



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**OKYANUS ASİTLENMESİNİN DENİZ OMURGASIZLARINDA
RADYONÜKLİD BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİ**

Narin SEZER

Biyoloji Anabilim Dalı

Genel Biyoloji Programı

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Murat BELİVERMİŞ**

Temmuz, 2019

İSTANBUL

Bu çalışma, 2.07.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Genel Biyoloji Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



Prof. Dr. Murat BELİVERMİŞ (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



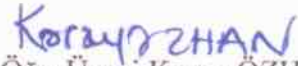
Prof. Dr. Önder KILIÇ
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Sema ERENTÜRK
İstanbul Teknik Üniversitesi
Enerji Enstitüsü



Prof. Dr. Tuncay ORTA
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Dr. Öğr. Üyesi Koray ÖZHAN
Orta Doğu Teknik Üniversitesi
Deniz Bilimleri Enstitüsü



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneliği olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 51158 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, 1649B031502428 numaralı TÜBİTAK (Türkiye Bilim ve Teknoloji Araştırma Kurumu) 2211C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçin Doktora Burs programı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Doktora öğrenimim ve tez çalışmalarım boyunca bilgisini ve yardımlarını esirgemeyen, çalışmalarımnda her türlü destek ve imkânı sağlayan değerli danışman hocam Prof. Dr. Murat Belivermiş'e en içten saygı ve sevgilerimle teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca bilgi ve önerileri ile beni yönlendiren ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Önder Kılıç'a çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimden bu yana, desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof.Dr. Yavuz ÇOTUK'a çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Öğr.Gör. Furkan GÖZEL, Biyolog Ercan Sıkdokur ve Araş. Gör. Merve Erçin'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamda, moleküler analizlerin gerçekleştirilmesinde katkılarını sunan değerli hocam Doç. Dr. Akın Çayır'a, sediment tane boyu analiz ölçümlerinde desteğini sunan değerli hocam Prof. Dr. Erol Sarı ve Araş.Gör. Tuğçe N. Arslan Kaya'ya teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar imkânlarından yararlanmamı sağlayan Moleküler Hücre Biyolojisi Araştırma Laboratuvarı'ndan değerli hocalarıma çok teşekkür ederim.

Değerli arkadaşlarım Gülşah Kalaycı, Ebru Efe, Esin Öztürk ve Hasan Oğuz Kocaoğlan'a tüm yardımları ve destekleri için en içten teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen canım aileme sonsuz teşekkürler.

Temmuz 2019

Narin SEZER

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xiv
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xvi
ÖZET	xviii
SUMMARY	xxi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1. OKYANUS KARBONAT KİMYASI.....	7
2.2. OKYANUS ASİTLENMESİNİN DENİZ ORGANİZMALARINA ETKİLERİ	10
2.2.1. Okyanus Asitlenmesinin Deniz Canlılarında Doğrudan Etkileri	16
2.2.1.1. Enerji Metabolizması	16
2.2.1.2. Asit Baz Dengesi	19
2.2.1.3. Bağışıklık	20
2.2.1.4. Üreme ve Gelişme	20
2.2.1.5. Davranış	22
2.2.1.6. Kalsifikasyon.....	23
2.2.1.7. Bentik omurgasızlar	24
2.2.1.8. Diğer Fizyolojik Süreçler	27
2.2.2. Okyanus Asitlenmesinin Dolaylı Etkileri.....	28
2.2.2.1. Biyolojik Çeşitlilikteki Değişiklikler	28
2.2.2.2. Habitat Kaybı	28
2.2.2.3. Trofik Besin Ağ Değişimi	29
2.2.3. İnsan Sağlığı Etkileri	30
2.3. CO ₂ KAYNAKLI SEDİMENT ASİTLENMESİ	31
2.3.1. Okyanus Asitlenmesinin Sediment Üzerine Etkileri	32

2.4.	OKYANUS ASİTLENMESİNİN DENİZ ORGANİZMALARINDA METAL VE RADYONÜKLİD BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİ	32
2.5.	RADYOİZLEYİCİ TEKNİĞİ	36
3.	MALZEME VE YÖNTEM.....	37
3.1.	PH SİSTEMİ (IKS).....	37
3.2.	IKS SİSTEMİNİN KALİBRASYONU	39
3.3.	TOPLAM ALKALİNİTE ÖLÇÜMÜ	40
3.4.	OKYANUS ASİTLENMESİNİN MANİLA KUM MİDYESİNDE (<i>RUDITAPES PHILIPPINARUM</i>) ²¹⁰ PO ATILIMINA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:	43
3.5.	OKYANUS ASİTLENMESİNİN İSTİRİDYELERDE (<i>OSTREA EDULIS</i>) ¹³⁴ CS, ⁵⁷ CO VE ¹⁰⁹ CD BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:.....	51
3.5.1.	Alıştırma Periyodu.....	51
3.5.2.	Alım Deneyi	53
3.5.3.	Atılım Deneyi	55
3.5.4.	Doku Bazında Radyonüklid Dağılımının İncelenmesi	57
3.5.5.	¹³⁴ Cs, ⁵⁷ Co ve ¹⁰⁹ Cd Radyonüklidlerinin Hücre İçi Dağılımlarının Araştırılması:	57
3.6.	OKYANUS ASİTLENMESİNİN KARİDESLERDE (<i>PALAEEMON ADSPERSUS</i>) ^{110M} AG BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:.....	62
3.6.1.	Alım Deneyi	63
3.6.2.	Atılım Deneyi	65
3.6.3.	Karideslerde Ag-110m Doku Dağılımı	66
3.7.	OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN SUYA ^{110M} AG, ¹⁰⁹ CD VE ¹³⁴ CS RADYONÜKLİDLERİNİN GEÇİŞ FAKTÖRÜNÜN (K _D) HESAPLANMASI:.....	66
3.8.	OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN KARA MİDYEYE ^{110M} AG, ¹⁰⁹ CD VE ¹³⁴ CS RADYONÜKLİDLERİNİN TRANSFER FAKTÖRÜNÜN (TF) HESAPLANMASI:	70
3.9.	OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN KUM MİDYESİNE ^{110M} AG, ¹⁰⁹ CD VE ¹³⁴ CS RADYONÜKLİDLERİNİN TRANSFER FAKTÖRÜNÜN (TF) HESAPLANMASI:	72
3.10.	OKYANUS ASİTLENMESİNİN FARKLI BÜYÜKLÜKTEKİ AKDENİZ MİDYELERİNDE (<i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i>) GÜMÜŞ (AG-110M) VE KADMİYUM (CD-109) BİYOBİRİKİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:.....	73
3.10.1.	Alıştırma Periyodu.....	73
3.10.2.	Alım Deneyi	74
3.10.3.	Atılım Deneyi	75
3.10.4.	Doku Dağılımı	76

3.10.5. Okyanus Asitlenmesinin Akdeniz Midyesinde (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) Filtrasyon Oranı, Hücre ve DNA Bazında Toksikolojik Etkileri	77
3.10.5.1. Filtrasyon Oranı	77
3.10.5.2. İmmünomodülasyon Testleri	77
3.10.5.3. Dolaşımdaki hücre dışı nükleik asit değerlendirmesi (ccf-DNA, ccf-RNA, ccf-miRNA)	79
3.11. VERİ ANALİZİ, MODELLEME VE İSTATİSTİK	80
4. BULGULAR.....	84
4.1. OKYANUS ASİTLENMESİNİN MANİLA KUM MİDYESİNDE (<i>RUDITAPES PHILIPPINARUM</i>) ²¹⁰ PO RADYONÜKLİDİNİN ATILIMINA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:	84
4.2. OKYANUS ASİTLENMESİNİN İSTİRİDYELERDE (<i>OSTREA EDULIS</i>) ¹³⁴ CS, ⁵⁷ CO VE ¹⁰⁹ CD BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:.....	86
4.2.1. Alım Deneyi	87
4.2.2. Atılım Deneyi	91
4.2.3. Radyoizleyicilerin Doku dağılımı	95
4.3. OKYANUS ASİTLENMESİNİN BALTİK KARİDESİNDE (<i>PALAEEMON ADSPERSUS</i>) ^{110M} AG BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:.....	101
4.3.1. Alım Deneyi	101
4.3.2. Atılım Deneyi	103
4.3.3. Ag-110m Doku Dağılımı.....	105
4.4. OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN SUYA ^{110M} AG, ¹⁰⁹ CD VE ¹³⁴ CS RADYONÜKLİDLERİNİN GEÇİŞ FAKTÖRÜNÜN (K _D) HESAPLANMASI:.....	107
4.5. OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN KARA MİDYEYE (<i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i>) ^{110M} AG, ¹⁰⁹ CD VE ¹³⁴ CS RADYONÜKLİDLERİNİN KONSANTRASYON FAKTÖRÜNÜN HESAPLANMASI:	109
4.6. OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN KUM MİDYESİNE ^{110M} AG, ¹⁰⁹ CD VE ¹³⁴ CS RADYONÜKLİDLERİNİN KONSANTRASYON FAKTÖRÜ VE TRANSFER FAKTÖRÜNÜN (TF) HESAPLANMASI:	114
4.7. OKYANUS ASİTLENMESİNİN FARKLI BÜYÜKLÜKTEKİ AKDENİZ MİDYELERİNDE (<i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i>) GÜMÜŞ (AG-110M) VE KADMİYUM (CD-109) BİYOBİRİKİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:.....	125
4.7.1. Alım Deneyi	126
4.7.2. Atılım Deneyi	136
4.7.3. Doku Dağılımı	142

