve 14. günde en fazla Se+Ni+Zn karışımı etkisinde belirlenirken kontrole oranla 7 ve 16 kat artış göstermiştir ($P<0.05$). Yedinci ve 14. günlerde salt Zn etkisinde solungaç dokusundaki çinko birikimi, çinkonun selenyum ve nikel ile ikili ve üçlü kombinasyonları etkisindeki çinko

birikimlerinden daha fazla olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Solungaç dokusunda 14. günde çinko birikimine oranla çinkonun atılımı en fazla salt çinko etkisinde gözlenmiştir (% 41).

Çinko etkisinin *Clarias ischeriensis*'de karaciğer bozukluklarına bağlı olarak protein sentezini bozduğu ve plazma protein düzeyini azalttığı (Kori-Siakpere ve ark.,1995; Kori-Siakpere ve ark., 2008), *C. gariepinus*'da sublethal seviyelerde yumurta çıkışı, hayatta kalma ve kan parametrelerinde negatif etkilere neden olduğu belirtilmiştir (Cardeihac ve ark.,1981; Kori-Siakpere ve ark., 2008). Çinkonun düşük derişimli ve yüksek derişimli 45 gün süreli etkisinde *C. punctatus*'da karaciğer ve böbrekler çinko birikiminin en fazla gerçekleştiği organlardır (Murugan ve ark., 2008).

Salmo gairdneri'de solungaçlardaki selenyum birikiminin diğer dokularla kıyaslandığında oldukça yavaş olduğu belirlenmiştir. Gökkuşığı alabalığında 44 hafta boyunca selenyum birikimi bağırsaklarda solungaçlardaki birikimden üç kat daha fazla olduğu belirtilmiştir (Hodson ve ark., 1980). Selenyumun Zn ve Ni ile oluşturduğu ikili ve üçlü karışımlarının 7 gün süreli etkisinde *C. gariepinus*'da selenyum birikiminin kontrole göre en az solungaç dokusunda olduğu belirlenirken, en fazla selenyum birikimi böbrek dokusunda belirlenmiştir ($P<0.05$).

Ağır metallerin ve karışımlarının toksik etkilerine karşı selenyumun koruyucu etkisini belirlemek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Jorgensen ve Heisinger, 1987; Cuvin ve Furrer, 1988; Çoğun ve ark., 2012; Kim ve ark., 1977). Buna karşın selenyumun tek başına balıkta risk oluşturabildiği belirtilmiş olup selenyumun toksik etkileri ile ilgili olarak türe özgü LC_{50} deneylerinin yapılmasının gerektiği belirtilmiştir (Sorensen, 1991). Bu araştırmada ise Zn+Se karışımının 7 ve 14 gün süreli etkisinde solungaç dokusu çinko birikimi salt Zn etkisindeki birikime oranla azalma, karaciğer ve böbrek dokusunda artma göstermiştir ($P<0.05$). Buna karşın Ni+Se karışımının 7 ve 14 gün süreli etkisinde solungaç,

karaciğer ve böbrek dokusu nikel birikimi, nikelin tek başına etkisindeki nikel birikiminden daha az miktarda nikel birikimine neden olmuştur ($P<0.05$).

Metallerin iki ya da daha fazla karışımlarının etkisi sinerjik ya da antogonist etki gösterebilmektedir. Metaller arası etkileşimler farklılık gösterirler. Bu nedenle çeşitli metal karışımlarının etkisindeki tatlısu canlılarının mortalite durumu da değişkenlik göstermektedir. Metaller arası etkileşimler tatlısu canlılarının dokularında metallerin farklı dağılımlarına neden olmaktadır. Metallerin balıklardaki etkisini belirlemek için genellikle tek metal etkili çalışmalar yapılmıştır. Fakat kirlenmiş tatlısu ekosistemlerinde canlıların vücutlarında genellikle çeşitli metallerin artan derişimleri belirlenmiştir. Bu nedenle doğa çalışmalarında elde edilen veriler ile laboratuvar çalışmalarında elde edilen veriler kıyaslanamamaktadır (Witeska ve Jezierska, 2003).

Genellikle metal karışımlarının etkisinin, metallerin tek başlarına etkisinden daha toksik etki gösterdiği belirtilmiştir. Çinko ve kadmiyum karışımları etkisinde bırakılan *Jordanella floridae*'de karışım etkisinin salt çinko etkisinden daha toksik etki gösterdiği belirtilmiştir (Spehar, 1978). Alüminyum ve çinko karışımları etkisinde bırakılan *Salmo salar*'ın hayatta kalma süresi salt alüminyum etkisinde kalan balıklara oranla daha az bulunurken, salt çinko etkisindeki balıklarda mortalite gözlenmemiştir (Roy ve Campbell, 1995). Alüminyum, kadmiyum, bakır, kalsiyum, demir, mangan, nikel, kurşun, çinko ve karışımları etkisindeki *Salmo trutta*'nın mortalite oranı metallerin tek başlarına etkisine oranla daha fazla bulunmuş olup ayrıca karışım etkisinde kemik kalsifikasyonun bozulduğu görülmüştür (Reader ve ark., 1989). Bakır, çinko ve karışımının 48 saat süreli etkisinde *Fundulus heteroclitus*'da bakır+çinko karışımındaki metal birikimleri metallerin tek başlarına etkisindeki birikimden daha fazla bulunmuştur (Eisler and Gardner, 1973). Bakır ve çinkonun sinerjik etkisi canlının farklı anatomik bölgelerindeki bu metallerin tek başlarına gösterdikleri toksik özelliklerine bağlı bulunmuştur (Eisler and Gardner, 1973). Bakır, kadmiyum ve

çinko etkisindeki *Pimephales promelas*'in büyüme, yumurta bırakma ve yumurtadan çıkma başarısı incelenmiştir. Metallerin tek başlarına bir veya birden fazla toksik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Böylece metal karışımları içindeki her bir metalin metal toksisiteyi arttırıcı etkiye sahip olup olmadıklarını belirlemenin mümkün olduğu belirtilmiştir (Eaton, 1973). Böbrek dokusunda 14. günde en fazla çinko birikimi (kontrole göre % 123 artış) ve atılımı (14. güne göre % 59) Se+Ni+Zn karışımı etkisinde gözlenmiştir ($P<0.05$). Böbrek dokusunda Zn+Ni+Se karışımı etkisinde çinko birikimi salt çinko etkisindeki çinko birikimine göre % 54 oranla daha fazla gözlenmiştir ($P<0.05$). Böbrek dokusunda Ni+Se karışımı etkisindeki nikel birikimi 7. ve 14. günde kontrole oranla 1.40 ve 3.03 kat artış göstermiş olup nikelin selenyum ve çinko karışımları arasında en az nikel birikimi Ni+Se karışımında gözlenmiştir ($P<0.05$). Böbrek dokusunda Nikelin çinko ve selenyumla oluşturduğu ikili karışım etkisindeki nikel birikimi Ni+Se+Zn etkisindeki nikel birikiminden daha az belirlenmiştir ($P<0.05$).

Çinko+nikel, bakır+nikel ve çinko+nikel+bakır karışımları etkisinde bırakılan *Lebistes reticulatus*'da metalleri karışımlarının sinerji oluşturduğu, özellikle de üçlü karışımın güçlü bir şekilde toksisiteyi arttırıcı etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Khengarot, 1981). *Tilapia nilotica*'da karaciğer, solungaç ve kas dokusunda çinkonun bakır birikimi üzerinde antagonist etki oluşturduğu ve bakır birikiminin azaldığı belirtilmiştir (Kargın ve Erdem, 1992). Çinko+nikel karışımı etkisindeki farelerde çinkonun nikel birikimi üzerinde antagonist etki gösterdiği belirlenmiştir (Kasprzak ve ark. 1988). Yedinci günde Zn+Ni etkisinin *C. garipepinus*'un böbrek dokusundaki çinko birikimini kontrole göre % 68 oranında arttırdığı gözlenmiştir ($P<0.05$).

Krom, çinko ve nikelin 12 farklı kombinasyonu etkisinde *Mystus vittatus* incelenmiş, metal karışımlarının 6 tanesinde sinerjik etki görülürken diğer 6 tanesinde antagonist etkinin olduğu bulunmuştur. Nikelin kroma yüksek oranda sinerjik etkisinin görülmesine karşın, çinkonun krom ve nikel karışımına antagonist

etki gösterdiği belirtilmiştir (Verma ve ark., 1982). Cıvanın kadmiyum ve çinko ile karışımları etkisindeki *Oreochromis niloticus*'da mortalitenin arttırdığı ve metallerin sinerjik etki oluşturduğu belirtilmiştir (Cuvin-Aralar ve Aralar, 1993). Nikelin 2 ppm, selenyum ve çinkonun 5 ppm etkisindeki *C. gariepinus* Ni+Zn etkisi salt nikel etkisindeki nikel birikimine oranla tüm dokularda azaltıcı; Se+Ni etkisi salt selenyum etkisindeki selenyum birikimine oranla tüm dokularda arttırıcı; Ni+Se etkisi salt nikel etkisindeki nikel birikimine oranla tüm dokularda azaltıcı; Zn+Se etkisi salt çinko etkisindeki çinko birikimine oranla karaciğer ve böbrekte arttırıcı solungaç dokusunda azaltıcı etki göstermiştir. Kadmiyum, bakır ve çinko karışımlarının 28 gün süreli etkisinde *O. mykiss*'de karışımın bakır birikimine antagonist etki gösterdiği belirtilmiştir (Kamunde ve MacPhail, 2011).

Kadmiyum, bakır, nikel ve çinkonun farklı kombinasyonlarının 96 saat süreli etkisinde bırakılan deniz kestanesi *Strongylocentrotus purpuratus*'da Ni+Zn etkisinin sinerjik etki gösterdiği belirtilmiştir (Phillips ve ark., 2003). Nikel+çinko karışımının 48 saat süreli etkisindeki *L. reticulatus*'da karışımın toksik etkisi nikelin karışımdaki miktarına bağlı olarak artmıştır (Khangarot, 1981). *C.lazera*'da çinko, bakırın toksik etkisini azaltarak mortalite oranını düşürmüştür (Hilmy ve ark., 1987). Omurgalı ve omurgasız hayvanlarda Zn, Fe, Cr ve Ca gibi elementlerin ağır metal birikimleri üzerinde antagonist etkili olduğu belirtilmiştir (Stacey ve ark., 1983; Hemelraad ve ark., 1987; Glyn, 2001; Cooper ve ark., 2006).

Bazı ağır metallerin etkisinde metallothionein (MT) sentezi artmaktadır. Metallothioneinler düşük moleküler ağırlıklı, sisteince zengin, metal bağlayıcı proteinlerdir. Metallothionein vücut için gereksinimi duyulan esansiyel metallerin düzenlenmesi, gereksinimi duyulmayan non-esansiyel metaller ile ortamdaki derişimi artmış esansiyel metallerin, serbest radikallerin detoksifikasyonunda önemli bir rolü vardır (Roesijadi, 1992; Mason ve Jenkins, 1995; Olsson ve ark., 1998). Ağır metallerin metabolik aktivitesi yüksek olan organ ve dokularda toplam protein derişimini arttırdığı bildirilmiştir (Chan ve Cherian, 1992). Bu çalışmada

esansiyel metallerin ve karışımlarının *C. gariepinus*'un böbrek, karaciğer ve solungaç dokularındaki esansiyel metal birikiminin toplam protein derişimine etkisi incelenmiştir. Ağır metal etkisinin balıklarda depo alanları olan kas ve karaciğer dokularında toplam protein düzeyinde değişime neden olduğu belirtilmiştir (Singh ve Reddy, 1990; James ve Sampath, 1995; Singh ve Singh, 2002). Karaciğer ve böbrek dokularında kadmiyum birikim düzeyi ile toplam protein derişimi arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir (Kalay ve Erdem, 2003). Selenyumun çinko ve nikel ile ikili ve üçlü karışımlarının etkisinde *C. gariepinus*'un böbrek dokusundaki toplam protein düzeyi kontrole oranla 7. ve 14. günde, karaciğer dokusundaki protein düzeyi kontrole oranla 7. günde artma göstermiştir ($P<0.05$).

Kadmiyum, arsenik ve çinko etkisinin *Labeo rohita*, *Cirrhinus mrigala* ve *Catla catla*'da (Garg ve ark., 2009), kadmiyum, bakır ve kurşun etkisinin *Ruditapes philippinarum*'da (Blasco ve Puppo, 1999), kadmiyum etkisinin *C. carpio*'da (Cicik ve Engin, 2005), krom etkisinin *Barytelphusa guerini*'de toplam protein, lipid ve glikojen derişimlerini azalttığı belirtilmiştir (Venu Gopal ve ark., 1990). Kadmiyum ve cıvanın *C. punctatus*, *Clarias batrachus*, *C. carpio* ve *Procambarus clarkii*'de dokudaki birikimi protein derişimini azaltırken (Suresh ve ark., 1991; Dubale ve Shah, 1981; Sahana ve ark., 1985; Torreblanca ve ark., 1989), kadmiyum ve bakır etkisindeki *C. lazera* ve *C. batrachus* doku protein düzeyinde artış gözlenmiştir (Jana ve Sahana, 1987; Hilmy ve ark., 1987). Se+Zn ve Zn+Ni karışımlarının 14. günde *C. gariepinus*'un karaciğer dokusundaki toplam protein derişimini kontrole göre % 6 ve % 9 oranda azalttığı gözlenmiştir ($P<0.05$). Kadmiyum etkisindeki *T. nilotica*'nın solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki kadmiyum birikimi ve birikimin toplam protein derişimine etkisi belirlenmiştir. Kadmiyumun solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında yüksek düzeyde biriktiği ve metallerin metabolik aktivitesi yüksek olan dokularda toplam protein derişimini arttırdığı belirtilmiştir (Kalay ve Erdem, 2003). Esansiyel metal ve karışımların 14. gündeki etkisi *C. gariepinus*'un karaciğer dokusu toplam protein düzeyinde önemli

düzeyde artışa neden olmuştur ($P<0.05$). Sucul ekosistemlerden alınan ağır metaller genellikle proteinlere bağlanarak kan yoluyla, depo bölgelerine detoksifikasyon amacıyla dönüştürülmek ya da depolanmak için karaciğere taşınmaktadır. Metaller imidazol, karboksil ve özellikle sülfidril grubu içeren proteinlerde çeşitli bölgelere bağlanarak proteinlerin düzenleyici fonksiyonlarının kaybolmasına ve konformasyonel değişikliklere neden olmaktadır (Heath, 1995).