4.7.4. Okyanus Asitlenmesinin Akdeniz Midyesinde (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) Filtrasyon Oranı, Hücre ve DNA Bazında Toksikolojik Etkileri	144
4.7.4.1. Filtrasyon Oranı.....	144
4.7.4.2. İmmünomodulasyon Testleri.....	145
4.7.4.3. Dolaşımdaki Hücre Dışı Nükleik Asitler	148
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	151
5.1. OKYANUS ASİTLENMESİNİN MANİLA KUM MİDYESİNDE (<i>RUDITAPES PHILIPPINARUM</i>) ²¹⁰ PO ATILIMINA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:	151
5.2. OKYANUS ASİTLENMESİNİN İSTİRİDYELERDE (<i>OSTREA EDULIS</i>) ¹³⁴ CS, ⁵⁷ CO VE ¹⁰⁹ CD BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:.....	153
5.2.1. Biyokinetik	153
5.2.2. Kabuk Yapısındaki Değişim.....	154
5.2.3. Doku ve Hücre Altı Dağılımı	155
5.3. OKYANUS ASİTLENMESİNİN KARİDESLERDE (<i>PALAEMON ADSPERSUS</i>) ^{110M} AG BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:.....	157
5.3.1. Biyokinetik	157
5.3.2. Doku Dağılımı	158
5.3.3. Dış İskelet Değişimi	159
5.4. OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN SUYA ^{110M} AG, ¹⁰⁹ CD VE ¹³⁴ CS RADYONÜKLİDLERİNİN GEÇİŞ FAKTÖRÜNÜN (K _D , DISTRIBUTION COEFFICIENT, DAĞILIM KATSAYISI) HESAPLANMASI:	162
5.5. OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN AKDENİZ MİDYESİNDE (<i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i>) ^{110M} AG, ¹⁰⁹ CD VE ¹³⁴ CS RADYONÜKLİDLERİNİN KONSANTRASYON FAKTÖRÜNÜN HESAPLANMASI:	164
5.6. OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN KUM MİDYESİNE (<i>RUDITAPES PHILIPPINARUM</i>) ^{110M} AG, ¹⁰⁹ CD VE ¹³⁴ CS RADYONÜKLİDLERİNİN KONSANTRASYON FAKTÖRÜ VE TRANSFER FAKTÖRÜNÜN (TF) HESAPLANMASI:	166
5.6.1. Konsantrasyon Faktörü.....	166
5.6.2. Transfer Faktörü	167
5.7. OKYANUS ASİTLENMESİNİN FARKLI BÜYÜKLÜKTEKİ AKDENİZ MİDYELERİNDE (<i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i>) GÜMÜŞ (AG-110M) VE KADMİYUM (CD-109) BİYOBİRİKİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:.....	168
5.7.1. Vücut Büyüklüğünün Ag-110m ve Cd-109 Biyobirikimine Etkileri	168
5.7.2. Ag-110m ve Cd-109 Alımına pH Etkisi.....	168
5.7.3. Ag-110m Doku Dağılımına pH Etkisi.....	170

5.7.4. Cd-109 Doku Dağılımına pH Etkisi	171
5.7.5. Okyanus Asitlenmesinin Akdeniz Midyesinde (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) Filtrasyon Oranı, Hücre ve DNA Bazında Toksikolojik Etkileri	171
5.7.5.1. Filtrasyon Oranı.....	171
5.7.5.2. İmmünomodulasyon Testleri.....	173
5.7.5.3. Dolaşımdaki Hücre Dışı Nükleik Asitler	174
KAYNAKLAR.....	179
ÖZGEÇMİŞ	219



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Hükümetlerarası İklim Değişikliği Paneli (IPCC) tarafından CO ₂ emisyonu için öngörülen senaryolar.	5
Şekil 2.2: Okyanus asitlenmesinin deniz canlıları üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği sonuçlar	22
Şekil 3.1: IKS-Aquastar, bağlantılı bilgisayar ve CO ₂ tüpleri	38
Şekil 3.2: Laboratuvarında örneklerin sayıma hazırlanması	43
Şekil 3.3: Boyutlarına göre ayrılmış olan kum midyeleri (<i>Ruditapes philippinarum</i>).	44
Şekil 3.4: Üç farklı pH değerinde deniz suyu ile doldurulmuş akvaryumlarda bulunan kum midyeleri (<i>Ruditapes philippinarum</i>).	44
Şekil 3.5: Kum midyelerinin diseksiyonu	47
Şekil 3.6: Yumuşak dokuların liyofilizatörde kurutulması için hazırlanması	47
Şekil 3.7: Midye yumuşak dokularının liyofilizatörde kurutulması	48
Şekil 3.8: Mikrodalga fırında sindirme işlemine hazırlık ve dokulardan nitrik asitin uzaklaştırılması.....	49
Şekil 3.9: Örneklerin gümüş disklerle deposizyonu.	49
Şekil 3.10: Üzerinde polonyum biriktirilmiş gümüş diskler	50
Şekil 3.11: Po-210 ölçümlerinin yapıldığı alfa spektrometresi	50
Şekil 3.12: Üç gruba (üç farklı pH uygulaması için) ayrılmış ve numaralandırılmış istiridyeler.....	51
Şekil 3.13: Üç farklı pH'da istiridyelerde ¹³⁴ Cs, ⁵⁷ Co ve ¹⁰⁹ Cd biyobirikim deneyi.	52
Şekil 3.14: <i>Isochrysis galbana</i> türü fitoplankton.	52
Şekil 3.15: Akvaryumlara hava, karbon dioksit ve sodalime verilmesi.....	53
Şekil 3.16: Canlıların sayım kabına alınması ve sayımı.	55
Şekil 3.17: Yüksek Safılıkta Germanyum (HPGe) dedektörlü gama spektrometresi.	55
Şekil 3.18: Üç farklı pH'da istiridyelerde (<i>Ostrea edulis</i>) ¹³⁴ Cs, ⁵⁷ Co ve ¹⁰⁹ Cd atılım deneyi.	56

Şekil 3.19: İstiridye yumuşak dokularında subsellular dağılım prosedürü.	59
Şekil 3.20: -80 °C'den çıkarılan istiridyelerin yumuşak doku ve kabuk olarak ayrılması, yumuşak dokuların homojen hale getirilmesi.....	60
Şekil 3.21: Homojen hale gelen yumuşak dokuların buz içerisinde bekletilmesi.	60
Şekil 3.22: Proteinlerin sıcaklıkla denatüre edilmesi.	61
Şekil 3.23: Santrifüj işleminde kullanılan soğutmalı santrifüj ve ultrasantrifüj	61
Şekil 3.24: Deney düzeneği.....	63
Şekil 3.25: Karideslerde ^{110m} Ag sayımı	64
Şekil 3.26: Karideslerin beslenmesi	64
Şekil 3.27: Kabuk değiştirmiş olan karideslerin kabuk kalıntıları.....	65
Şekil 3.28: Karideslerin atılım deneyine alınması	66
Şekil 3.29: Sedimentte tane boyu analizi	68
Şekil 3.30: Günümüz şartlarında ve okyanus asitlenmesi şartlarında sedimentten suya radyonüklid geçişinin araştırılması.....	68
Şekil 3.32: Sedimentten midyeye (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) radyonüklid geçişinin araştırılması	71
Şekil 3.33: Sedimentten kum midyesine (<i>Ruditapes philippinarum</i>) radyonüklid geçişinin araştırılması (Midyeler sedimentin içine gömüldükleri için görünmemektedir.)	73
Şekil 3.34: Deney düzeneği.....	75
Şekil 3.35: Atılım deneyi.	76
Şekil 4.1: Manila kum midyesinde (<i>Ruditapes philippinarum</i>) farklı pH değerlerinde (8,1, 7,8, 7,5) ²¹⁰ Po biyokinetiği.....	86
Şekil 4.2: <i>Ostrea edulis</i> . 21 günlük alım deneyinin sonucu verileri.	91
Şekil 4.3: 39 günlük atılım deneyi sonrasında farklı pH değerlerinde radyoizleyici verileri.....	95
Şekil 4.4: Atılım deneyinin ardından farklı pH değerlerinde radyoizleyicilerin doku bazında dağılımı	98
Şekil 4.5: Atılım deneyinin ardından farklı pH değerlerinde radyoizleyicilerin hücre altı bölümlerde dağılımı	100

Şekil 4.6: Asitlenmesinin artışı ile birlikte istiridye kabuğundaki koruyucu organik tabakada (periostrakum) meydana gelen değişim	100
Şekil 4.7: Karideslerde 14 gün alım deneyinin ardından üç farklı pH değerinin incelendiği gruplarda ^{110m}Ag birikimi	102
Şekil 4.8: <i>Palaemon adspersus</i> . Karideste 33 günlük atılım deneyi sonrasında farklı pH değerlerinde ^{110m}Ag verileri.....	104
Şekil 4.9: Karideslerde alım deneyi sonunda ^{110m}Ag doku dağılımı (%).....	106
Şekil 4.10: Karideslerde atılım deneyi sonunda ^{110m}Ag doku dağılımı (%)	107
Şekil 4.11: 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs için Kd değerleri.	109
Şekil 4.12: <i>Mytilus galloprovincialis</i> . 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin konsantrasyon faktörü değerleri.	112
Şekil 4.13: <i>Mytilus galloprovincialis</i> . 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin aktivite konsantrasyonu (Bq g^{-1})	114
Şekil 4.14: <i>Ruditapes philippinarum</i> . 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin kum midyesi yumuşak dokusundaki konsantrasyon faktörü değerleri	117
Şekil 4.15: Akdeniz midyesi (<i>Mytilus galloprovincialis</i>) ve Manila kum midyesi (<i>Ruditapes philippinarum</i>) yumuşak doku konsantrasyon faktörü değerleri	120
Şekil 4.16: <i>Ruditapes philippinarum</i> . 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin kum midyesi yumuşak dokusundaki transfer faktörü değerleri.	123
Şekil 4.17: <i>Ruditapes philippinarum</i> . 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin aktivite konsantrasyonu (Bq g^{-1}) değerleri.	125
Şekil 4.18: Üç farklı deniz suyu pH seviyesinde erişkin midyelerde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd alım biyokinetiği.....	128
Şekil 4.19: Üç farklı deniz suyu pH seviyesinde yavru midyelerde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd alım biyokinetiği.....	130
Şekil 4.20: Küçük ve büyük midyeler ^{110m}Ag alım grafikleri.....	132
Şekil 4.21: Küçük ve büyük midyeler ^{109}Cd alım grafikleri.	136
Şekil 4.22: Üç farklı deniz suyu pH seviyesinde küçük ve büyük midyelerde ^{110m}Ag atılım biyokinetiği	139
Şekil 4.23: Üç farklı deniz suyu pH seviyesinde küçük ve büyük midyelerde ^{109}Cd atılım biyokinetiği	141

Şekil 4.24: Erişkin ve yavru midyelerde alım deneyinde ^{109}Cd denge durumu konsantrasyon faktörü değerlerinin karşılaştırılması.....	142
Şekil 4.25: Midye yakınlaştırıcı kasından hemolenf alınması	146
Şekil 4.26: Mikroskop altında hemolenf hücrelerinin görüntüsü.	147
Şekil 4.27: Farklı pH değerlerinde canlı hemosit sayısı (%).....	147
Şekil 4.28: Farklı pH gruplarında erişkin midyelerin yakınlaştırıcı kasından alınmış olan hemolenf sıvılarındaki μg protein başına düşen optik yoğunluk.....	148



TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1: Tez deneylerinin özeti	41
Tablo 4.1: Manila kum midyesinde (<i>Ruditapes philippinarum</i>) doğal olarak bulunan ^{210}Po 'nun farklı pH değerlerine (8,1, 7,8, 7,5) sahip deniz suyunda biyokinetiği.....	84
Tablo 4.2: Deniz suyu pH ve karbonat kimyası değerleri.	87
Tablo 4.3: İstiridyelerde (<i>Ostrea edulis</i>) ^{109}Cd , ^{57}Co , ^{134}Cs radyoizleyicilerinin alım kinetiği parametreleri.....	88
Tablo 4.4: 21 günlük alım deneyinin ardından, 39 gün boyunca atılım deneyine devam edilmiş olan istiridyelerde ^{109}Cd , ^{57}Co , ^{134}Cs radyoizleyicilerinin atılım kinetiği parametreleri.....	92
Tablo 4.5: Üç farklı pH koşulunda atılım deneyi sonunda ^{109}Cd , ^{57}Co , ^{134}Cs radyoizleyicilerinin doku dağılımı (%).	98
Tablo 4.6: Karideslerde (<i>Palaemon adspersus</i>) $^{110\text{m}}\text{Ag}$ alım kinetiği parametreleri.....	101
Tablo 4.7: 33 gün boyunca atılım deneyine devam edilmiş olan karideslerde $^{110\text{m}}\text{Ag}$ atılım kinetiği parametreleri.	104
Tablo 4.8: Karideslerde $^{110\text{m}}\text{Ag}$ doku dağılımı (%).....	106
Tablo 4.9: 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde $^{110\text{m}}\text{Ag}$, ^{109}Cd ve ^{134}Cs için K_d (dağılım katsayısı) değerleri.....	108
Tablo 4.10: <i>Mytilus galloprovincialis</i> . Midye yumuşak dokusunda 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde $^{110\text{m}}\text{Ag}$, ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin konsantrasyon faktörü değerleri.....	110
Tablo 4.11: <i>Ruditapes philippinarum</i> . 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde $^{110\text{m}}\text{Ag}$, ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin kum midyesi yumuşak dokusundaki konsantrasyon faktörü değerleri.	115
Tablo 4.12: <i>Ruditapes philippinarum</i> . 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde $^{110\text{m}}\text{Ag}$, ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin kum midyesi yumuşak dokusundaki transfer faktörü değerleri.....	121
Tablo 4.13: Büyük ve küçük midyelerde $^{110\text{m}}\text{Ag}$ ve ^{109}Cd radyoizleyicilerinin alım kinetiği parametreleri.....	126
Tablo 4.14: Midyede $^{110\text{m}}\text{Ag}$ atılım modeline ait model parametreleri	137

Tablo 4.15: Büyük midyelerde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd doku dağılımı (%)	143
Tablo 4.16: Küçük midyelerde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd doku dağılımı (%)	144
Tablo 4.17: Akvaryumlara verilen fitoplankton miktarı ve 1 saat sonrasında kalan hücre sayısı	144
Tablo 4.18: Okyanus asitlenmesinin deniz canlılarında etkileri.....	149



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
Ag	: Gümüş
A_T	: Toplam alkalinite
Cd	: Kadmiyum
Co	: Kobalt
Cs	: Sezyum
CF_{ss}	: Denge durumundaki konsantrasyon faktörü
DMSO	: Dimetil sülfoksit
K_d	: Dağılım katsayısı
k_e	: Atılım sabiti
k_u	: Alım sabiti
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
pCO₂	: Kısmi karbon dioksit basıncı
pH_T	: Toplam pH
Po	: Polonyum
rpm	: Dakikada devir sayısı
T_{b1/2}	: Biyolojik yarı ömür
TF	: Transfer faktörü
°C	: Santigrat derece
Ω	: Kalsiyum karbonat doygunluk durumu
Ω_{cal}	: Kalsit karbonat doygunluk durumu
Ω_{arg}	: Aragonit karbonat doygunluk durumu