Ağır metallerin toksisik etkilerine karşı tatlısu balıklarında mukus oluşumu canlıda hipoksik ya da anoksik koşullara neden olmaktadır. Canlı metabolik aktivitesini azaltarak anaerobik yolla enerji gereksinimi sağlamak için katekolamin ve glukokortikoid gibi hormonlar salgılar. Hayvansal organizmaların başlıca yüksek enerjili bileşiği olan glukozun kas ve karaciğerde depo formu olan glikojenin yıkımı böylece başlar. Bu durum karaciğerde glikojenlizis olayını artırır. İlk önce karbonhidrat kaynakları tüketilir, enerji ihtiyacı için karbonhidrattan enerji takviyesinin yetişmediği durumda ise gereksinim duyulan enerji glukoneogenik enzimler aracılığı ile protein ve lipidlerden sağlanır (Levesque ve ark., 2002).

Glikojen derişimindeki azalma ağır metal etkisinde artan enerji gereksiniminin karşılanması yanında glikojenin, glikoprotein ve glikolipid yapımında kullanılmasından, protein düzeyinin azalması ise proteinin hücre yenilenmesi ve doku organizasyonu için gerekli lipoprotein ile stres nedeniyle artan mukoprotein yapımında kullanılmasından kaynaklandığı olasıdır. Balıklarda doku proteini, ağır metal etkisinde gelişen bir detoksifikasyon mekanizması olan metallothionein ve glutatyon sentezini artırır. *C. carpio*'da çinko etkisinin karaciğer protein düzeyini artırdığı belirlenmiştir (Cicik, 1995).

Selenyumun 30 gün süreli subkronik (0-0.16 ppm) etkisindeki *O. mykiss* plazma kortizol seviyesinde artma, plazma glukoz, lipid peroksidasyon seviyesinde değişim belirlenmemiştir (Miller ve ark., 2007). Ağır metallerin dokulardaki birikimi ve dağılımı metallerin depolanma alanlarındaki metallothionein sentezinin

oluşumuna bağlı olarak değişim göstermektedir (Ramamoorthy ve Blumhagen, 1984). Kromun LC_{50} derişiminin 24 ve 96 saat süreli etkisinin *L. rohita* (Vutukuru, 2003, 2005) ve *O. niloticus*'un karaciğer ve kas dokularındaki glikojen ile toplam protein düzeyini azalttığı belirtilmiştir (Abbas ve Ali, 2007). Çeşitli labaratuvar çalışmalarında nikelin yüksek derişimlerinin karaciğer ve böbrek metallothionein düzeyini arttırdığı (Sunderman ve Fraser, 1983; Khandelwal ve ark., 1989; Fleet ve ark., 1990; Arizono ve ark., 1991), bazı çalışmalarda da nikelin karaciğer ve böbrek metallothionein düzeyini arttırmadığı belirtilmiştir (Nation ve ark., 1985; Srivastava ve ark., 1995).

Kurşunun 24, 48, 96 saat ve 10 ile 30 gün süreli sublethal ortam derişimlerinin etkisinde *Penaues indicus* postlarvalarında toplam protein, lipid ve karbonhidrat derişimleri deney süresinin uzamasına bağlı olarak azaldığı belirtilmiştir (Chinni ve Yallapragada, 2000). Krom etkisinin *L. rohita* (Radhakrishnaiah ve ark., 1992; Vutukuru, 2003, 2005; Vutukuru ve ark., 2007), *O. niloticus* (Abbas ve Ali, 2007) ve *Colisa fasciatus*'da toplam protein miktarını azalttığı belirtilmiştir (Nath ve Kumar, 1988). Nikelin 6.6 ppm derişimli 7 gün süre etkisinde *O. mykiss* solungaç metallothionein düzeyini kontrole oranla arttırmıştır (Pyle, 2000). Selenyum, çinko, nikel ve karışımlarının 7. günde *C. gariepinus*'un solungaç dokusunda ise kontrole oranla toplam protein derişimini azalttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Salt Se, salt Zn ve Se+Zn, Zn+Ni karışımlarının 14. gün etkisinde *C. gariepinus*'un solungaç dokusunda toplam protein derişiminde kontrole oranla artma gözlenirken, salt Ni, Se+Ni ve Se+Ni+Zn karışımları etkisinde azalma belirlenmiştir ($P<0.05$). Toplam protein düzeyindeki azalma, karaciğer hasarına bağlı protein sentezinin zarar görmesi, ya da protein kaybından kaynaklanabilmektedir. Uzun dönemli kadmiyum etkisinde *O. niloticus* ile yapılan çalışmada serum toplam protein içeriğinde herhangi bir değişimin olmadığı gözlenmiştir (Öner ve ark., 2008). Cıvanın 0.01 ile 0.1, kromun 20, nikelin 2 ppm derişimlerinde 7 gün süre etkisinde *C. carpio*'da serum protein düzeyinin önemli

oranda değişmediği bildirilmiştir (Canlı, 1995). Selenyum, çinko, nikel ve karışımlarının eliminasyonlarının 7 gün süreli iyileşme döneminde *C. gariepinus*'un karaciğer, böbrek ve solungaç dokularındaki toplam protein düzeyinin kontrole oranla dengeye gelmesinde yeterli olmamıştır.

Sucul ekosistemde metallerin birbirleriyle olan ilişkileri oldukça karmaşık olup bu ilişkilerin durumunun suyun fizikokimyasal özelliklerine de bağlı olduğu belirtilmiştir (Heath, 1995). Ağır metalin çeşidi, derişimi, suyun fiziksel ve kimyasal özellikleri balık türüne bağlı olarak balığın enzim aktivitesini etkileyerek enzim aktivitesinde artışa veya azalışa neden olabilmektedir (Heath, 1995). Su kimyasının önemli parametrelerinden olan suyun alkalinitesi, suyun sertliği ve pH'ı serbest metal oluşumunu ve metallerin birikimini etkilemektedir. Metallerin toksik etkisi sudaki EDTA ve humik asit gibi şelat oluşturuç ajanların varlığında azalmaktadır. Sert sulara göre yumuşak sularda da ağır metal toksisitesinde artış gözleendiği bildirilmektedir (Meinelt ve ark., 2001). Temel element ve karışımlarının 7 ve 14 gün sürede *C. gariepinus*'un solungaç, böbrek ve karaciğer dokusundaki birikimlerinin Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesindeki değişime olan etkisinin incelendiği deneyde akvaryum ortamının toplam sertliği 361.25 ± 4.6 ppm ve toplam alkalinitesi 275 ± 17.6 ppm olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.2.)

Homeostasinin sağlanması için hücre içindeki 3 Na^+ iyonu hücre dışına, hücre dışındaki 2 K^+ iyonu hücre içine taşınır. Gerekli olan enerji ATP molekülündeki fosfatlardan açığa çıkan enerjiyle sağlanır. Sucul ekosistemlerdeki balıklarda özellikle solungaç, böbrek ve bağırsak gibi iyon dengesinin ve osmoregülasyonunun düzenlenmesinde önemli bir görevi olan Na^+/K^+ -ATPaz enzimi vücut iç denegesinin korunmasından sorumludur. Çevresel kirliliğin toksik etkilerinin değerlendirilmesinde Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi biyoindikatör olarak kullanılmaktadır (Watson ve Beamish, 1981). Selenyumun 96 saat akut ve 30 gün subkronik etkisinde (0-2.67; 0-0.16 ppm) bırakılan *O. mykiss*'de hem 96 saat akut etkide hemde 30 gün subkronik etkide Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde

değişim gözlenmemiştir (Miller ve ark., 2007). Selenyum ve çinkonun 5 ppm ile nikelin 2 ppm derişimleri ile karışımlarının etkisinde *C. gariepinus*'un dokularında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde değişimler gözlenmiştir.

Bakırın 55 ppb derişimlerinin 28 gün süreli etkisinde *S. gairdneri*'nin solungaçlarında bakır birikiminin Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesini 24 saat içerisinde % 33 azalttığı, 14 gün ve sonrasında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin normal düzeye geldiği bildirilmiştir (Lauren ve McDonald, 1987). Yedinci günde salt nikelin 2 ppm derişimli etkisinde ve 14. günde salt selenyumun 5 ppm derişimli etkisinde solungaç dokusunda Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde kontrole göre % 51 ve % 69 oranlarında azalma gözlenmiştir ($P<0.05$). Balıklarda Ag solungaç epitel dokusundan sodyum kanalı aracılığıyla girmekte ve artan derişiminin Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi ile Na^+ ve Cl^- gibi önemli plazma iyonlarının azalmasına, sonuç olarak ise ölüme neden olduğu bildirilmiştir (Hogstrand ve Wood, 1998). Balıkdaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişikliklerin balığın türüne, metale, *in vivo* ve *in vitro* uygulamalardaki etki koşullarına bağlı olarak değişim gösterebileceği belirtilmiştir (Ay ve ark., 1999). Balığın osmoregülasyon sisteminde ve hücre zarı geçirgenliğindeki bozulma Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini azaltmaktadır. Yüksek derişimlerdeki metal etkisi balığın hücre zarındaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesini etkileyerek hücrede yapısal, fonksiyonel ve morfolojik bütünlüğün bozulmasına, dolaylı olarak ise endokrin sistemin hasar görmesine neden olabileceği belirtilmiştir (Heath, 1995; Grosell ve ark., 2004). Selenyum, çinko ve nikelin ikili ve üçlü karışımlarının 7. ve 14. gün etkisinin böbrek dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini genel olarak kontrole oranla azalttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Yedinci ve 14. günde Se+Zn karışımı etkisinde böbrek dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi kontrole göre % 72 ve % 83 oranları ile en fazla azalmaya neden olmuştur ($P<0.05$). Metallerin antagonist ve sinerjik etkileri ile hücredeki iyonlarla yarışmaları enzim yapısındaki -SH gruplarına bağlanarak enzimin konformasyonel yapısında değişikliklere neden olmaktadır.

Bu durum enzimin aktivitesinde azalmaya neden olabilmektedir. Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinde artışlar da gözlenmektedir. Bu durum ise bozulan enzim mekanizmasının tekrar onarılması için antioksidant enzim sisteminin durumu telafi etmek için devreye girmesi ile açıklanabilir. Sucul ekosistemlerdeki kirleticilerin akut veya kronik etkilerinin balıkta Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde değişimlere neden olduğu belirtilmiştir (Fernando ve ark., 2007). Bakırın 12.8 ve 55.2 μM derişimli 30 gün süreli etkisinde *Opsanus beta*'da solungaç dokusunda bağırsak dokusuna oranla daha hızlı bakır birikimi gözlenmiştir. Bakır birikimine karşın Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde azalma belirlenmiştir (Grosell ve ark., 2004).

Çinkonun 0.4 ppm etkisinde *Chasmagnathus granulata*'da solungaç dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi % 43 oranda (Bianchini ve ark., 1999) ve bakırın 400 ppb etkisinde *O. niloticus*'da solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi % 70 oranında azalma göstermiştir (Monteiro ve ark., 2005). Bakır, gümüş, kadmiyum, çinko ve cıvanın akut toksisitesinde solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin azalmasının balığın osmoregülasyon sisteminin hasar görmesi ile ilgili olduğu belirtilmiştir (McGeer ve Wood, 1998; Bianchini ve ark., 2005; Monserrat ve ark., 2007). Selenyum farklı derişimlerdeki etkisindeki *Carassius auratus*'da 120 saat sonunda toksik etki sonucunda selenyumun 3-4 ppm etkisi karaciğer metallothionein (MT) ve solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesini artırırken, kontrol ve selenyumun 2 ppm derişiminde enzim aktivitesinde değişim gözlenmemiştir (Choi ve ark., 2015). Yedinci günde salt selenyumun 5 ppm derişimli etkisindeki karaciğer dokusunda Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrole göre % 85 oranında ve 14. günde ise salt nikelin 2 ppm etkisinde kontrole göre % 93 oranda azalma belirlenmiştir ($P<0.05$). Karaciğerdeki metaller ve karışımlarının eliminasyonu sürecinde enzim aktivitesinde kontrole göre azalma, böbrek dokusu enzim aktivitesinde ise nikel ve çinko eliminasyonu dışındaki metal eliminasyonları sürecinde enzim aktivitesinde kontrole oranla artma belirlenmiştir ($P<0.05$). Bakırın 40 ve 400 $\mu\text{g/mL}$ derişiminin etkisinde *O. niloticus*'da 3, 7, 14 ve 21 gün

sürede solungaç dokusunda bakır birikimi bakırın derişimi ve etki süresine bağı olarak artarken, Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi bakır birikiminin 3. gününde azalma göstermiştir. Uzun süreli metal etkisinde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde daha hızlı bir tepkinin gözleendiğı belirtilmiştir (Monteiro ve ark., 2005).