Kısaltmalar	Açıklama
IPCC	: Hükümetlerarası İklim Değişikliği Paneli
OA	: Okyanus Asitlenmesi
CA	: Karbonik anhidraz
pH_{NBS}	: Ulusal Bureau Standartlarına göre pH skalası
pH_{free}	: Serbest hidrojen skalası
PAH	: Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
PCB	: Poliklorlu bifeniller
MT	: Metalloiyonin
MTLP	: Metalloiyonein benzeri proteinler
HSP	: Isıya duyarlı proteinler
Org	: Organeller
MRG	: Metal bakımından zengin granüller
miRNA	: MikroRNA
ccf-DNA	: Dolaşımdaki hücre dışı DNA
ccf-RNA	: Dolaşımdaki hücre dışı RNA
ccf-miRNA	: Dolaşımdaki hücre dışı miRNA

ÖZET

DOKTORA TEZİ

OKYANUS ASİTLENMESİNİN DENİZ OMURGASIZLARINDA RADYONÜKLİD BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİ

Narin SEZER

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Murat BELİVERMİŞ

Atmosferik CO₂, son iki yüzyıldaki insan faaliyetleri sonucunda önemli ölçüde artış göstermiştir. CO₂ yüzey deniz suyu tarafından absorbe edilir ve “Okyanus Asitlenmesi” olarak adlandırılan yüksek pCO₂ (deniz suyu pH’sında düşüş) ve karbonat kimyasında değişime neden olmaktadır. Deniz suyu asitlik değeri ve karbonat kimyasındaki değişik, deniz organizmalarını özellikle de, kalsiyum karbonat yapıları ve iskeleti olan canlıları etkilemektedir. Kalsiyum karbonat yapısına sahip olan deniz canlıları, deniz suyunun düşük karbonat iyon konsantrasyonu nedeniyle yüksek pCO₂’dan zarar görmektedir. Deniz suyu pH değeri, sanayi devriminden bu yana (8,05-8,10) düşmüştür. Öngörülen kötümser atmosferik CO₂ salınım senaryolarına göre bu yüzyılın sonunda 7,8’e ve 2300 yılında ise 7,5’e düşmesi beklenmektedir.

Bu çalışmada, üç farklı pH değerinde (8,1: mevcut deniz suyu pH değeri, 7,8: 2100 yılı için öngörülen pH değeri, 7,5: 2300 yılı için öngörülen pH değeri) yüksek hassasiyetli radioizleyici yöntemi kullanılarak bivalvler ve karideslerdeki metal / radyonüklidlerin biyokinetiği (alım ve atılım) incelenmiştir. Akvaryum pH seviyeleri pH-stat sistemi (IKS Aquastar) ile kontrol edilmiştir. Deneylerde kullanılan akvaryumlar ve deniz suyu parametreleri, araştırılan organizmaların çevresel yaşam koşullarına uygun olarak düzenlenmiş olan model sistemler yardımıyla incelenmiştir. Radyonüklid aktiviteleri gama ve alfa spektrometreleri ile ölçülmüştür.

Antropojenik CO₂ artışı nedeniyle meydana gelen yüksek pCO₂'in (azalmış pH) bivalvlerde ve karideslerde metal / radyonüklid biyobirikimi üzerindeki etkileri laboratuvar ortamında kurulmuş olan model sistemler yardımıyla bir dizi kontrollü radyoizleyici deneyleriyle incelenmiştir. Yüksek pCO₂ genç midyelerde (*Mytilus galloprovincialis*) ¹⁰⁹Cd alımını arttırken, ^{110m}Ag alımı üzerine etkisi olmamıştır. Diğer yandan, yüksek pCO₂'in erişkin midyelerde ¹⁰⁹Cd ve ^{110m}Ag biyobirikimine (alım, atılım, doku dağılımı) etkisi olmamıştır. Azalan pH, istiridye (*Ostrea edulis*) kabuğunun renginin ağarmasına neden olurken, ¹⁰⁹Cd, ¹³⁴Cs ve ⁵⁷Co'nun alım, atılım, doku ve hücre içi dağılımını etkilememiştir. Karideste (*Palaemon adspersus*), dış iskelet değişimi ve Ag biyobirikimi en düşük pH (pH: 7,5), düşük pH (7,8) ve kontrol pH (8,1) ile karşılaştırıldığında, en düşük pH değerinde (7,5) daha sık dış iskelet değişimi gözlenmiş ve Ag daha verimli bir şekilde birikmiştir. Sediment dağılım katsayıları (K_d: metal / radyonüklid'in dip sedimentten suya transferi) ^{110m}Ag düşük pH değerinde artarken, ¹⁰⁹Cd ve ¹³⁴Cs düşük pH değerinden etkilenmemiştir. Manila kum midyesinde (*Ruditapes philippinarum*) transfer faktörü değeri ¹⁰⁹Cd ve ¹³⁴Cs için pH'dan bağımsız iken, ^{110m}Ag için pH azalırken transfer faktörü değeri artış göstermiştir. *Ruditapes philippinarum*'da Po-210 biyobirikimi pH değerinden etkilenmemiştir.

Fizyoloji ve metabolizma hızı deniz organizmalarında metal biyobirikimini etkilemektedir. Bu nedenle, 82 gün boyunca azaltılmış pH şartlarına maruz bırakılmış *Mytilus galloprovincialis*'de filtrasyon hızı, hemosit canlılığı, immünomodülasyon (nötral kırmızı alımı) ve dolaşımdaki hücre dışı nükleik asit seviyeleri belirlenmiştir. Düşük pH (7,5) değeri kontrol şartları ile kıyaslandığında, filtrasyon hızı ve hemosit canlılığı önemli ölçüde azalırken, dolaşımdaki hücre dışı nükleik asitler ve bağışıklık sistemi parametreleri değişiklik göstermemiştir.

Özetle, okyanus asitlenmesi karides ve bivalvlerde metal ve radyonüklid biyobirikimi üzerindeki etkisi maruz kalma yolu ve süresine, canlının gelişim evresine ve seçilen türlere ve radyonüklid/metallere göre değişiklik göstermektedir. Ayrıca, midyede azaltılmış pH'ın bazı metabolik hız ve fizyoloji parametreleri değiştirebileceğini, ancak immün savunma ve dolaşımdaki hücre dışı nükleik asitleri değiştiremediği bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucu, okyanus asitlenmesinin bir deniz organizmasında metal ve radyonüklidlerin biyobirikimi üzerindeki etkilerinin, organizmanın metabolik ve fizyolojik durumu ile birlikte potansiyel biyokimyasal biyobelirteçler tarafından sağlanan bilgilerle desteklenmesi gerektiğini göstermektedir.

Temmuz 2019, 247 sayfa.

Anahtar kelimeler: Okyanus asitlenmesi, bivalv, karides, radyonüklid, biyobirikim

SUMMARY

Ph.D. THESIS

EFFECTS OF OCEAN ACIDIFICATION ON RADIONUCLIDE BIOACCUMULATION IN MARINE INVERTEBRATES

Narin SEZER

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Murat BELİVERMİŞ

Atmospheric CO₂ has been increased dramatically as a result of human activities over last two centuries. CO₂ is absorbed by surface ocean and causes elevated *p*CO₂ (a decrease in seawater pH level) and changes carbonate chemistry, which refer to “Ocean Acidification”. Changing acidity and carbonate chemistry affect marine organisms, especially those with calcium carbonate structures and skeletons. Calcium carbonate shell of the marine calcifiers suffers from high *p*CO₂ in seawater due to the lowered carbonate ion in seawater. The seawater pH has already dropped (8.05-8.10) since industrial revolution and is expected to reduce 7.8 at the end of this century and 7.5 by 2300 according to pessimistic atmospheric CO₂ release scenarios.

In this study the biokinetics of metal / radionuclide (uptake and depuration) in bivalves and shrimp was studied by using high sensitive radiotracer method under three different pH values (8.1: current sea water pH, 7.8: the predicted pH value for the year 2100, 7.5: the predicted pH value for the year 2300). Aquarium pH levels were controlled by a pH-stat system (IKS Aquastar). The aquariums and sea water parameters used in the experiments were established in the form of model systems arranged in accordance with the environmental living conditions of investigated organisms. The radionuclide activities were measured by gamma and alpha spectrometers.

The effects of high $p\text{CO}_2$ (lowered pH) driven by anthropogenic CO_2 on metal/radionuclide bioaccumulation in bivalves and shrimp studied in a series of laboratory controlled radiotracer experiments. High $p\text{CO}_2$ caused increased ^{109}Cd , but not $^{110\text{m}}\text{Ag}$, uptake in juvenile mussel *Mytilus galloprovincialis*. On the other hand, high $p\text{CO}_2$ did not affect Cd and Ag bioaccumulation (uptake, depuration and tissue distribution) in adult mussel. Decreased pH did not affect uptake, depuration, tissue and intracellular distribution of ^{109}Cd , ^{134}Cs and ^{57}Co while it caused coloration in the shell of the oyster (*Ostrea edulis*). Shrimp (*Palaemon adspersus*) moulted more frequently and accumulated Ag more efficiently in the lowest pH condition (pH: 7.5) compared to modest pH (7.8) and control pH (8.1). Sediment distribution coefficients (K_d : the transfer of metal/radionuclide from deep sediment to water) of $^{110\text{m}}\text{Ag}$ increased by lowered pH, while ^{109}Cd and ^{134}Cs remains unaffected. Transfer factor value was independent of pH, while the $^{110\text{m}}\text{Ag}$ concentration factor value increased with decreasing pH in manila clam (*Ruditapes philippinarum*). Po-210 bioaccumulation in *Ruditapes philippinarum* was not affected by pH.

The physiology and metabolic rate affects metal bioaccumulation in marine organisms. Therefore, filtration rate, haemocyte viability, immunomodulation (neutral red uptake) and circulating cell-free nucleic acids were determined in *Mytilus galloprovincialis* exposed to lowered pH over 82 days period. Filtration rate and haemocyte viability significantly lessen at lowered pH (7.5) compared to control condition while circulating cell-free nucleic acids and immune system remain unchanged.

To sum up, effect of ocean acidification on metal and radionuclide bioaccumulation in bivalves and shrimp dependent on the exposure pathway and duration, development stage, select species and radionuclides/metals. We also inferred that lowered pH can modulate some

metabolic rate and physiology parameters, but not immune defence and circulating cell free nucleic acid in mussel (*Mytilus galloprovincialis*). The result of this study also suggests that the effects of ocean acidification on bioaccumulation of metal and radionuclides in a marine organism should be supported by the information provided by metabolic and physiological status of organism as well as biochemical potential biomarker.

July 2019, 247 pages.

Keywords: Ocean acidification, bivalve, shrimp, radionuclides, bioaccumulation



1. GİRİŞ

İnsan kaynaklı atmosferik CO₂ salınımına bağlı olarak meydana gelen iklim değişikliği bilim insanları tarafından kabul edilmektedir. 2000'li yılların başından beri küresel çapta iklim değişikliği ile ilgili yapılan çalışmaların sayısında artış olduğu gözlenmektedir. Diğer sera gazları ile birlikte atmosferik CO₂ miktarına bağlı olarak meydana gelen sıcaklık artışının, deniz suyunun ısınmasına yol açacağı bilinmektedir. Akdeniz'de yaz aylarındaki ortalama deniz suyu sıcaklığı, 2000'li yılların başından itibaren yaklaşık 1 °C artmış ve dünya çapında sıcak hava dalgalarının sıklığı ve yoğunluğunda da artış olmuştur (Marba ve Duarte, 2010; Coma ve diğ., 2009). Artan sıcaklığın deniz canlıları üzerinde strese neden olduğu ve bazı deniz canlılarının ölümüne neden olduğu bildirilmiştir. Deniz suyu ısınması, deniz suyu sıcaklığının 26-27 °C'nin üzerinde olduğu yaz ve sonbahar dönemlerinde midye *Mytilus galloprovincialis* gibi organizmaların ölüm oranında artışa neden olabilmektedir (Anestis ve diğ., 2010; Gazeau ve diğ., 2014).

Isınmanın yanında, atmosferik CO₂ artışı deniz suyunda çözünen CO₂ konsantrasyonundaki artış beraberinde deniz suyu pH değerinde düşüşe neden olmaktadır. Endüstri devriminden günümüze kadar deniz suyu pH değeri 0,1 birim azalmıştır. Bu azalma, deniz suyu hidrojen iyon konsantrasyonunda % 26 artışa tekabül etmektedir. Artan endüstriyel faaliyetler, fosil yakıt tüketimi ve azalan ormanlık alanlar sonucu çevreye salınan CO₂ miktarı her geçen gün artış göstermektedir. Çevreye salınan CO₂ miktarının bu şekilde artış göstermesi, yakın gelecekte deniz ortamının hızlı bir şekilde bu durumdan etkileneceğini düşündürmektedir.

Deniz suyunda çözülmüş olan CO₂ konsantrasyonunun artması sonucunda, aynı zamanda deniz ortamındaki karbonat dengesi de bozulmaktadır. Okyanus asitlenmesi, çözülmüş inorganik karbon ve kalsiyum karbonat doygunluk durumundaki değişiklikler de dâhil olmak üzere deniz suyu kimyasını güçlü bir şekilde etkilemekte ve deniz suyu pH'sında CO₂ kaynaklı düşüşe neden olmaktadır. Deniz suyu pH değerindeki bu düşüşün deniz organizmalarını ve özellikle mercanlar, foraminiferler, midyeler gibi kalsiyum karbonat iskelete sahip canlıları (kalsifikasyonda % 56'ya kadar düşüşe neden olarak) etkilediği bildirilmiştir (Kleypas ve Langdon, 2006). Yüksek pCO₂ büyüme, gelişme, metabolizma, iyon regülasyonu ve asit baz dengesi gibi fizyolojik işlemlerde bozukluklara neden olmaktadır

(Fabry ve diğ., 2008; Widdicombe ve Spicer, 2008; Pörtner ve diğ., 2004; Pörtner, 2008). Ayrıca, erken yaşam evrelerinin özellikle omurgasızlarda yüksek $p\text{CO}_2$ 'ye (Pörtner ve Farrell, 2008) daha duyarlı olabileceği yaygın olarak kabul edilmektedir (Kurihara, 2008).

Deniz ortamındaki sıcaklık, tuzluluk, çözünmüş oksijen ve karbon dioksit (CO_2) seviyelerinde meydana gelen değişiklikler ile birlikte doğal veya antropojenik kaynaklı kirleticilerin (metal/radyonüklid) birlikte etkileri canlılar üzerinde stres oluşturmaktadır. Co ve Zn gibi bazı metaller organizmalar için metabolik olarak belirli bir miktarda gerekliyken Ag, Cd, Hg vs. gibi bazı metaller çok düşük konsantrasyonlarda bile toksik etkiye neden olabilir. Antropojenik aktiviteler, deniz ortamında metal konsantrasyonlarını artırma eğilimindedir; bu durum, kirleticilerin deniz organizmaları üzerinde zararlı etkilerine neden olabilir. Bu konuda, günümüzdeki deniz suyu ve sediment pH değerlerinde yapılan çalışmalara ek olarak gelecekteki pH değerlerinin ele alındığı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Metal ve radyonüklidlerin değişen çevresel şartlar ile birlikte canlılar üzerindeki etkilerinin nasıl değişeceği ve birikiminin ne oranda olacağı merak konusudur. Bu kapsamda, laboratuvar ortamında kurulmuş olan model sistemlerle deniz canlılarının radyonüklid biyobirikim kinetiği araştırılmış, farklı pH şartlarında canlılarda meydana gelen fizyolojik değişikliklerin de araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL KISIMLAR