Kadmiyumun 5 ve 25 ppm derişimli 24, 48, 96 saat süreli etkisinde *O. niloticus*'un plazma Na^+ iyon düzeyi ve solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde değışiklik belirlenmezken, Ca^{+2} düzeyinde azalma gözlenmiştir (Garcia-Santos ve ark., 2006). Bakırın 30 günlük besin alımın etkisinde *C. gariepinus*'un bağırsak, karaciğer ve solungaç dokularındaki bakır düzeyinde kontrole oranla 20, 5 ve 4 kat artma belirlenirken, doku Na^+ , K^+ iyon düzeyi ile Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde değışim gözlenmemiştir (Hoyle ve ark., 2007).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Antropojenik etkilerin sucul ekosistemlerde neden olduğu çevresel kirlilik gibi çevresel felaketler canlıların tolerans eşiğini etkilemektedir. Homeostatik dengenin son durumu çevresel problemlere karşı canlının gösterdiği reaksiyonun potansiyel enerji maliyetine bağlı olarak değişebilmektedir. Bu çalışmada bazı ağır metallerin (Cu, Pb, Ni, Zn, Se) etkisinin omurgasız ve omurgalı iki türdeki fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri değerlendirilmiştir.

5.1. *L. stagnalis*

1. Eser düzeydeki ağır metallerin etkisinde *Lymnaea stagnalis* ergin bireylerin duyarlı oldukları derişimlerden alınan yumurta keselerindeki yumurta açılımları belirlenmiştir. Ağır metallerin eser düzey etkileri salyangozların yumurta açılım sayısında değişimlere neden olduğu gözlenmiştir.
2. *L. stagnalis*'in ağır metallere karşı oldukça duyarlı olması çevresel risk analizlerinden ve halk sağlığı çalışmalarından hızlı cevap almada, ekolojik olarak bu türü değerli kılmaktadır. Standart labaratuvar koşullarında yapılan salyangoz deneyleri ekonomik, kolay, hızlı ve yüksek duyarlılıkta sonuç verebilmektedir.
3. Bu çalışmayla labaratuvar ortamında ağır metal derişimlerinin uzun dönemli etkisindeki F₁ jenerasyonlarının metal adaptasyonu değerlendirilmiştir.
4. *L. stagnalis* ergin bireylerin duyarlı oldukları derişimlerde hepatopankreas, kas, manto dokularındaki toplam protein ile Na⁺/K⁺-ATPaz ve Ca²⁺ATPaz aktivitesi incelenmiştir. Eser düzeyli ağır metal etkisi toplam protein ve enzim aktivitesi düzeyini azaltmıştır.

5.2. *C. gariepinus*

1. Juvenil *C. gariepinus* bireylerinde deney süresinde mortalite gözlenmemiştir.
2. Deneylerde suyun fiziksel ve kimyasal özellikleri ölçülerek selenyum, çinko ve nikelin seçilen derişimleri *C. gariepinus* LC₅₀ değeri altında seçilmiştir. Metallerin solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki birikimi ve atılım durumu incelenmiştir.
3. Metal dağılımında organlara göre farklılıklar gözlenmiş olup bu farklılıklar organların metabolik aktivitelerindeki farklılıklardan kaynaklanabilir.
4. Toplam protein düzeyleri dokuya, metal çeşidine, metallerin karışımına, metalin birikim ve atılım süresine bağlı olarak artış ve ya azalış göstermiştir.
5. Solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki metal derişimleri Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesini azaltmıştır. Bu çalışmada *C. gariepinus*'da görülen değişimler canlının ağır metal birikimine karşı gösterdiği adaptasyon yeteneğinin aktif olduğunu, fakat 7 günlük metal atılımının yeterli olmadığını gösterebilir.
6. Sunulan çalışmada *C. gariepinus*'un fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin iz metal etkisine duyarlı olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abbas, H.H., and Ali, F.K., 2007. Study the Effect of Hexavalent Chromium on Some Biochemical, Cytotoxicological and Histopathological Aspects of the *Oreochromis spp.* Fish. Pakistan J. Biol. Sci., 10(22):3973-3982.
- Adams, S.M., 2002. Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress. American Fisheries Society. Bethesda, Maryland. 644 p.
- Agostini, T., 1983. Effetti del Cadmio in un Mollusco Polmonato D'acqua Dolce: *Physa acuta*. University of Milan-PhD Thesis 102 p.
- Agrawal, S.J., Srivastava, A.K., and Chaudhry, H.S., 1979. Haematological Effects of Nickel Toxicity on Fresh Water Teleost, *Colisa fasciatus*. Acta Pharmacol. Toxicol., 45(3):215-217.
- Ajiwe, V.I.E., Nnabuike, B.O., Onochie, C.C., and Ajibola, V.O., 2000. Surface Water Pollution by Effluents From Some Industries in Nnewi area, Nigeria. J. Appl. Sci, 3(3):1265-1280.
- Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A. D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., 2009. Essential Cell Biology (3rd ed.). New York, Garland Science. 552-553 p.
- Ali, A., Al-Ogaily, S.M., Al-Asgah, N.A., and Gropp, J., 2003. Effect of Sublethal Concentrations of Copper on the Growth Performance of *Oreochromis niloticus*. J. Appl. Ichthyol., 19(4):183-188.
- Alkahem, H.F., 1994. The Toxicity of Nickel and the Effects of Sublethal Levels on Haematological parameters and Behavior of the Fish, *Oreochromis niloticus*. J. Univ. Kuwait Sci., 21:243-251.
- Allen, H.E., and Hansen, D.J., 1996. The Importance of Trace Metal Speciation to Water Quality Criteria. Water Environ. Res., 68(1):42-54.
- Alliot, A., and Frenet-Piron, M., 1990. Relationship Between Metals in Sea-Water and Metal Accumulation in Shrimps. Mar. Pollut. Bull., 21(1):30-33.

- Alsop, D.H., McGeer, L.C., McDonald, D.G., and Wood, C.M., 1999. Cost of Chronic Waterborne Zinc Exposure and the Consequences of Zinc Acclimation on the Gill/Zinc Interactions of Rainbow Trout in Hard and Soft Water. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18(5):1014-1025.
- Altındağ, A., and Yiğit, S., 2005. Assessment of Heavy Metal Concentrations in the Food Web of Lake Beyşehir, Turkey. *Chem.*, 60(4):552-556.
- American Public Health Association (APHA) American Water Work Association (AWWA) Water Pollution Control Federation (WPCF), 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 17th Edition.
- Amundsen, P.A., Staldvik, F.J., Lukin, A.A., Kashulin, N.A., Popova, O.A., and Reshetnikov, Y.S., 1997. Heavy Metal Contamination in Freshwater Fish from the Border Region Between Norway and Russia. *Sci. Total Environ.*, 201(3):211-224.
- Anadon, A., Maria, J.M., and Ortiz, J., 1984. Accumulation of Zn, Pb, Fe, Cu and Cr by Rainbow Trout. *J. Bombay Nat. Hist. Soc.*, 79:225-230.
- Appelbaum, S., and Kamler, E., 2000. Survival, Growth, Metabolism and Behaviour of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) Early Stages Under Different Light Conditions. *Aquacul. Eng.*, 22(4):269-287.
- Arellano, J.M., Storch, V., and Sarasquete, C., 1999. Histological Changes and Copper Accumulation in Liver and Gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 44(1): 62-72.
- Arizono, K., Okanari, E., Ueno, K., and Ariyoshi, T., 1991. Heme Oxygenase Activity and Cytochrome P-450 Content Associated with Induced Metallothionein in the Liver of Rats Treated with Various Metals. *J. Environ. Sci. Health*, 26(6):941-951.
- Asagba, S.O., Eriyamremu, G.E., and Igberaese, M.E., 2008. Bioaccumulation of Cadmium and Its Biochemical Effect on Selected Tissues of the Catfish (*Clarias gariepinus*). *Fish. Physiol. Biochem.*, 34(1):61-69.

- Athikesavan, S., Vincent, S., Ambrose, T., and Velmurugan, B., 2006. Nickel Induced Histopathological Changes in the Different Tissues of Freshwater Fish, *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes). J. Environ. Biol., 37(2):391-395.
- Atkinson, A., Gatemby, A.D., and Lowe, A.G., 1973. The Determination of Inorganic Orthophosphate in Biological Systems. Biochimica et Biophysica Acta, 320(1):195-204.
- Atlı, G., and Canlı, M., 2011. Essential Metal (Cu, Zn) Exposures Alter the Activity of ATPases in Gill, Kidney and Muscle of Tilapia *Oreochromis niloticus*. Ecotoxicol., 20(8):1861-1869.
- Authman, M.M., Zaki, M.S., Khallaf, E.A., and Abbas, H.H., 2015. Use of Fish as Bio-indicator of the Effects of Heavy Metals Pollution. J. Aquat. Res. Dev., 6(4):1-13.
- Ay, Ö., Kalay, M., Tamer, L., and Canlı, M., 1999. Copper and Lead Accumulation in Tissues of A Freshwater Fish *Tilapia zillii* and Its Effects on the Branchial Na, K-ATPase Activity. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 62(2):160-168.
- Babitha, G.S., and Peter, M.S., 2010. Cortisol Promotes and Integrates the Osmotic Competence of the Organs in North African Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell): Evidence from In Vivo and In Situ Approaches. Gen. Comp. Endocrinol., 168(1):14-21
- Babukutty, Y., and Chacko, J., 1995. Chemical Partitioning and Bioavailability of Lead and Nickel in an Estuarine System. Environ. Toxicol. Chem., 14(3):427-434.
- Barnes, R.D., 1987. Invertebrate Zoology, Fifth Edition. Saunders College Publishing. Philadelphia, USA. 893 p.
- Baysoy, E., Atlı, G., and Canlı, M., 2013. The Effects of Salinity and Salinity+Metal (Chromium and Lead) Exposure on ATPase Activity in the

- Gill and Intestine of Tilapia *Oreochromis niloticus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 64(2):291-300.
- Beaumont, M.W., Butler, P.J., and Taylor, E.W., 2000. Exposure of Brown Trout, *Salmo trutta*, to a Sub-lethal Concentration of Copper in Soft Acidic Water: Effects Upon Muscle Metabolism and Membrane Potential. Aquat. Toxicol., 51(2):259-272.
- Bengtsson, B.E., 1974. Vertebral Damage to Minnows *Phoxinus phoxinus* Exposed to Zinc. Oikos, 25:134-139.
- Berntssen, M.H.G., Waagbo, R., Toften, H., and Lundebye, A.K., 2003. Effects of Dietary Cadmium on Calcium Homeostasis, Ca Mobilization and Bone Deformities in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) Parr. Aquacult. Nutr., 9(3):175-183.
- Bianchini, A., and Carvalho de Castilho, P., 1999. Effects of Zinc Exposure on Oxygen Consumption and Gill Na⁺, K⁺ -ATPase of The Estuarine Crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Decapoda- Grapsiadae). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 62(1):63-69.
- Bianchini, A., Playle, R.C., Wood, C.M., and Walsh, P.J., 2005. Mechanism of Acute Silver Toxicity in Marine Invertebrates. Aquat. Toxicol., 72(1):67-82.
- Biesinger, K.E., Christensen, G.M., and Fiandt, J.T., 1986. Effects of Metal Salt Mixtures on *Daphnia magna* Reproduction. Ecotoxicol. Environ. Saf., 11(1):9-14.
- Bitton, G., and Dutka, B.J., 1986. Toxicity Testing Using Microorganisms, Vol 1. CRC Press. Boca Raton, FL. 168 p.
- Birge, W.J., and Black, J.A., 1980. Aquatic toxicology of nickel. Nickel in the Environment. New York. J. Wiley and Sons, 349-366.
- Birge, W.J., Price, D.J., Shaw, J.R., Spromberg, J.A., Wigginton, A.J., and Hogstrand, C., 2000. Metal Body Burden and Biological Sensors as Ecological Indicators. Environ. Toxicol. Chem., 19(4):1199-1212.

- Bjerregaard, P., 1982. Accumulation of Cadmium and Selenium and Their Mutual Interaction in the Shore Crab *Carcinus maenas* (L). *Aquat. Toxicol.*, 2(2):113-125.
- Blanchard, J., and Grosell, M., 2006. Copper Toxicity Across Salinities from Freshwater to Seawater in the Euryhaline Fish *Fundulus heteroclitus*: Is Copper an Ionoregulatory Toxicant in High Salinities?. *Aquat. Toxicol.*, 80(2):131-139.
- Blasco, J., and Puppo, J., 1999. Effect of Heavy Metals (Cu, Cd and Pb) on Aspartate and Alanine Aminotransferase in *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia). *Comp. Biochem. Physiol. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, 122(2):253-263.
- Bluzat, R., and Seuge, J., 1983. Chronic Intoxication by An Herbicide, 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid, in the Pond Snail, *Lymnaea stagnalis* L. *Environ. Res.*, 31(2):440-447.
- Borgmann, U., Kramar, O., and Loveridge, C., 1978. Rates of Mortality, Growth, and Biomass production of *Lymnaea palustris* During Chronic Exposure to Lead. *J. Fish. Res. Board Can.*, 35(8):1109-1115.
- Bowie, G.L., Sanders, J.G., Riedel, G. F., Gilmour, C.C., Breitburg, D.L., Cutter, G.A., and Porcella, D.B., 1996. Assessing Selenium Cycling and Accumulation in Aquatic Ecosystems. In *Clean Water: Factors That Influence Its Availability, Quality and Its Use*, 4:93-104.
- Brix, K.V., Esbaugh, A.J., and Grosell, M., 2011. The Toxicity and Physiological Effects of Copper on the Freshwater Pulmonate Snail, *Lymnaea stagnalis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 154(3):261-267.
- Brix, K.V., Esbaugh, A.J., Munley, K.M., and Grosell, M., 2012. Investigations into The Mechanism of Lead Toxicity to the Freshwater Pulmonate Snail, *Lymnaea stagnalis*. *Aquat. Toxicol.*, 106:147-156.
- Brönmark, C., 1985. Interactions Between Macrophytes, Epiphytes and Herbivores: An Experimental Approach. *Oikos*, 45:26-30.