CO₂ ve diğ er sera gazlarının atmosferde artan konsantrasyonlarından kaynaklanan iklim değişikliğinin, ekosistemlerin yapısı ve fonksiyonu için olduğu kadar biyolojik çeşitlilik için de büyük bir tehdit olduğu düşünölmektedir (McCarthy, 2001). Fosil yakıt kullanımı, çimento üretimi, arazi kullanımındaki değişikler gibi insan faaliyetlerine bağlı olarak atmosferik CO₂ konsantrasyonu sanayi öncesi yaklaşık olarak 280 ppm seviyesinden (Siegenthaler ve diğ., 2005) 2007 yılında 384 ppm ve 2009 yılında yaklaşık 387 ppm değerlerine ulaşmıştır. Bu da, yaklaşık % 40 artışa denk gelmektedir (Solomon ve diğ., 2007). Atmosferdeki CO₂ miktarı günümüzde yılda % 0,5 oranında artış göstermektedir (Augustin ve diğ., 2004; Siegenthaler ve diğ., 2005; Meehl ve diğ., 2007). Bu değer, son 650 bin yılda atmosferik karbondioksit konsantrasyonunda meydana gelen herhangi bir değişimden yaklaşık 100 kat daha fazladır (Royal Society, 2005; Siegenthaler ve diğ., 2005). Dahası, modelleme çalışmaları, CO₂ konsantrasyonunun bulunduğumuz yüzyılın ortalarında 500 ppm'in üzerine çıkacağını ve 2100 yılında da 730 ile 1020 ppm arasında olabileceğini öngörmektedir (IPCC, 2007). İnsanların doğal kaynakları yanlış kullanması sonucu ortaya çıkan bu artış oranı, milyonlarca yıldır meydana gelen atmosferik CO₂ artışından daha hızlı bir büyüklük derecesi göstermiştir (Doney ve Schimel, 2007). Var olan atmosferik CO₂ konsantrasyonunun, geçmiş 800.000 yıldan daha yüksek seviyelere ulaşmasına neden olmuştur (Lüthi ve diğ., 2008).

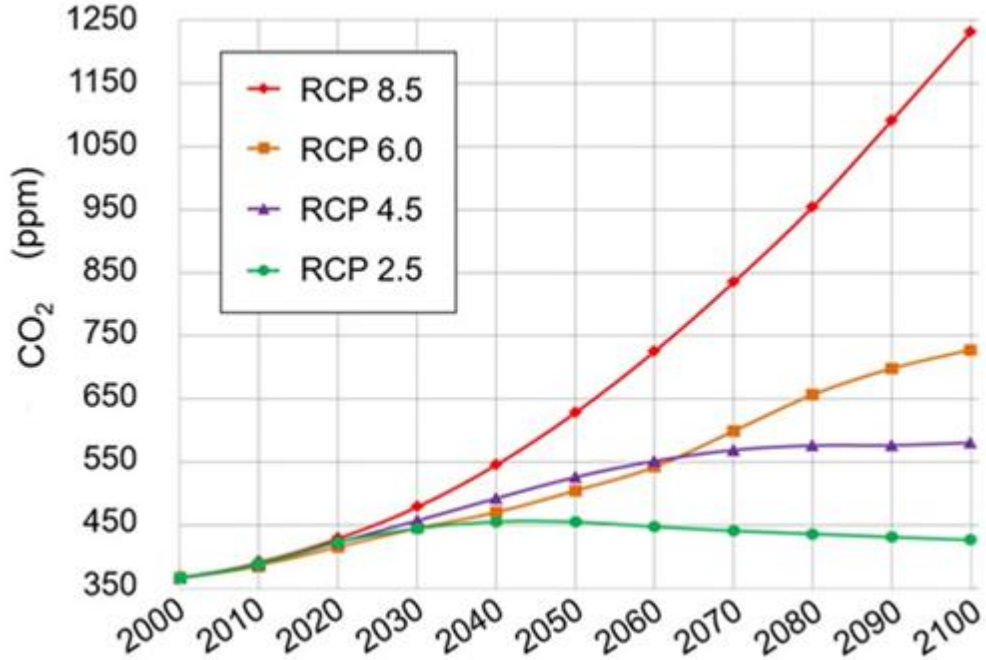
Son yüz yılda, antropojenik CO₂'in sadece yarısı atmosferde kalmıştır; diğ er yarısı karasal biyosfer (yaklaşık % 20) ve okyanuslar (yaklaşık % 30) tarafından absorplanmıştır (Feely ve diğ., 2004; Sabine ve diğ., 2004). Atmosfere salınan antropojenik karbon atmosferik karbondioksitin artmasına neden olmaktadır. Atmosferik CO₂ konsantrasyonunun yaklaşık olarak yüzde otuzu okyanuslar tarafından absorplanmaktadır (Sabine ve Feely, 2007; Sabine ve diğ., 2004). Okyanusların ve denizlerin CO₂ konsantrasyonunun artması sonucu, "okyanus asitlenmesi" olarak adlandırılan, deniz karbonat kimyasında değişimler ve deniz suyu pH'ında azalma durumu olarak tanımlayabileceğimiz olay meydana gelmektedir (Caldeira ve Wickett, 2005; Andersson ve diğ., 2005; Orr ve diğ., 2005; Doney ve diğ., 2009).

Sera gazlarının insan faaliyetleri sonucunda çevreye yayılması ve birikmesi yer kabuğunda iki büyük küresel etki meydana getirmektedir: okyanus asitlenmesi ve küresel iklim değişikliği (daha dar bir tanımla: küresel ısınma). Bu nedenle okyanus asitlenmesi için İngilizcede “evil twin” terimi küresel ısınmanın kötü ikizi anlamında kullanılmaktadır. Atmosferde ve dolayısıyla deniz suyunda CO₂ gazı artışı sonucunda deniz suyunda oluşan asitlenme geçen yüzyıldan beri bilinmesine karşın 2000’li yıllardan beri önemi anlaşılmıştır. Hatta “Okyanus asitlenmesi” terimi ilk kez 2005 yılında kullanılmıştır (Caldeira ve Wicket, 2005).

Okyanus asitlenmesi ile küresel ısınma arasındaki temel fark; okyanus asitlenmesinin nedeni sadece CO₂ artışı iken küresel ısınmaya tüm sera gazlarının (karbon dioksit [CO₂], metan [CH₄], diazot monoksit [N₂O], hidroflorür karbonlar [HFC_s], perflorür karbonlar [PFC_s], sülfürhekza florit [SF₆]) neden olmasıdır. Ortalama küresel sıcaklıklar, geçen yüzyıl boyunca yaklaşık 0,7 °C artmıştır ve 21. yüzyıl boyunca dünya yüzeyinde sıcaklığın ortalama 3°C artması beklenmektedir (IPCC, 2007). Atmosferdeki artan CO₂ seviyesi, ortalama hava ve yüzey okyanus sıcaklıklarının artması dahil olmak üzere diğer küresel değişikliklere yol açmaktadır (IPCC, 2007). Hidrolojik çevrimi ve rüzgâr rejimlerini yönlendiren yağış ve buharlaşma oranlarının da etkilenmesi beklenmektedir (Roessig ve diğ., 2004). Okyanuslarda, karışık yüzey tabakasının ısınmasından dolayı deniz yüzeyi sıcaklığı için benzer eğilimler beklenmektedir (Levitus ve diğ., 2005) ve deniz seviyesinin, eriyen buz nedeniyle yükselmesi beklenmektedir. Dahası, okyanuslar antropojenik CO₂'in yaklaşık % 30'unu absorbe eden ana karbon birikim bölgeleri olduğundan, deniz yüzeyi CO₂ kısmi basıncının da (pCO₂) artması beklenmektedir (Sabine ve diğ., 2004). Bu durumun, deniz suyu karbonat kimyasında büyük değişimlere neden olma olasılığı yüksektir (Caldeira ve Wickett, 2005).

Okyanus asitlenmesi, atmosferik pCO₂ yükselmesinin neden olduğu bir sonuçtur. Zamana bağlı olarak antropojenik CO₂, pH ve kalsiyum karbonat (CaCO₃) ölçümleri, modeller ve hidrografik araştırma verileri derlenerek okyanus yüzey sularının asitlendiği doğrulanmıştır (Caldeira ve Wickett, 2003, 2005; Feely ve diğ., 2004, 2008; Orr ve diğ., 2005; Solomon ve diğ., 2007). Yapılan çalışmalar, antropojenik CO₂'in okyanuslar tarafından absorplanması ve deniz suyu kimyasında meydana gelen değişikliklerin, birçok kalsifikasyon yapan organizma için olumsuz sonuçlara neden olduğunu ve biyolojik çeşitlilik, trofik etkileşimler ve diğer ekosistem süreçlerinde değişikliklere yol açabileceğini göstermektedir (Royal Society, 2005; Kleypas ve Langdon, 2006).