- Bronzetti, G., and Della Croce, C., 1992. Selenium: Its Important Roles in Life and Contrasting Aspects. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 12(2):59-71.
- Buhl, K.J., and Hamilton, S.J., 1991. Relative Sensitivity of Early Life Stages of Arctic Grayling, Coho Salmon, and Rainbow Trout to Nine Inorganics. *Ecotox. Environ. Saf.*, 22:184-197.
- Burk, R.F., and Hill, K.E., 2009. Selenoprotein P-Expression, Functions, and Roles In Mammals. *Biochim. Biophys. Acta*, 11:1441-1447.
- Canlı, M., 1995. Effects of Mercury, Chromium and Nickel on Some Blood Parameters in the Carp *Cyprinus carpio*. *Turkish J. Zool.*, 19:305-312.
- Canlı, M., 1996. Effect of Mercury, Chromium and Nickel on Glycogen Reserves and Protein Levels in Tissues of *Cyprinus carpio*. *Turk. J. Zool.*, 20:161-168.
- Canlı, M., and Kargin, F., 1995. A Comparative Study on Heavy Metal (Cd, Cr, Pb and Ni) Accumulation in the Tissue of the Carp *Cyprinus carpio* and the Nile Fish *Tilapia nilotica*. *Turk. J. Zool.*, 19:165-171.
- Cao, E., Chen, Y., Cui, Z., and Foster, P.R., 2003. Effect of Freezing and Thawing Rates on Denaturation of Proteins in Aqueous Solutions. *Biotechnol. Bioeng.*, 82(6):684-690.
- Cardeihac, P.T., Simpson, C.F., White, F.H., Thompson, T.N.P., and Carr, W.E., 1981. Evidence of Metal Poisoning in Acute Death of Large Red Drum *Sciaenops ocellata*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 27:639-644.
- Carpene, E., Cattani, O., Serrazanetti, G.P., Fedrizzi, G., and Cortesi, P., 1990. Zinc and Copper in Fish from Natural Waters and Rearing Ponds in Northern Italy. *J. Fish Biol.*, 37:293-299.
- Chan, H.M., and Cherian, M.G., 1992. Protective Roles of MT and Glutathione in Hepatotoxicity of Cadmium. *Toxicol.*, 72:281-290.
- Chesters, J.K., 1991. Trace Element-Gene Interactions with Particular Reference to Zinc. *Proc. Nutr. Sot.*, 50:123-129.

- Chinni, S., and Yallapragada, P.R., 2000. Toxicity of Copper, Cadmium, Zinc and Lead to *Penaeus indicus* Postlarva: Effects of Individual Metals. J. Environ. Biol., 21:255-258.
- Choi, Y.J., Yang, S.G., Jung, M.M., Kim, B.S., Yun, S.G., and Choi, C.Y., 2015. Effects of Waterborne Selenium on Toxic and Physiological Stress Response in Goldfish, *Carassius auratus*. Mol. Cell. Toxicol., 11(1):35-46.
- Cicik, B., 1995. *Cyprinus carpio*'da Bakır, Çinko ve Bakır + Çinko Karışımında Solungaç, Karaciğer ve Kas Dokularındaki Metal Birikiminin Nicel Protein, Glikojen ve Kandaki Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri. Ç.Ü. Fen Bil. Enst.-Doktora Tezi, 107 sayfa.
- Cicik, B., 2003. The Effects of Copper-Zinc Interaction on The Accumulation of Metals in Liver, Gill and Muscle Tissues of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). Ekoloji Çevre Dergisi, 12(48):32-36.
- Cicik, B., and Engin, K., 2005. The Effects of Cadmium on Levels of Glucose in Serum and Glycogen Reserves in the Liver and Muscle Tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758). Turkish J. Vet. Ani. Sci., 29(1):113-117.
- Claiborne, J.B., Edwards, S.L., and Marrison-Shetlar, A.I., 2002. Acide-Base Regulation in Fishes: Cellular and Molecular Mechanisms. J. Exp. Zool., 293:302-319.
- Clearwater, S.J., Farag, A.M., and Meyer, J.S., 2002. Bioavailability and Toxicity of Dietborne Copper and Zinc to Fish. Comp. Biochem. Physiol. Part C; Toxicol. Pharmacol., 132:269-313.
- Cleveland, L., Little, E.E., Buckler, D.R., and Wiedmeyer, R.H., 1993. Toxicity and Bioaccumulation of Waterborne and Dietary Selenium in Juvenile Bluegill (*Lepomis macrochirus*). Aquat. Toxicol., 27(3):265-279.
- Coetzee, L., Du Preez, H.H., and Van Vuren, J.H.J., 2002. Metal Concentrations in *Clarias gariepinus* and *Labeo umbratus* from the Olifants and Klein Olifants River, Mpumalanga, South Africa: Zinc, Copper, Manganese, Lead, Chromium, Nickel, Aluminium and Iron. Water SA., 28:221-226.

- Coeurdassier, M., De Vaufleury, A., and Badot, P.M., 2003. Bioconcentration of Cadmium and Toxic Effect on Life-History Traits of Pond Snails (*Lymnaea stagnalis* and *Lymnaea palustris*) in Laboratory Bioassay. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 45(1):102-109.
- Collvin, L., 1984. Uptake of Copper in the Gills and Liver of Perch, *Perca fluviatilis*. Ecol. Bull., 36:57-61.
- Cooper, C.A., Handy, R.D. and Bury, N.R., 2006. The Effects of Dietary Iron Concentration on Gastrointestinal and Branchial Assimilation of Both Iron and Cadmium in Zebrafish (*Danio rerio*). Aquat. Toxicol., 79:167-175.
- Coughtrey, P.J., and Martin, M.H., 1977. The Uptake of Lead, Zinc, Cadmium, and Copper by the Pulmonate Mollusc, *Helix aspersa* Miiller, and its Relevance to the Monitoring of Heavy Metal Contamination of the Environment. Oecol., 27:65-74.
- Cusimano, R.F., Brakke, D.F., and Chapman, G.A., 1986. Effects of pH on the Toxicities of Cadmium, Copper and Zinc to Steelhead Trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Aquat. Sci., 43:1497-1503.
- Cuvin, M.L.A., and Furness, R.W., 1988. Uptake and Elimination of Inorganic Mercury and Selenium by Minnows *Phoxinus phoxinus*. Aquat. Toxicol., 13(3):205-215.
- Cuvin-Aralar, M.L.A., and Aralar, E.V., 1993. Effects of Long-Term Exposure to A Mixture of Cadmium, Zinc, and Inorganic Mercury on Two Strains of Tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 50(6):891-897.
- Çiftçi, N., Cıçık, B., Erdem, C., Ay, Ö., and Günalp, C., 2010. Accumulation of Chromium in Liver, Gill and Muscle Tissues of *Oreochromis niloticus*. J. Anim.Vet. Adv., 9(14):1958-1960.
- Çiftçi, N., Karaytuğ, S., Karayakar, F., Ay, Ö., Cıçık, B., and Erdem, C., 2012. Accumulation and Effect of Chromium on Protein and Glycogen Levels of *Palaemonetes pugio*. J. Anim.Vet., Adv., 11(1):74-77.

- Çoğun, H.Y., Fırat, Ö., Fırat, Ö., Yüzereroğlu, T.A., Gök, G., Kargın, F. and Kötemen, Y., 2012. Protective Effect of Selenium Against Mercury-Induced Toxicity on Hematological and Biochemical Parameters of *Oreochromis niloticus*. J. Biochem. Mol. Toxicol., 26(3):117-122.
- Daka, E.R., and Hawkins, S.J., 2006. Interactive Effects of Copper, Cadmium and Lead on Zinc Accumulation in the Gastropod Mollusc *Littorina saxatilis*. Water Air and Soil Pollut., 171:19-28.
- Dang, Z., Lock, R.A.C., Flik, G., and Wendelaar Bonga, S., 2000. Na⁺/K⁺-ATPase Immunoreactivity in Branchial Chloride of *Oreochromis mossambicus* Exposed to Copper. J. Exp. Biol., 203:370-387.
- Dave, G., and Xiu, R., 1991. Toxicity of Mercury, Copper, Nickel, Lead and Cobalt to Embryos and Larvae of Zebra Fish, *Brachydanio rerio*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 21:126-134.
- De Conto Cinier, C., Petit Ramel, M., Faure, R., Garin, R., and BOUVET, Y., 1999. Kinetics of Cadmium Accumulation and Elimination in Carp *Cyprinus carpio* Tissues. Comp. Biochem. Physiol., 122(3):345-352.
- De Schamphelaere, K.A., Koene, J.M., Heijerick, D.G., and Janssen, C.R., 2008. Reduction of Growth and Haemolymph Ca Levels in The Freshwater Snail *Lymnaea stagnalis* Chronically Exposed to Cobalt. Ecotoxicol. Environ. Saf., 71(1):65-70.
- DeBoeck, G., Grossel, M., and Wood, C., 2001. Sensitivity of the Spiny Dogfish (*Squalus acanthias*) to Waterborne Silver Exposure. Aquat. Toxicol., 54:261- 275.
- Dethloff, G.M., Bailey, H.C., and Maier, K.J., 1999. Effects of Dissolved Copper on Select Hematological, Biochemical and Immunological Parameters of Wild Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Arch. Environ. Contam. Toxicol., 40:371-380.

- Dhanapakiam, P., and Ramasamy, V.K., 2001. 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.
- Diamond, J.M., Winchester, E.L., Mackler, D.G., Rasnake, W.J., Fanelli, J.K., and Gruber, D., 1992. Toxicity of Cobalt to Freshwater Indicator Species as A Function of Water Hardness. Aquat. Toxicol., 22:163-180.
- Dimari, G.A., Abdulrahman, F.I., Akan, J.C., and Garba, S.T., 2008. Metals Concentrations in Tissues of *Tilapia gallier*, *Clarias lazera* and Osteoglossidae Caught from Alau Dam, Maiduguri, Borno State, Nigeria. Am. J. Environ. Sci., 4(4):373-379.
- Donkin, S.G., Ohlson, D.L., and Teaf, C.M., 2000. Principle of Toxicology, Environmental and Industrial Applications. Second Edition. John Wiley and Sons. Inc, New York. 325 p.
- Douben, P.E.T., 1989. Metabolic Rate and Uptake and Loss of Cadmium from Food by The Fish *Noemacheilus barbatulus* L. (Stone Loach). Environ. Pollut., 59:177-202.
- Dubale, M.S. and Shah, P., 1981. Biochemical Alterations Induced by Cadmium in The Liver of *Channa punctatus*. Environ. Res., 26(1):110-118.
- Eaton, J.G., 1973. Chronic Toxicity of A Copper, Cadmium and Zinc Mixture to the Fathead Minnow (*Pimephales promelas* Rafinesque). Water Res., 7(11):1723-1736.
- Ebanks, S. C., and Grosell, M., 2008. Fluid and Osmolyte Recovery in The Common Pond Snail *Lymnaea stagnalis* Following Full-Body Withdrawal. J. Exp. Biol., 211:327-336.
- Ebanks, S.C., O'Donnell, M.J., and Grosell, M., 2010. Characterization of Mechanisms for Ca^{2+} and $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ Acquisition for Shell Formation in Embryos of the Freshwater Common Pond Snail *Lymnaea stagnalis*. J. Exp. Biol., 213:4092-4098.

- Eisler, R., and Gardner, G.R., 1973. Acute Toxicology to An Estuarine Teleost of Mixtures of Cadmium, Copper and Zinc Salts. J. Fish Biol., 5(2):131-142.
- Eisler, R., 1998. Nickel Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. US Geological Survey, Biological Resources Division, Biological Science Report USGS/BRD/BSR-1998-2001. 76 p.
- El-Saieed, M.E., and Mekawy, M.M., 2001. Nickel Toxicity in *Oreochromis niloticus*. Fish J. Egypt Soc. Toxicol., 24:47-54.
- Erdem, C., and Kargin, F., 1990. Accumulation of copper in different tissues and organs of *Tilapia nilotica* (L.). Doğa, Türk Zooloji Dergisi, 14(2):173-178.
- Erdem, C., 1991. Cadmium Accumulation in Liver, Spleen, Gill and Muscle Tissues of *Tilapia nilotica* (L.). Biyokimya Dergisi, 15(3):13-22.
- Erdem, C., and Kargin, F., 1992. A Comparative Study on the Accumulation of Copper in Liver, Spleen, Stomach, Intestine, Gill and Muscle Tissues of *Cyprinus carpio* and *Tilapia nilotica*. Biyokimya Dergisi, 17(1):13-27.
- Erdem, C., Ciciik, B., Karayakar, S., Karayakar, F., and Karaytuğ, S., 2005. *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)'da Kadmiyum'un Solungaç, Karaciğer, Böbrek, Dalak ve Kas Dokularındaki Birikim ve Arıtımı. SDÜ Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 1(2):17-24.
- Eroğlu, A., and Canlı, M., 2013. Effects of Cd, Zn and Cd + Zn Combination on ATPase Activitiy in the Gill and Muscle of *Tilapia (Oreochromis niloticus)*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 91:420-425.
- Evans, D.H., 1987. The Fish Gill: Site of Action and Model for Toxic Effects of Environmental Pollutants. Environ. Health Persp., 71:47-58.
- Farkas, A., Salank, I.J., and Speziar, A., 2002. Relation Between Growth and the Heavy Metal Concentration in Organs of Bream, *Abramis brama* L. Populating Lake Balaton. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 43:236-243.
- Fatoki, O.S., and Mathabatha, S., 2001. An Assessment of Heavy Metal Pollution in the East London and Port Elizabeth Harbors. Water SA., 27: 233-236.

- Fernando, R., Salibian, A., and Ferrari, L., 2007. Assessment of The Pollution Impact on Biomarkers of Effect of A Freshwater Fish. *Chem.*, 68(8):1582-1590.
- Filenko, O.F., Xihua, D., Xulong, C., and Yuqi, Z., 1989. Distribution of Mercury in the Tissues of Carp Its Biological Effects. *Hydrobiol.*, 24:64-68.
- Finlayson, B.J., and Verrue, K.M., 1982. Toxicities of Copper, Zinc, and Cadmium Mixtures to Juvenile Chinook Salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 111(5):645-650.
- Fleet, J.C., Golemboski, K.A., Dietert, R.R., Andrews, G.K., and McCormick, C.C., 1990. Induction of Hepatic Metallothionein by Intraperitoneal Metal Injection: An Associated Inflammatory Response, *Am. J. Physiol. Soc.*, 258:926-933.
- Fletcher, G.G., Rossetto, F.E., Turnbull, J.D., and Nieboer, E., 1994. Toxicity, Uptake and Mutagenicity of Particulate and Soluble Nickel Compounds, *Environ. Health Perspec.*, 102(3):69-79.
- Folounsho, B., and Oronsaye, J.A.O., 1990. The Toxicity of Cadmium to *Clarias angularias* In Soft Water. *Nigerian J. Appl. Sci.*, 8:85-92.
- Förstner, U., and Wittmann, G.T., 1981. Metal Pollution in the Aquatic Environment. Berlin Heidelberg, Newyork Springer Verlag, 3(21):271-318.
- Freyhof, J., FishBase Team RMCA, and Geelhand, D., 2016. *Clarias gariepinus*. The IUCN Red List of Threatened Species, 1-8.
- Galvin, R.M., 1996. Occurrence of Metals in Water. *Water S.A.*, 22:7-18.
- Garcia-Santos, S., Fontainhas-Fernandes, A., and Wilson, J.M., 2006. Cadmium Tolerance in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Following Acute Exposure: Assessment of Some Ionoregulatory Parameters. *Environ.Toxicol.*, 21:33-46.

- Garg, S., Gupta, R.K., and Jain, K.L., 2009. Sublethal Effects of Heavy Metals on Biochemical Composition and Their Recovery in Indian Major Carps. J. Hazard. Mater., 163:1369-1384.
- Gatlin, D.M., and Wilson, R.P., 1983. Dietary Zinc Requirement of Fingerling Channel Catfish. J. Nutr., 113:630-635.
- Geldiay, R., and Balık, S., 1998. Türkiye'nin Tatlısu Balıkları. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, No: 37. İzmir. 532 p.
- Geraerts, W.P.M., and Bohlken, S., 1976. The Control of Ovulation in The Hermaphroditic Freshwater Snail *Lymnaea stagnalis* by the Neurohormone of the Caudo-Dorsal Cells. Gen. Comp. Endocrinol., 28:350-357.
- Gibson, R.N., 1994. Impact of Habitat Quality and Quantity on the Recruitment of Juvenile Flatfishes. Netherlands. J. Sea Res., 32:191-206.
- Gill, T.S., Bianchi, C.P., and Eppler, A., 1992. Trace Metal (Cu and Zn) Adaptation of Organ Systems of the American Eel *Anguilla rostrata* to External Concentrations of Cadmium. Comp. Biochem. Phys., 102:361-371.
- Glyn, A.W., 2001. The influence of Zinc on Apical Uptake of Cadmium in the Gills and Cadmium Influx to the Circulatory System in Zebrafish (*Danio rerio*). Comp. Biochem. Physiol., 128C:165-172.
- Gomot, A., 1997. Effects of Heavy Metals on The Development of Snails: Heavy Metal Pollution Bioindicators for Human Health. Bull. Acad. Natle Med., 181:59-75.
- Gomot, A., 1998. Toxic Effects of Cadmium on Reproduction, Development, and Hatching in the Freshwater Snail *Lymnaea stagnalis* for Water Quality Monitoring. Ecotoxicol. Environ. Saf., 41(3):288-297.
- Goyer, R.A., 1991. Toxic Effects of Metals in Casarett and Doull's Toxicology: Basic Science of Poisons. Fourth Edition. Pergamon Press. Oxford. 1033 p.
- Grosell, M., Brauner, C.J., Kelly, S.P., McGeer, J.C., Bianchini, A., and Wood, C.M., 2002. Physiological Responses to Acute Silver Exposure in The

- Freshwater Crayfish (*Cambarus diogenes diogenes*)- A Model Invertebrate? Environ. Toxicol. Chem., 21(2):369-374.
- Grosell, M., and Brix, K.V., 2004. Why Are Freshwater Pulmonate Snails So Sensitive to Chronic Metal Exposure?. SETAC Globe, 5:43-45.
- Grosell, M., and Brix, K.V., 2009. High Net Calcium Uptake Explains The Hypersensitivity of The Freshwater Pulmonate Snail, *Lymnaea stagnalis*, to Chronic Lead Exposure. Aquat. Toxicol., 91:302-311.
- Grosell, M., Gerdes, R.M., and Brix, K.V., 2006. Chronic Toxicity of Lead to Three Freshwater Invertebrates-*Brachionus calyciflorus*, *Chironomus tentans*, and *Lymnaea stagnalis*. Environ. Toxicol. Chem., 25:97-104.
- Grosell, M., Hogstrand, C., and Wood, C.M., 1998. Renal Cu and Na Excretion and Hepatic Cu Metabolism in Both Cu-Acclimated and Non-Acclimated Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquat. Toxicol., 40:275-291.
- Grosell, M., McDonald, M.D., Walsh, P.J., and Wood, C.M., 2004. Effects of Prolonged Copper Exposure in the Marine Gulf Toad Fish (*Opsanus beta*) II: Copper Accumulation, Drinking Rate and Na⁺-K⁺ ATPase Activity in Osmoregulatory Tissues. Aquat. Toxicol., 68:263-275.
- Hamilton, S.J., Buhl, K.J., Faerber, N.L., Wiedmeyer, R.H., and Bullard, F.A., 1990. Toxicity of Organic Selenium in the Diet of Chinook Salmon. Environ. Toxicol. Chem., 9:347-358.
- Hamilton, S.J., Palmisano, A.N., Wedmeyer, G.A., and Yasutake, W.T., 1986. Impacts of Selenium on Early Life Stages and Smoltification of Fall Chinook Salmon. Trans. N. Am. Wildl. Nat. Res. Conf., 51:343-356.
- Handy, R.D., 1992. The Assessment of Episodic Metal Pollution I. Uses and Limitations of Tissue Contaminant Analysis in Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) after Short Waterborne Exposure to Cadmium or Copper. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 22:74-81.

- Handy, R.D., 2003. Chronic Effects of Copper Exposure Versus Endocrine Toxicity : Two Sides of the Same Toxicological Process. *Comp. Biochem. Physiol.*, (135):25-38.
- Hardersen, S., and Wratten, S.D., 1998. The Effects of Carbaryl Exposure of the Penultimate Larval Instars of Larval *Xathocnemis zealandica* on Emergence and Fluctuating Asymmetry. *Ecotox.*, 7:297-304.
- Hartwell, S.I., Jin, J.H., Cherry, D.S., and Cairns, J., 1989. Toxicity Versus Avoidance Response of Golden Shiner, *Notemigonus crysoleucas*, to Five Metals. *J. Fish Biol.*, 35(3):447-456.
- Heath, A.G., 1995. Water Pollution and Fish Physiology, 2nd Edition, CRC press, New York, USA, 359 p.
- Hemelraad, J., Kleinveld, H.A., De Ross, A.M., Holwerda, D.A., and Zandee, D.I., 1987. Cadmium Kinetics in Freshwater Clams. III. Effects of Zinc on Uptake and Distribution of Cadmium in *Anadonta cygnea*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 16:95-101.
- Hilmy, A.M., Abd El-Hamid, N.F., and Ghazaly, K.S., 1988. Variation of Zinc and Copper Levels with Sex and Size in Different Tissues of the Crab *Portunus pelagicus* (Linnaeus). *Folia Morphol.*, 2:160-166.
- Hilmy, A.M., El Domiaty, N.A., Daabess, A.Y., and Abdel Latife, H.A., 1987. Some Physiological and Biochemical Indices of Zinc Toxicity in Two Freshwater Fishes, *Clarias lazera* and *Tilapia zilli*. *Comp. Biochem. Physiol. Comp. Pharmacol.*, 87C(2):297-301.
- Hilmy, A.M., El Domiaty, N.A., Daabees, A.Y., and Moussa, F.I., 1987. Short-Term Effects of Mercury on Survival, Behaviour, Bioaccumulation and Ionic Pattern in The Catfish (*Clarias lazera*). *Comp. Bioch. Physiol. Comp. Pharmacol.*, 87C(2):303-308.
- Hilmy, A.M., Shabana, M.B., and Daabees, A.Y., 1985. Bioaccumulation of Cadmium Toxicity in *Mugil cephalus*, *Comp. Biochem. Physiol. C.*, 81(1):139-143.

- Hilton, J.W., Hodson, P.V., and Slinger, S.J., 1980. The Requirement and Toxicity of Selenium in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). J. Nutr., 110:2527-2535.
- Hinton, D.E., Lauren, D.J., Holliday, T.L., and Giam, C.S., 1988. Liver Structural Alterations Accompanying Chronic Toxicity in Fishes: Potential Biomarkers of Exposure. In Preprints of Papers Presented at National Meeting, Division of Water, Air and Waste Chemistry, American Chemical Society. Vol: 28, No: CONF-8909236.
- Hinton, D.E., and Lauren, D.J., 1990. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes. In: American Fisheries Society Symposium, 8:51-66.
- Hodson, P.V., and Hilton, J.W., 1983. The Nutritional Requirements and Toxicity to Fish of Dietary and Waterborne Selenium. Environ. Biochem. Ecol. Bull., 35:335-340.
- Hodson, P.V., Spry, D.J., and Blunt, B.R., 1980. Effects on Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) of a Chronic Exposure to Waterborne Selenium. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 37:233-240.
- Hogstrand, C., Verboost, P.M., Bonga, S.E., and Wood, C.M., 1996. Mechanisms of Zinc Uptake in Gills of Freshwater Rainbow Trout: Interplay with Calcium Transport. Am. J. Physiol. Reg. I., 270(5):1141-1147.
- Hogstrand, C., and Wood, C.M., 1998. Toward a Better Understanding of the Bioavailability, Physiology, and Toxicity of Silver in Fish: Implications for water Quality Criteria. Environ. Toxicol. Chem., 17:547-561.
- Hollis, L., McGeer, J.C., McDonald, D.G., and Wood, C.M., 1999. Cadmium Accumulation, Gill Cd Binding, Acclimation and Physiological Effects during Long Term Sublethal Cd Exposure in Rainbow Trout. Aquat.Toxicol., 46:101-119.
- Hoyle, I., Shaw, B.J., and Handy, R.D., 2007. Dietary Copper Exposure in The African Walking Catfish, *Clarias gariepinus*: Transient Osmoregulatory Disturbances and Oxidative Stress. Aquat. Toxicol., 83:62-72.

- Hunn, J.B., Hamilton, S.J., and Buckler, D.R., 1987. Toxicity of Sodium Selenite to Rainbow Trout Fry. *Water. Res.*, 21(2):233-238
- James, R., and Sampath, K., 1995. 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.
- Jana, S., and Sahana, S.S., 1987. Effects of Copper, Cadmium and Chromium Cations on The Freshwater Fish *Clarias batrachus* L. *Physiol. Bohemoslov.*, 37(1):79-82.
- Javed, M., 2003. Relationship among Water, Sediments and Plankton for the Uptake and Accumulation of Heavy Metals in the River Ravi. *Indus J. P. Sci.*, 2(4):326-331.
- Javed, M., 2013. Chronic Effects of Nickel and Cobalt on Fish Growth. *Int. J. Agr. Biol.*, 15(3).
- Jayakumar, P., and Paul, V., 2006. Patterns of Cadmium Accumulation in Selected Tissues of The Catfish *Clarias batrachus* (Linn.) Exposed to Sublethal Concentration of Cadmium Chloride. *Veterinarski Arhiv.*, 76(2):167-177.
- Jezierska, B., and Witeska, M., 2006. The Metal Uptake and Accumulation in Fish Living in Polluted Waters. *Soil Water Pollut. Monit. Protect. Reme.*, 3(23):107-114.
- Johnson, I., 1988. The Effects of Combinations of Heavy Metals, Hypoxia and Salinity on Ion Regulation in *Crangon crangon* (L.) and *Carcinus maenas* (L.). *Comp. Biochem. Physiol. Comp. Pharmacol.*, 91(C):459-463.
- Jorgensen, D., and Heisinger, J.F., 1987. The Effects of Selenium on The Distribution of Mercury in The Organs of The Black Bullhead (*Ictalurus melas*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 87C(1):181-186.
- Kagi, J.H.R., and Vallee, B.L., 1961. Metallothionein: A Cadmium and Zinc-Containing Protein from Equine Renal Cortex. *J. Biol. Chem.*, 236:2435-2442.