Atmosferik CO₂ salınım miktarları ve buna bağlı olarak gerçekleşen okyanus asitlenmesinin derecesi ile ilgili çeşitli modellemeler yapılmaktadır (IPCC, 2007). Okyanus asitlenmesi deneylerinde kullanılan *p*CO₂ değerleri, antropojenik CO₂ salınımına bağlı olarak geliştirilen modellemelerle gelecekteki makul atmosferik *p*CO₂ ölçütlerine dayanmaktadır. Emisyon Senaryoları Raporu'ndaki Hükümetlerarası İklim Değişikliği Paneli (IPCC, 2007) (SRES: Special Report on Emissions Scenarios), nüfus ve ekonomik büyüme, teknoloji geliştirme oranları ve toplumsal tutumlara dayanan 2100 yılına kadar fosil yakıt CO₂ emisyonu öngören senaryoları ana hatlarıyla ortaya koymuştur. SRES raporlarında, kullanılan senaryoya ve kullanılan karbon döngüsü modeline bağlı olarak 22. yüzyılda, *p*CO₂ sürekli bir artışla ~530 ila 970 ppm arasında değişkenlik göstereceği belirtilmiştir. Bu modellemelerden elde edilen sonuçların derlemesi Şekil 2.1'de verilmiştir. Modellemelere göre, atmosferik CO₂ salınımının bu şekilde devam etmesi durumunda, bu yüzyılın sonuna kadar açık okyanus yüzey suları için pH'da endüstrileşme öncesi ortalama değer olan pH 8,17'nin yaklaşık 0,42 pH birimlik bir düşüş göstermesi ve ilgili *p*CO₂ seviyesinin yaklaşık 930 µatm olması öngörülmektedir (RCP 8,5; Pörtner ve diğ., 2014).



Şekil 2.1: Hükümetlerarası İklim Değişikliği Paneli (IPCC) tarafından CO₂ emisyonu için öngörülen senaryolar (Bopp ve diğ., 2013).

Halihazırda endüstri öncesi dönemden bu yana, okyanus yüzeyi suyu ortalama pH değeri yaklaşık 0,1 birim azalmış, 8,21'den 8,10'a düşmüştür (Royal Society, 2005) ve eğer atmosferik CO₂ konsantrasyonu 800 ppm'ye (İklim Değişikliği Hükümetlerarası Paneline (IPCC) göre normal emisyon senaryosu uyarınca öngörülen yüzyıl sonu konsantrasyonu) ulaşması durumunda 0,3-0,4 pH birimi daha düşürmesi beklenmektedir (Caldeira ve Wickett, 2005; Caldeira ve diğ., 2007; Feely ve diğ., 2008; Orr ve diğ., 2005; Gattuso ve diğ., 2014; Pörtner ve diğ., 2014). pH ölçeği logaritmiktir ve pH'daki her bir birim düşüş, asitlikte 10 kat artışa eşit olmaktadır. Bu nedenle asitlenmede meydana gelmiş olan artış % 26 değerine ulaşmıştır. Günümüzdeki atmosferik CO₂ artışı, geçtiğimiz 300 milyon yılda insan etkisinde olmayan çeşitli doğal yollarla meydana gelmiş CO₂ artışları ile kıyaslandığında en hızlı artışı göstermesi durumun ciddiyeti hakkında fikir vermektedir (Hönisch ve diğ., 2012).

Araştırmalar okyanus CO₂ konsantrasyonu ile atmosferik CO₂ konsantrasyonu arasında bir dengenin olduğunu, bu denge sayesinde deniz canlılarının kalsit (kalsiyum karbonattan kabuk veya iskelet yapısına sahip çoğu organizmanın CaCO₃ mineral tipi) konsantrasyonu değişmediği sürece çok etkilenmeyeceği vurgulanmaktadır. Bununla birlikte, daha kısa zaman dilimlerinde, önemli ölçüde yavaşlamanın ya da gelecekteki okyanus asitlenmesini önlemenin tek yolu, insan faaliyetlerinden atmosfere CO₂ salınımını azaltmaktır. Şu anda, mevcut küresel politik ve sosyoekonomik durum nedeniyle, CO₂ emisyonlarında büyük bir düşüş olması pek olası değildir (Clarke ve diğ., 2007). Bu nedenle, yüzey deniz suyu pH'ı, büyük bir toprak yüzey sistemi karbon rezervuarındaki böyle bir değişikliğin tüm ekolojik etkileri ile birlikte, emisyonlar azalınca ve atmosferik CO₂ konsantrasyonu stabilize olana kadar düşmeye devam edecektir.

Kuzey Avrupa'da, iklim değişikliğinin ana senaryosu daha ılıman, yağışlı ve fırtınalı kışlar şeklinde öngörülmektedir (IPCC, 2007). İklimsel etkinin kışlara oranla daha az belirgin olması beklense de, yazlar daha sıcak ve daha kuru olabilmektedir (Jonsson ve Jonsson, 2009). Eş zamanlı olarak, artan çökeltiler doğrudan ve dolaylı olarak deniz kıyı bölgesini etkileyerek, tuzlulukta bir düşüşe neden olur ve çevrede artan tarımsal akıntıya bağlı hipoksik olaylar veya antropojenik faktörleri artırır (Harley ve diğ., 2006). Bu nedenle, deniz biyotasının artan deniz suyu sıcaklığı, pCO₂ ve ağır metal kirliliği gibi iyi bilinen antropojenik stres koşullarının sinerjistik-antagonistik veya eklemeli etkilerine maruz kalması beklenmektedir. Yüksek verimli kıyı bölgeleri, ekolojik ve ticari öneme sahip birçok deniz

türünün yaşamını devam ettirdiği bölgeler olduğu için (Dunn, 1999), birden fazla stresör arasındaki etkileşimi incelemek, kıyı ekosistemlerinin geleceğini yansıtmak için kritik öneme sahiptir (Dupont ve diğ., 2010; Harley ve diğ., 2006). Ek olarak, radyonüklidlerin, stabil izotopları ile ilgili ekotoksikolojik özellikleri nedeniyle özel bir önemi söz konusudur.

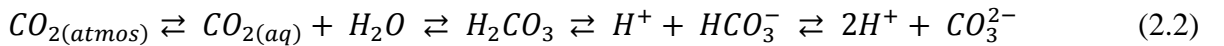
2.1.OKYANUS KARBONAT KİMYASI

Deniz yüzey suyu normal şartlarda hafif baziktir. Yakın gelecek (300 yıl) için yapılan model çalışmalara göre yükselen CO₂ etkileri ile bile asidik olması beklenmemektedir. Okyanus asitlenmesi terimindeki “asitlenme” aslında deniz suyunun bazikliğindeki azalmayı ifade etmek için kullanılmaktadır. Okyanusların karbonat sistemi (pCO₂, pH, alkalinite ve kalsiyum karbonat doygunluk hali) antropojenik CO₂ artışına bağlı olarak hızla değişmektedir (Skirrow ve Whitfield, 1975; Broecker ve diğ., 1979; Feely ve Chen, 1982; Feely ve diğ., 1982; Kleypas ve diğ., 1999; Caldeira ve Wickett, 2003; Feely ve diğ., 2004; Orr ve diğ., 2005).