- Kalay, M., ve Erdem, C., 1995. Bakırın *Tilapia nilotica* (L.)’da Karaciğer, Böbrek, Solungaç, Kas, Beyin ve Kan Dokularındaki Birikimi ile bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkileri. Tr. J. Zool., 19:27-33.
- Kalay, M., Erdem, C., 2003. *Tilapia nilotica*’da Kadmiyum Birikiminin Total Protein Düzeyine Etkisi. Turkish J. Vet. Anim. Sci., 27:1367-1374.
- Kalay, M., ve Karataş, S., 1999. Kadmiyumun *Tilapia nilotica* (L.)’da Kas, Beyin ve Kemik (Omurga Kemiği) Dokularındaki Birikimi. Tr. J. Zool., 23(3):985-991.
- Kamunde, C., and Wood, C.M., 2003. The Influence of Ration Size on Copper Homeostasis during Sublethal Dietary Copper Exposure in Juvenile Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquat. Toxicol., 62:235-254.
- Kamunde, C., and Macphail, R., 2011. Metal-Metal Interactions of Dietary Cadmium, Copper and Zinc in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. Ecotoxicol. Environ. Saf., 74(4):658-667.
- Karataş, S., Erdem, C., and Cicik, B., 2005. Kadmiyumun *Cyprinus carpio* (L.1758)’da Serum Aspartat Aminotransferaz, Alanin Aminotransferaz ve Serum Glukoz Düzeyi Üzerine Etkileri. Ekoloji, 14(55):18-23.
- Karaytuğ, S., Erdem, C., and Cicik, B., 2007. Accumulation of Cadmium in Gill, Liver, Kidney, Spleen, Muscle and Brain Tissues of *Cyprinus carpio* (L.1758). Ekoloji Dergisi, 16(63):16-22.
- Kargın, F., ve Erdem, C., 1989. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *T. nilotica*’da Birikimi ve Mortalite Üzerine Etkileri. ÇÜ Fen Bil. Ens., Fen ve Müh. Bil. Derg., 3(2): 53-66.
- Kargın, F., and Erdem, C., 1991. Accumulation of Copper in Liver, Spleen, Stomach, Intestine, Gill and Muscle Tissues of *Cyprinus carpio*. Doğa Tr. J. Zool., 15:306-314.
- Kargın, F., and Erdem, C., 1992. Effects of Interaction on the Accumulation of Copper and Zinc in the Liver, Gill and Muscle Tissues of *Tilapia nilotica*. Doğa-Tr. J. Zool., 16:343-348.

- Kargin, F., 1996. Elimination of Cadmium from Cd-Contaminated *Tilapia zilli* in Media Containing EDTA and Freshwater: Changes in Protein Levels. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 57:211-216.
- Kasprzak, K.S., Kovatch, R. M., and Poirier, L.A., 1988. Inhibitory of Zinc on Nickel Subsulfide Carcinogenesis in Fisher Rats. Toxicol., 52:253- 262.
- Kennedy, C.J., McDonald, L.E., Loveridge, R., and Strosher, M.M., 2000. The Effect of Bioaccumulated Selenium on Mortalities and Deformities in the Eggs, Larvae, and Fry of a Wild Population of Cutthroat Trout (*Oncorhynchus clarki lewisi*). Arch. Environ. Contam. Toxicol., 39:46-52.
- Khandelwal, S., Kachru, D.N., and Tandon, S.K., 1989. Influence of Diethyldithiocarbamate on Nickel-Induced Hepatic Metallothionein in Rats. Toxicol. Ind. Health 5(3):405-413.
- Khengarot, B.S., 1981. Toxicity of Interactions of Zinc-Nickel, Copper-Nickel and Zinc-Nickel-Copper to a Freshwater Teleost, *Lebistes reticulatus* (Peters) 1. Acta Hydroch. Hydrob., 9(5):495-503.
- Khengarot, B.S., and Das, S., 2010. Effects of Copper on The Egg Development and Hatching of A Freshwater Pulmonate Snail *Lymnaea luteola* L. J. Hazard. Mater., 179(1):665-675.
- Khengarot, B.S., and Ray, P.K., 1988. Sensitivity of Freshwater Pulmonate Snails, *Lymnaea luteola* L., to Heavy Metals. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 41:208-213.
- Khengarot, B.S., and Ray, P.K. 1990. Correlation Between Heavy Metal Acute Toxicity Values in *Daphnia magna* and Fish. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 38:722-726.
- Khunyakari, R.P., Tare, V., and Sharma, R.N., 2001. Effects of Some Trace Heavy Metals on *Poecilia reticulata* (Peters). J. Environ. Biol., 22(2):141-144.
- Kim, J.H., Birks, E., and Heisinger, J.F., 1977. Protective Action of Selenium Against Mercury in Northern Creek Chubs., Bull. Environ. Contam. Toxicol. 17(2):132-136.

- Kim, J.H., and Kang, J.C., 2014. The Selenium Accumulation and Its Effect on Growth, and Haematological Parameters in Red Sea Bream, *Pagrus major*, Exposed to Waterborne Selenium. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 104:96-102.
- Kito, H., Ose, Y., and Sato, T., 1986. Cadmium-Binding Protein (Metallothionein) in Carp *Environ. Health Perspect.*, 65:117-124.
- Klaverkamp, J.F., Hodgins, D.A., and Lutz, A., 1983. Selenite Toxicity and Mercury-Selenium Interactions in Juvenile Fish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 12:405-413.
- Klaverkamp, J.F., Macdonald, W.A., Lillie, W.R., and Lutz, A., 1983. Joint Toxicity of Mercury and Selenium in Salmonid Eggs. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 12:415-419.
- Koivisto, S., and Ketola, M., 1995. Effects of Copper on Life-History Traits of *Daphnia pulex* and *Bosmina longirostris*. *Aquat. Toxicol.*, 32(2):255-269.
- Kori-Siakpere, O., 1995. Some Alterations in Haematological Parameters in *Clarias isheriensis* (Sydenham) Exposed to Sublethal Concentration of Water-Born Lead. *Biosci. Res. Comm.*, 8(2):93-98.
- Kori-Siakpere, O., and Ubogu, E.O., 2008. Sublethal Haematological Effects of Zinc on the Freshwater fish, *Heteroclarias sp.* (Osteichthyes: Clariidae). *Afr. J. Biotechnol.*, 7(12):2068-2073.
- Köksoy, A.A., 2002. Na⁺, K⁺-ATPase: A Review. *J. Ankara Med. Sch.*, 24:73-82.
- Kszos, L.A., Stawart, A.J., and Taylor, P.A., 1992. An Evaluation of Nickel Toxicity to *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia magna* in a Contaminated Stream and in Laboratory Tests. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11(7):1001-1012.
- Kuhnert, P.M., and Kuhnert, B.R., 1976. 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.

- Kulaç, B., Atlı, G., and Canlı, M., 2013. Response of ATPases in the Osmoregulatory Tissues of Freshwater Fish *Oreochromis niloticus* Exposed to Copper in Increased Salinity. *Fish. Physiol. Biochem.*, 39:391-401.
- Larsson, A., Haux, C., and Sjöbeck, M., 1985. Fish Physiology and Metal Pollution: Results and Experiences from Laboratory and Field Studies, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 9:250-281.
- Lauren, D.J., and McDonald, D.G., 1987. Acclimation to Copper by Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*: Biochemistry. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44: 105-111.
- Lebar, M.D., Luttenton, L., McClintock, J.B., and Amsler, C.D. and Baker, B.J., 2011. Accumulation of Vanadium, Manganese, and Nickel in Antarctic Tunicates. *Polar Biol.*, 34(4):587-590.
- Lemly, A.D., 1982. Response of Juvenile Centrarchids to Sublethal Concentrations of Waterborne Selenium. I. Uptake, Tissue Distribution, and Retention. *Aquat. Toxicol.*, 2(4):235-252.
- _____, 1993. Guidelines for Evaluating Selenium Data from Aquatic Monitoring and Assessment Studies. *Environ. Monit. Asses.*, 28:83-100.
- _____, 1993. Teratogenic Effects of Selenium in Natural Populations of Freshwater Fish. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 26:181-204.
- _____, 2002. Symptoms and Implications of Selenium Toxicity in Fish: the Belews Lake Case Example. *Aquat. Toxicol.*, 57:39-49.
- Lemus, M.J., and Chung, K.S., 1999. Effect of Temperature on Copper Toxicity, Accumulation and Purification in Tropical Fish Juveniles *Petenia kraussii*. *Caribbean J. Sci.*, 35:64-69.
- Levesque, H.M.T.W., Moon, P.G.C., Campbell, G.C., and Hontela, A., 2002. Seasonal Variation in Carbohydrate and Lipid Metabolism of Yellow Perch (*Perca fluviatilis*) Chronically Exposed to Metals in the Field., *Aquat. Toxicol.*, 60:257-267.

- Lionetto, M.G., Giordano, M.E., Vilella, M.E., and Schettino, T., 2000. Inhibition of Eel Enzymatic Activities by Cadmium. *Aquat. Toxicol.*, 48:561-571.
- Lodge, D.M., Brown, K.M., Klosiewski, S.P., Stein, R.A., Covich, A.P., Leathers, B.K., and Bronnmark, C., 1986. Distribution of Freshwater Snails: Spatial Scale and the Relative Importance of Physicochemical and Biotic Factors. *Am. Malac. Bull.*, 5:73-84.
- Lohner, T.W., Reash, R.J., and Williams, M., 2001. Assessment of Tolerant Sunfish Populations (*Lepomis sp.*) Inhabiting Selenium-Laden Coal Ash Effluents: 2. Tissue Biochemistry Evaluation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 50:217-224.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farra, N.J., and Randall, R.J., 1951. Protein Measurements with The Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.*, 193:265-275.
- Macek, K.J., and Sleight, B.H., 1977. Utility of Toxicity Tests with Embryos and Fry of Fish in Evaluating Hazards Associated with the Chronic Toxicity of Chemicals to Fishes. In *Aquatic Toxicological Hazard Evaluation: American Society of Testing and Materials (ASTM) International*. 634:137-146.
- Marshall, W.S., 2002. Na^+ , Cl^- , Ca^{+2} and Zn^{+2} Transport by Fish Gills: Retrospective Review and Prospective Synthesis. *J. Exp. Zool.*, 293:264-283.
- Martinez, C.B.R., Nagae, M.Y., Zaia, C.T.B.V., and Zaia, D.A.M., 2004. Acute Morphological and Physiological Effects of Lead in the Neotropical Fish *Prochilodus lineatus*. *Brazil. J. Biol.* 64(4):797-807.
- Mason, A.Z., and Jenkins, K.D., 1995. Metal Detoxification in Aquatic Organisms. In: Tessier, A., Turner, D.T. (Eds.), *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. Wiley, Toronto, 10:479-608.

- McDonald, D.G., and Wood, C.M., 1993. Branchial Mechanisms of Acclimation to Metals in Freshwater Fish. In Fish Ecophysiol. Springer Netherlands. 297-321 p.
- McGeer, J.C., Szebedinszky, C., McDonald, D.G., and Wood, C.M., 2000. Effects of Chronic Sublethal Exposure to Waterborne Cu, Cd or Zn in Rainbow Trout. 1: Ion- Regulatory Disturbance and Metabolic Costs. Aquat. Toxicol., 50:231-243.
- McGeer, J. C., Szebedinszky, C., McDonald, D.G., and Wood, C.M., 2000. Effects of Chronic Sublethal Exposure to Waterborne Cu, Cd or Zn in Rainbow Trout 2: Tissue Specific Metal Accumulation. Aquat. Toxicol., 50(3):245-256.
- McGeer, J.C., and Wood, C.M., 1998. Protective Effects of Water Cl⁻ on Physiological Responses to Waterborne Silver in Rainbow Trout. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 55(11):2447-2454.
- McKim, J.M., 1977. Evaluation of Tests With Early Life Stages of Fish for Predicting Long-Term Toxicity. J. Fish. Res. Board Can., 34:1148-1154.
- Mehta, R., Templeton, D.M., and Obrien, P.J., 2006. Mitochondrial Involvement in Genetically Determined Transition Metal Toxicity. II. Copper toxicity, Chem. Biol. Interact., 163:77-85.
- Meinelt, T., Playle, R.C., Pietrock, M., Burnison, B.K., Wienke, A., and Steinberg, C.E.W., 2001. Interacion of Cadmium Toxicity in Embryos and Larvae of Zebrafish (*Danio rerio*) with Calcium and Humic Substances, Aquat. Toxicol., 54:205-15.
- Miller, L.L., Wang, F., Palace, V.P., and Hontela, A., 2007. Effects of Acute and Subchronic Exposure to Waterborne Selenite on the Physiological Stress Response and Oxidative Stress Indicators in Juvenile Rainbow Trout. Aquat. Toxicol., 83:263-271.
- Misra, S., Peak, D., Chen, N., Hamilton, C., and Niyogi, S., 2012. Tissue-Specific Accumulation and Speciation of Selenium In Rainbow Trout

- (*Oncorhynchus mykiss*) Exposed to Elevated Dietary Selenomethionine. Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol., 155(4):560-565.
- Moller, V., Forbes, V.E., and Depledge, M.H., 1994. Influence of Acclimation and Exposure Temperature on the Acute Toxicity of Cadmium to the Freshwater Snail *Potamopyrgus antipodarum* (Hydrobiidae). Environ. Toxicol. Chem., 13:1519-1524.
- Monserrat, J.M., Martinez, P.E., Geracitano, L.A., Amado, L.L., Martins, C.M.G., Pinho, G.L.L., Chaves, I.S.C., Ferreiracravo, M., Ventura-Lima, J., and Bianchini, A., 2007. Pollution Biomarkers in Estuarine Animals: Critical Review and New Perspectives. Comp. Biochem. Physiol., 146C:221-234.
- Monteiro, S.M., Mancera, J.M., Fontainhas-Fernandes, A., and SOUSA, M., 2005. Copper Induced Alterations of Biochemical Parameters in the Gill and Plasma of *Oreochromis niloticus*. Comp. Biochem. Physiol. 141(C):375-383.
- Munley, K.M., Brix, K.V., Panlilio, J., Deforest, D.K., and Grosell, M., 2013. Growth Inhibition in Early Life-stage Tests Predicts Full Life-cycle Toxicity Effects of Lead in the Freshwater Pulmonate Snail, *Lymnaea stagnalis*. Aquat. Toxicol., 128(129):60-66.
- Muramoto, S., 1983. Elimination of Copper from Cu- Contaminated Fish by Long-Term Exposure to EDTA and Freshwater. J. Environ. Sci. Health, A18(3):455-461.
- Murugan, S.S., Karuppasamy, R., Poongodi, K. and Puvaneswari, S., 2008. Bioaccumulation Pattern of Zinc in Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch) after Chronic Exposure. Turkish J. Fish. Aquat Sci., 8(1):55-59.
- Muscatello, J.R., Bennett, P.M., Himbeault, K.T., Belknap, A.M., and Janz, D.M., 2006. Larval Deformities Associated with Selenium Accumulation in Northern Pike (*Esox lucius*) Exposed to Metal Mining Effluent. Environ. Sci. Technol., 40(20):6506- 6512.

- Nath, K., and Kumar, N., 1988. Hexavalent Chromium: Toxicity and Its Impact on Certain Aspects of Carbohydrate Metabolism of the Freshwater Teleost, *Colisa fasciatus*. *Sci. Total Environ.*, 72:175-181.
- Nation, J.R., Hare, M.F., Baker, D.M., Clark, D.E., and Bourgeois, A.E., 1985. Dietary Administration of Nickel: Effects on Behavior and Metallothionein Levels. *Physiol. Behav.*, 34:349-353.
- Nelson, D.L. and Cox, M., 2008. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Fifth Edition. Worth Publication. New York. 1100 p.
- Nielsen, G., and Bjerregaard, P., 1991. Interaction Between Accumulation of Cadmium and Selenium in the Tissues of Turbot *Scophthalmus maximus*. *Aquat. Toxicol.*, 20:253-266.
- Nielsen, J.B., and Andersen, O., 1996. Elimination of Recently Absorbed Methyl mercury Depends on Age and Gender. *Pharmacol. Toxicol.*, 79:60-64.
- Nsofor, C.I., Ufodike, E.B.C., and Onuoha, S.O., 2007. The Bio Accumulation of Some Heavy Metals In Some Organs of Two Commerical Fish; *Clarias gariepinus* (Burchell) and *Chrysichthys nigrodigitatus* (Lacepede) From River Niger, Onitsha shelf, Anambra State, Nigeria. *J. Aquat. Sci.*, 22(1):33-38.
- Nussey, G., Van Vuren, J.H.J., and Du Preez, H.H., 1995. Effect of Copper on the Haematology and Osmoregulation of the Mozambique Tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). *Comp. Biochem. Physiol. Pahmacol. Toxicol. Endocrinol.*, 111C(3):369-380.
- Nussey, G., 1998. *Metal Ecotoxicology of the Upper Olifants River at Selected Localities and the Effect of Copper and Zinc on Fish Blood Physiology*. Rand Afrikaans University-PhD Thesis 158 pages.
- Ohlendorf, H.M., Kilness, A.W., Simmons, J.L., Stroud, R.K., Hoffman, D.J., and Moore, J. F. (1988). Selenium toxicosis in wild aquatic birds. *J. Toxicol. Environ. Health*, 24(1):67-92.

- Ololade, I.A., and Oginni, O., 2009. Behavioural and Hematological Effects of Zinc on African Catfish, *Clarias gariepinus*. Int. J. Fish. Aquacult., 1(2):22-27.
- Ololade, I.A., and Oginni, O., 2010. Toxic Stress and Hematological Effects of Nickel on African Catfish, *Clarias gariepinus*, Fingerlings. J. Environ. Chem. Ecotoxicol., 2(2):14-19.
- Olsson, P.E., Kling, P., and Hogstrand, C., 1998. Mechanisms of Heavy Metal Accumulation and Toxicity in Fish. In: Langston, W.J., Bebianno, M.J. (Eds.), Metal Metabolism in Aquatic Environments. Chapman and Hall, London, 10:321-350.
- Olsvik, P.A., Gundersen, P., Andersen, R.A., and Zachariassen, K.E., 2001. Metal Accumulation and MT in Brown Trout *Salmo trutta*, from Two Norwegian Rivers Differently Contaminated with Cd, Cu and Zn. Comp. Biochem. Physiol., 128:381-385.
- Öner, M., Atlı, G., and Canlı, M., 2008. Changes in Serum Biochemical Parameters of Freshwater Fish *Oreochromis niloticus* Following Prolonged Metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) Exposures. Environ. Toxicol. Chem., 27:360-366.
- Pagenkopf, G.K., 1983. Gill Surface Interaction Model for Trace Element Toxicity to Fishes: Role of Complexation, pH and Water Hardness. Environ. Sci. Technol., 7(6):342-347.
- Patra, M., Bhowmik, N., and Bandopadhyay, A., 2004. Comparison of Mercury, Lead and Arsenic with Respect to Genotoxic Effects on Plant Systems and the Development of Genetic Tolerance. Environ. Experimental Botany., 52:199-223.
- Pelgrom, S.M.G.J., Lock, R.A.C., Balm, P.H.M., and Wendelaar Bonga, S.E., 1995. Integrated Physiological Response of Tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to Sublethal Copper Exposure. Aquat. Toxicol., 32: 303-320.
- Perkins, E.J., Griffin, B., Hobbs, M., Gollon, J., Wolford, L., and Schlenk, D., 1997. Sexual Differences in Mortality and Sublethal Stress in Channel

- Catfish Following a 10 Week Exposure to Copper Sulphate. *Aquat. Toxicol.*, 37:327-339.
- Phillips, B.M., Nicely, P.A., Hunt, J.W., Anderson, B.S., Tjeerdema, R.S., Palmer, S.E., and Puckett, H.M., 2003. Toxicity of Cadmium-Copper-Nickel-Zinc Mixtures to Larval Purple Sea Urchins (*Strongylocentrotus purpuratus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 70(3):592-599.
- Ptashynski, M.D., and Klaverkamp, J.F., 2002. Accumulation and Distribution of Dietary Nickel in Lake Whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Aquat. Toxicol.*, 58(3):249-264.
- Pyle, G.G., 2000. Metallothionein Induction in Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Exposed to Nickel or Molybdenum. University of Saskatchewan- Chapter 6, PhD thesis 273 p.
- Radhakrishnaiah, K., Venkataramana, P., Suresh, A., and Sivaramakrishna, B., 1992. Effects of Lethal and Sublethal Concentrations of Copper on Glycolysis in Liver and Muscle of the Freshwater Teleost *Labeo rohita*. *J. Environ. Biol.*, 13:63-68.
- Rajkumar, R., and Das, S.S.M., 1991. Effect of Copper Intoxication on Muscle Glycogen Levels in *Oreochromis mossambicu*. *Environ. Ecol.*, 9:1-3.
- Ramamoorthy, S., and Blumhagen, K., 1984. Uptake of Zn, Cd and Hg by Fish in the Presence of Competing Compartments. *Can. J. Fish. Aqua. Sci.*, 41:750-756.
- Rao, Y.P., Devi, V.U., and Rao, D.G.V.P., 1988. Influence of Temperature on Copper Accumulation and Depuration in A Tropical Cerithiid Cerithidea (*Cerithideopsis cingulata* (Gmelin 1790). *Water Air Soil Pollut.*, 37:365-374.
- Ravera, O., 1991. Influence of Heavy Metals on the Reproduction and Embryonic Development of Freshwater Pulmonates (Gastropoda: Mollusca) and Cladocerans (Crustacea; Arthropoda). *Comp. Biochem. Physiol.*, 100C:215-219.

- Reader, J.P., Overall, N.C., Sayer, M.D.J. and Morris, R., 1989. The Effects of Eight Trace Metals in Acid Soft Water on Survival, Mineral Uptake and Skeletal Calcium Deposition in Yolk-Sac Fry of Brown Trout, *Salmo trutta* L. J. Fish Biol., 35(2):187-198.
- Real, M., Munoz, I., Guasch, H., Navarro, E., and Sabater, S., 2003. The Effect of Copper Exposure on a Simple Aquatic Food Chain, Aquat. Toxicol., 63:283-291.
- Ricard, A.C., Daniel, C., Anderson, P., and Hontela, A., 1998. 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.
- Roesijadi, G., 1992. Metallothioneins in Metal Regulation and Toxicity in Aquatic Animals. Aquat. Toxicol., 22:81-114.
- Rogers, J.T., Richards, J.G., and Wood, C.M., 2003. Ionoregulatory Disruption as The Toxic Mechanism for Lead in the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquat. Toxicol., 64(2):215-234.
- Rogers, J.T., and Wood, C.M., 2004. Characterization of Branchial Lead-Calcium Interaction in The Freshwater Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. J. Exp. Biol., 207(5):813-825.
- Romanenko, V.D., and Yevtushenko, N.Y., 1985. The Tissue Accumulation of Heavy Metals and Their Influence on the Biosynthesis in the Fish Organism. Symposia Biologica Hungarica, 29:299-311.
- Roméo, M., Siau, Y., Sidoumou, Z., and Barelli, M.G., 1999. Heavy Metal Distribution in Different Fish Species from the Mauritania Coast. Sci. Total Environ., 232:169-175.
- Roy, R., and Campbell, P.G., 1995. Survival Time Modeling of Exposure of Juvenile Atlantic Salmon (*Salmo salar*) to Mixtures of Aluminum and Zinc in Soft Water at Low pH. Aquat. Toxicol., 33(2):155-176.

- Sağlamtimur, B., Cıçık, B., ve Erdem, C., 2003. Farklı Ortam Derişimlerinin Etkisinde Bakır ve Bakır+Kadmiyum Karışımının Tatlı Su Çipurasının (*Oreochromis niloticus*, L.) Solungaç, Karaciğer, Böbrek ve Kas Dokularındaki Bakır Birikimi Üzerine Etkileri. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 27:813-820.
- Sahana, S.S., Jana, S., Choudhuri, M.A., and Choudhuri, D.K., 1985. Hg (II)-Induced Changes in Some Biochemical Parameters in The Freshwater Fish *Clarias batrachus*. Physiol. Bohemoslov., 35(1):81-85.
- Salanki, J., Farkas, A., Kamardina, T., and Rozsa, K.S., 2003. Molluscs in Biological Monitoring of Water Quality. Toxicol. Lett., 140:403-410.
- Saleh, Y.S., and Marie, M.A.S., 2014. Assessment of Metal Contamination in Water, Sediment, and Tissues of *Arius thalassinus* Fish from The Red Sea Coast of Yemen and The Potential Human Risk Assessment. Environ. Sci. Pollut. Res., 22(7):5481-5490.
- Sappington, K.G., 2002. Development of Aquatic Life Criteria for Selenium: A Regulatory Perspective on Critical Issues and Research Needs. Aquat. Toxicol., 57:101-113.
- Saravanan, M., Karthika, S., Malarvizhi, A., and Ramesh, M., 2011. Ecotoxicological Impacts of Clofibric Acid and Diclofenac in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Fingerlings: Hematological, Biochemical, Ionoregulatory and Enzymological Responses. J. Hazard. Mater., 195:188-94.
- Sathya, V., Ramesh, M., Poopal, R.K., and Dinesh, B., 2012. Acute and Sublethal Effects in An Indian Major Carp *Cirrhinus mrigala* Exposed to Silver Nitrate: Gill Na^+/K^+ -ATPase, Plasma Electrolytes and Biochemical Alterations. Fish Shellfish Immun., 32:862-868.
- Sato, T., Ose, Y., and Sakai, T., 1980. Toxicological Effect of Selenium on Fish. Environ. Pollut. Ser., Ecol. Biol., 21(3):217-224.

- Schiaffino, S., and Reggiani, C., 1996. Molecular Diversity of Myofibrillar Proteins: Gene Regulation and Functional Significance. *Physiol. Rev.*, 76(2):371-423.
- Schlekat, C.E., Van Genderen, E.J., De Schamphelaere, K.A.C., Antunes, P.M.C., Rogevich, E.C., and Stubblefield, W.A., 2010. Cross-Species Extrapolation of Chronic Nickel Biotic Ligand Models. *Sci. Total Environ.*, 408:6148-6157.
- Scott, G. R., and Sloman, K.A., 2004. The Effects of Environmental Pollutants on Complex Fish Behavior: Integrating Behavioral and Physiological Indicators of Toxicity. *Aquat. Toxicol.*, 68(4):369-392.
- Senthamilselvan, D., Chezian, A., Kabilan, N., and Sureshkumar, T., 2011. Synergistic Impact of Heavy Metals (Ni and Hg) and Histopathological Alterations in the Organ (gill) of the Fish, *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). Pelagia Research Library. *Eur. J. Exp. Biol.*, 1(2):198-205.
- Senthil, M.S., Karuppasamy, K., Poongodi, S., and Puranesurin, G., 2008. Bioaccumulation Pattern of Zinc in Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch) After Chronic Exposure. *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* 8: 55-59.
- Shah, S.L., 2006. Hematological Parameters in tench *Tinca tinca* After Short Term Exposure to Lead. *J. Appl. Toxicol.*, 26:223-228.
- Shakoori, A.R., and Yousafzai, A.M., 2006. Bioaccumulation of Chromium, Nickel, Lead, Copper and Zinc in the Skin of *Tor putitora* as An Indicator of the Presence of the Heavy Metal Load in River Kabul, Pakistan. *Pakistan J. Zool.*, 33:341-347.
- Shephard, K., and Simkiss, K., 1978. The Effects of Heavy Metal Ions on Ca^{2+} ATPase Extracted From Fish Gills. *Comp. Biochem. Physiol.*, 61(1):69-72.
- Shuilleabhain, S.N., Mothersill, C., Sheehan, D., O'Brien, N.M., Halloran, J.O., Van Pelt, F.N.A.M., and Davoren, M., 2004. In Vitro Cytotoxicity Testing of Three Zinc Metal Salts Using Established Fish Cell Lines. *Toxicol. in Vitro*, 18:365-376.

- Shukla, V., Dhankhar, M., Prakash, J., and Sastry, K.V., 2007. Bioaccumulation of Zn, Cu and Cd in *Channa punctatus* J. Environ. Biol., 28(2):395-397.
- Singh, H.S., and Reddy, T.V., 1990. Effect of Copper Sulfate on Hematology, Blood Chemistry and Hepato-Somatic Index of Indian Catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), and Its Recovery. Ecotoxicol. Environ. Saf., 20:30-35.
- Singh, D., and Singh, A., 2002. Biochemical Alteration in Freshwater Fish *Channa punctatus* due to Latexes of *Euphorbia royleana* and *Jatropha gossypifolia*. Environ. Toxicol. Pharmacol., 12:129-136.
- Sokal, R.R., and Rohlf, J.F., 1969. Biometry. W.H. and Freeman and Company. San Francisco. 776 p.
- Sorensen, E.M.B., Cumbie, P.M., Bauer, T.L., Bells, J.S., and Harlan, C.W., 1984. Histopathological, Hematological, Condition-Factor, and Organ Weight Changes Associated with Selenium Accumulation in Fish from Belews Lake, North Carolina. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 13:153-162.
- Sorensen, E.M.B., 1986. The Effects of Selenium on Freshwater Teleosts. In: Rev. Environ. Toxicol., 2:59-116
- Sorensen, E.M.B., 1991. Metal Poisoning in Fish: Environmental and Life Sciences Associates. Boca Raton: CRC Press Inc. FL. 243 p.
- Spehar, R.L., 1976. Cadmium and Zinc Toxicity to Flag Fish, *Jordanella floridae*. J. Fish. Res. Bd. Canada, 33: 1939-1945.
- Spehar, R.L., Leonard, E.N., and Defoe, D.L., 1978. Chronic Effects of Cadmium and Zinc Mixtures on Flagfish (*Jordanella floridae*). T. Am. Fish. Soc., 107(2): 354-360.
- Spray, D.J., Hodson, P.V., and Wood, C.M., 1988. Relative Contributions of Dietary and Waterborne Zinc in the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 45:32-41.
- Sreedevi, P., Sivaramakrishna, B., Suresh, A., and Radhakrishnaiah, K., 1992. Effect of Nickel Some Aspects of Protein Metabolism in The Gill and

- Kidney of the Freshwater Fish, *Cyprinus carpio* L. Environ. Pollut., 77(1):59-63.
- Sreedevi, P., Suresh, A., Sivaramakrishna, B., Prabhavathi, B., and Radhakrishnaiah, K., 1992. Bioaccumulation of Nickel in The Organs of the Freshwater Fish, *Cyprinus carpio*, and the Freshwater Mussel, *Lamellidens marginalis*, Under Lethal and Sublethal Nickel Stress. Chem., 24:29-36.
- Srivastava, R.C., Husain, M.M., Srivastava, S.K., Husan, S.K., and Lal, A., 1995. Effect of Pre-Exposure to Cadmium and Silver on Nickel Induced Toxic Manifestations in Mice: Possible Role of Ceruloplasmin and Metallothionein. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 54:751-759.
- Stacey, N.H., Wong, K., and Klassen, C.D., 1983. Protective Effects of Chromium on the Toxicity of Cadmium in Vivo. Toxicol., 28:147-153.
- Stagg, R.M., and Shuttleworth, T.J., 1982. The Effects of Copper on Ionic Regulation by The Gills of The Seawater-Adapted Flounder (*Platichthys flesus* L.). J. Comp. Physiol., 149:83-90.
- Stagg, R.M., Rusin, J., and Brown, F., 1992. Na^+, K^+ -ATPase Activity in the Gills of The (*Platichthys flesus*) in Relation to Mercury Contamination in the Firth of Forth. Mar. Environ. Res., 33(4):255-266.
- Stephan, C.E., Mount, D.I., Hansen, D.J., Gentile, J.H., Chapman, G.A., Brungs, W.A., 1985. Guidelines for Deriving Numerical National Water Quality Criteria for the Protection of Aquatic Organisms and Their Uses. Duluth, US EPA., Environmental Research Laboratory. 98 p.
- Su, L., Wang, M., Yin, S., Wang, H., Chen, L., Sun, L., and Ruan, D., 2008. The Interaction of Selenium and Mercury in the Accumulation and Oxidative Stres of Rat Tissues. Ecotoxicol. Environ. Saf., 70:483-489.
- Sukop, I., 1995. Summer Outdoor Culture of African Catfish (*Clarias gariepinus*) and Tilapias (*Oreochromis niloticus* and *O. aureus*). Aquat. Living. Res., 8:445-448.

- Sunderman, F.W., and JR, Fraser, C.B., 1983. Effects of Nickel Chloride and Diethyldithiocarbamate on Metallothionein in Rat Liver and Kidney. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 13:489-495.
- Suresh, A., Sivaramakrishna, B., Victoriamma, P.C., and Radhakrishnaiah, K., 1991. Shift in Protein Metabolism in Same Organs Freshwater Fish, *Cyprinus carpio* under Mercury stress. *Biochem. Int.*, 24(2):379-389.
- Suresh, A., Sivaramkrishna, B., and Radhakrishnaiah, K., 1993. Patterns of Cadmium Accumulation in the Organs of Fry and Fingerling of Freshwater Fish *Cyprinus carpio* Following Cadmium Exposure. *Chem.*, 26(5):945-953.
- Suresh, A., Sivaramakrishna, B., and Radhakrishnaiah, K., 1993. Effect of Lethal and Sublethal Concentrations of Cadmium on Energetics in the Gills of Fry and Fingerlings of *C. carpio*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 51(6):920-926.
- Svecevicus, G., Sauliute, G., Idzelis, R.L., and Grigeleviciute, J., 2014. Accumulation of Heavy Metals in Different Body Tissues of Atlantic Salmon, *Salmo salar* L., Exposed to A Model Mixture (Cu, Zn, Ni, Cr, Pb, Cd) and Singly to Nickel, Chromium, and Lead. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 92(4):440-445.
- Tao, S., Liu, C., Dawson, R., Cao, J., and Li, B., 1999. Uptake of Particulate Lead via the Gills of Fish (*Carassius auratus*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 37:352-357.
- Thomas, D.G., Brown, M.W., Shurben, D., Solbe, J.F.G., Cryer, A., and Kay, J., 1985. A Comparison of the Sequestration of Cadmium and Zinc in the Tissues of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Following Exposure to the Metals Singly or in Combination. *Comp. Biochem. Physiol. Comp. Pharmacol. Toxicol.*, 82(1C):55-62.

- Thorton, I., 1979. Copper in the Soils and Sediments, in: J.O. Nriagu (Ed.), Copper in the Environment. Part I. Ecological Cycling. Wiley-Interscience, New York. 171-216 p.
- Torreblanca, A., Del Ramo, J., Arnau, J.A., and Diaz-Mayans, J., 1989. Cadmium, Mercury, and Lead Effects on Gill Tissue of Freshwater Crayfish *Procambarus clarkii* (Girard). Biol. Trace Elem. Res., 21(1):343-347.
- Tort, L., Crespo, S., and Balasch, J., 1982. Oxygen Consumption of the Dogfish Gill Tissue Following Zinc Treatment. Comp. Biochem. Physiol., 72C(1):145-148.
- Tulasi, S.J., Reddy, P.U.M., and Romano-Rao, J.V., 1992. Accumulation of Lead and Effects on Total Lipids on Lipid Derivatives in the Fresh- Water Fish *Anabas testudineus* (Bloch), Ecotoxicol. Environ. Saf., 23:33-38.
- US EPA, 1987. Ambient Aquatic Life Criteria for Selenium. EPA-440/5-87-006. US Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC. 2015, 125 p.
- _____, 1991. Methods for the Determination of Metals in Environmental Samples. EPA-600/491-010. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH.
- _____, 2003. Draft Update of Ambient Water Quality Criteria for Copper, EPA 822-R- 03-026, Washington, DC, 71 p.
- _____, 2005. Toxicological Review of Zinc and Compounds. EPA/635/R-05/002, Washington D.C., 83 p.
- _____, 2009. Draft 2009 Update: Aquatic Life Ambient Water Quality Criteria for Ammonia Freshwater. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, 192 p.
- Valee, B.L., and Falchuk, K., 1993. The Biochemical Basis of Zinc Physiology. Physiol. Rev., 73:79-118.
- Van Leeuwen, K., 1990. Ecotoxicological Effects Assessment in the Netherlands Recent Developments. Environ. Manage., 14:779-792.

- Varanasi, U., and Markey, D., 1978. Uptake and Release of Lead and Cadmium in Skin and Mucus of Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Comp. Biochem. Physiol., 60:187-191.
- Venu Gopal, N.B.R.K., Chandravathy, V.M., Sultana, S., and Reddy, S.L.N., 1990. In vivo Recovery of Glycogen Metabolism in Hemolymph and Tissues of Freshwater Field Crab *Brytelphusa guerini* on Exposure to Hexavalent Chromium. Ecotoxicol. Environ. Saf., 20:20-29.
- Verbost, P.M., Van Rooij, J., Flik G., Lock, R.A.C., and Wendelaar Bonga, S.E., 1989. The Movement of Cadmium Through Freshwater Trout Branchial Epithelium and Its Interference with Calcium Transport, J. Exp. Biol., 145:185-197.
- Verma, S.R., Jain, M., and Dalela, R.C., 1982. A Laboratory Study to Assess Separate and In-combination Effects of Zinc, Chromium and Nickel to the Fish *Mystus vittatus*. Acta Hydroch. Hydrob., 10(1):23-29.
- Vinodhini, R., and Narayanan, M., 2008. Bioaccumulation of Heavy Metals in Organs of Fresh Water Fish *Cyprinus carpio* (Common carp). Int. J. Environ. Sci. Technol., 5(2):179-182.
- Vijayan, M.M., Pereira, C., Grau, E.G., and Iwama, G.K., 1997. Metabolic Responses Associated with Confinement Stress in Tilapia; The role of Cortisol. Comp. Biochem. Physiol. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol., 116C(1):89-95.
- Vutukuru, S.S., 2003. Chromium Induced Alterations in Some Biochemical Profiles of the Indian Major Carp, *Labeo rohita* (Hamilton). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 70:118-123.
- Vutukuru, S.S., 2005. Acute Effects of Hexavalent Chromium on Survival, Oxygen Consumption, Hematological Parameters and Some Biochemical Profiles of the Indian Major Carp, *Labeo rohita*. Int. J. Environ. Res. Public Health, 2(3):456-462.

- Vutukuru, S.S., Prabbath, N.A., Raghavender, M., and Yerramilli, A., 2007. Effect of Arsenic and Chromium on the Serum Amino-Transferases Activity in Indian Major Carp, *Labeo rohita*. Int. J. Environ. Res. Public Health, 4(3):224-227.
- Wang, W.N., Wang, A.L., Chen, L., Liu, Y., and Sun, R.Y., 2002. Effects of pH on Survival, Phosphorus Concentration, Adenylate Energy Charge and Na⁺-K⁺ ATPase Activities of *Penaeus chinensis* Osbeck Juveniles. Aquat. Toxicol., 60:75-83.
- Watson, T.A., and Beamish, F.W.H., 1981. The Effects of Zinc on Branchial Adenosine Triphosphatase Enzymes In vitro from Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol., 68(C):167-173.
- Wedephol, K.H., 1970. Handbook of Geochemistry, Sringer-Verlag, Berlin, Heidelberg, NY, 2(2):15.
- Weis, J.S., 1980. Effect of Zinc on Regeneration in the Fiddler Crab *Uca pugilator* and Its Interactions with Methylmercury and Cadmium. Mar. Environ. Res., 3:249-255.
- WHO (World Health Organization), 1991. Nickel. Environmental Health Criteria 108. World Health Organization, Finland, 101-117 p.
- Wicklum, D., Smith, D.E.C., and Davies, R.W., 1997. Mortality, Preference, Avoidance, and Activity of a Predatory Leech Exposed to Cadmium. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 32:178-183.
- Wicklund, A., Runn, P., and Norrgren, L., 1988. Cadmium and Zinc Interactions in Fish: Effects of Zinc on the Uptake, Organ Distribution and Elimination of ¹⁰⁹Cd in the Zebrafish *Brachydanio rerio*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 17:345-354.
- Witeska, M., and Jezierska, B., 2003. The Effects of Environmental Factors on Metal Toxicity to Fish (Review). Fresenius Environ. Bull., 12(8):824-829.
- Wong, P., and Wong, C., 1990. Toxicity of Nickel and Nickel Electroplating Water to *Chlorella pyrenoidosa*. Bull. Environ. Cont. Toxicol., 45: 752-759.

- Woo, P.T.K., Yoke, M.S., and Wong, M.K., 1993. The Effects of Short-Term Acute Cadmium Exposure on Blue Tilapia *Oreochromis aureus*. Environ. Biol. Fish., 37: 67-74.
- Wright, D.A., and Welbourn, P., 2002. Environmental Toxicology. Cambridge University Press. NY. 630 p.
- Yılmaz, A. B., and Yılmaz, L., 2007. Influences of Sex and Seasons on Levels of Heavy Metals in Tissues of Green Tiger Shrimp (*Penaeus semisulcatus* de Hann, 1844). Food Chem., 101(4):1664-1669.
- Zelikoff, J.T., 1998. Biomarkers of Immunotoxicity in Fish and Other Non-Mammalian Sentinel Species: Predictive Value for Mammals. Toxicol., 129:63-71.



ÖZGEÇMİŞ

Konya'nın Ereğli ilçesinde 1983 yılında doğdu. İlk ve orta öğrenimini Osmaniye'de tamamladıktan sonra, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldu. Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde Yüksek Lisans öğrenimini 2009 yılında tamamladı. Aynı bölümde doktora tez dönemindeyken 2014-2015 eğitim döneminde araştırma inceleme yapmak üzere TÜBİTAK bursuyla ABD'de bulundu.