Deniz suyu inorganik karbon sistemi okyanustaki en önemli kimyasal dengelerden birini oluşturmaktadır ve deniz suyunun pH'ını kontrol edilmesinde büyük oranda sorumludur. Çözünmüş inorganik karbon (DIC), deniz suyunda üç ana formda bulunur: bikarbonat iyonu (HCO₃⁻), karbonat iyonu (CO₃²⁻) ve karbonik asit de içeren sulu karbon dioksit (CO₂(aq)). pH 8,2 değerinde, inorganik karbonun yaklaşık % 88'i bikarbonat iyonu formunda, % 11'i karbonat iyonu ve sadece yaklaşık % 0,5 çözünmüş CO₂ formunda bulunur.

$$C_T = [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}] + [CO_2] \quad (2.1)$$

Deniz suyu karbonat kimyası temel olarak aşağıdaki kimyasal reaksiyonlar ile düzenlenmektedir;



Yaklaşık bir yıllık bir zaman diliminde yüzey suyu CO₂ konsantrasyonu ve atmosferik CO₂ seviyeleri arasındaki CO₂ gaz değişimi dengelenmektedir. Atmosferik CO₂ deniz suyunda çözüldükten sonra, karbonik asit (H₂CO₃) oluşturmak üzere suyla reaksiyona girer, bu bileşik daha sonra bikarbonat (HCO₃⁻) ve karbonat (CO₃²⁻) iyonları oluşturmak üzere hidrojen iyonlarını kaybederek ayrışabilir. Deniz suyu reaksiyonları tersinirdir ve dengeye yakındır (Millero ve diğ., 2002). Deniz suyuna CO₂ eklemek; suda çözünmüş CO₂, bikarbonat ve

hidrojen iyonu konsantrasyonlarını artırır; hidrojen iyon konsantrasyonunun artması pH'ı düşürür çünkü $\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}^+]$ olarak ifade edilmektedir (Millero ve diğ., 2002). Bununla birlikte, karbonat iyon konsantrasyonu, artan H^+ konsantrasyonundan dolayı azalır. 21. yüzyıl için öngörülen 0,3-0,4 birim pH düşüşü, H^+ 'da yaklaşık % 150'lik bir artışa ve karbonat (CO_3^{2-}) konsantrasyonunda % 50'lik bir düşüşe eşit olmaktadır (Orr ve diğ., 2005).



Eşitliğiyle deniz suyu karbonat miktarı azalır fakat pH değerinde değişiklik olmaz. 2.2 ve 2.3 nolu reaksiyonların deniz suyunda devamlı olarak meydana gelmesi sonucunda toplam karbonat miktarında ve pH değerinde azalma gözlemlenir.

Denizel ortamın atmosferik CO_2 'i absorbe etmesi, su kolonu veya sedimentteki CaCO_3 çözünmesinin derecesine bağlıdır:



CO_2 ve deniz suyu arasındaki reaksiyon, mercanlar, yumuşakçalar, ekinodermiler ve kabuklular gibi deniz canlılarında CaCO_3 kabuk ve iskelet yapılarında bulunan karbonat iyonlarının miktarının azalmasına neden olur. Mineral CaCO_3 , plankton, mercan, koralin algler ve diğer birçok omurgasız hayvan dahil olmak üzere, deniz organizmalarının kabuklarını ve dış iskelet yapısını oluşturmaktadır. Pelajik ortamlarda, karbonatlar su kolonundan alt bölgelere, dip kısma doğru düşer ve sığ veya derin deniz sedimentlerinde çözünür veya biriktirilir (Berelson ve diğ., 2007, Feely ve diğ., 2004). CaCO_3 oluşma ve çözünme oranları, kalsiyum ve karbonat iyon konsantrasyonlarının iyon ürünü olarak tanımlanan doyma durumuna (Ω) göre değişir:

$$\Omega = \frac{[\text{Ca}^{2+}][\text{CO}_3^{2-}]}{K'_{sp}} \quad (2.5)$$

Kalsiyum karbonat yapıdaki çözünürlük K'_{sp} ; sıcaklık, tuzluluk, basınç ve mineral fazına bağlıdır. Aragonit kalsitten yaklaşık % 50 daha fazla çözünme eğilimine sahiptir (Mucci, 1983). Bu bakımdan kalsiyum karbonat iskeleti aragonit tipi minerallerden oluşmuş deniz canlıları, kalsit tipi minerallerden oluşmuş olanlara göre okyanus asitlenmesine karşı daha duyarlıdır. $[\text{Ca}^{2+}]$, tuzlulukla yakından orantılı olduğundan, Ω büyük ölçüde, DIC ve toplam alkalilik verilerinden hesaplanabilen $[\text{CO}_3^{2-}]$ 'deki değişiklikler ile belirlenmektedir. Kabuk ve

iskelet oluşumu genellikle $\Omega > 1$ olduğu durumlarda meydana gelirken, $\Omega < 1$ olduğu durumlarda kabuk çözünmesi meydana gelmektedir (canlı kabukları veya iskeletleri, organik koruyucu maddeler tarafından korunmadığı sürece). Doyma durumu, deniz suyundaki kalsiyum karbonatın çökertilmesi için deniz suyu kapasitesinin bir ölçüsü olup pH, sıcaklık, tuzluluk ve basınçtan etkilenir; $\Omega > 1$ ise süperdoyma, $\Omega = 1$ ise doyma, $\Omega < 1$ ise az doyma durumu söz konusudur. Akdeniz midyesi *Mytilus galloprovincialis* üzerinde uzun süre (yıllar mertebesinde) yapılan bir deneyde, okyanus asitlenmesinin, yaz mevsiminde, dış kabuğu kapsayan koruyucu organik bir tabaka olan periostrakumun kaybedilmesiyle, kabuk ve yumuşak dokuyu içeren vücut büyümesi üzerinde bir etkiye sahip olduğu gözlenmiştir (Gazeau ve diğ., 2014).

Doyma durumları (Ω) ılığ, ılık ve tropik sularda en yüksek ve soğuk enlem bölgelerinde ve derinlerde en düşük seviyededir; derin ve soğuk enlem bölgelerinde CaCO_3 çözünürlüğü azalan sıcaklık ve artan basınçla orantılı olarak değişiklik göstermektedir (Feely ve diğ., 2004). Aragonit ve kalsit doyma horizonları ($\Omega = 1$ olduğu derinlik), daha uzun derin su sirkülasyon yolları ve dolayısıyla solunan CO_2 'den daha fazla DIC birikmesi nedeniyle, Hint ve Pasifik Okyanuslarında Atlantik Okyanusunda olduğundan daha düşüktür (Broecker, 2003). Denizlerin ve okyanusların soğuk bölgelerinin okyanus asitlenmesi bakımından bir diğer dezavantajı soğuk suda CO_2 'in çok daha hızlı çözünmesidir.

Okyanus asitlenmesinden farklı olarak literatürde “coastal acidification” olarak bilinen körfezlerde, haliçlerde ve kıyı bölgelerdeki asitlenmeden de söz etmek gerekir. Kıyılarıdaki yüksek üretkenlik nedeniyle aerobik organizmalar O_2 'yi kullanarak CO_2 artışına neden olmaktadır. Bu olay atmosferik CO_2 artışı kaynaklı “okyanus asitlenmesi”nde olduğu gibi $p\text{CO}_2$ artışına neden olmaktadır. Kıyılarıdaki toprak ve kayaların denize taşınması (run-off) ve akarsularla taşınması da kıyı bölgelerinde asitlenmeye neden olabilir. Kıyısal antropojenik kirlilik de kıyılarıda asitlenmeye neden olabilmektedir. Yukarıdaki nedenlerle kıyısal alanlarda ortalama okyanus yüzey suyu pH değerinden (8,1) çok daha düşük pH değerleri rapor edilmiştir. Örneğin, Kılıç ve diğ. (2014) ve Cai ve diğ. (2011) sırasıyla haliç ve kıyısal bölge yüzey suyunda 7,50 ve 7,60 değerlerini rapor etmiştir.

Bu nedenle her ne kadar bu çalışma “okyanus asitlenmesi” temelinde kurulmuş olsa da atmosferik CO_2 artışı nedenli olmayan deniz suyu asitlenmelerinin etkilerini de kapsamaktadır.

2.2.OKYANUS ASİTLENMESİNİN DENİZ ORGANİZMALARINA ETKİLERİ

Okyanus asitlenmesinin öneminin tam olarak anlaşılamadığı 2000'li yıllardan önce yapılmış ilk çalışmalarda kalsiyum karbonat dış iskelete veya kabuğa sahip organizmaların değişmiş deniz suyu karbonat kimyasına verdikleri tepkiler araştırılmıştır (Agegian, 1985; Borowitzka, 1981; Fabry, 1990; Smith ve Roth, 1979). Ancak yapılmış olan bu çalışmalarda genellikle antropojenik CO₂ ile ilgili olmayan nedenlerden dolayı meydana gelen deniz suyu karbonat kimyası değişiklikleri incelenmiştir. Atmosferik CO₂ etkilerini test etmek için özel olarak tasarlanmış birkaç çalışma, mercanlar (Gattuso ve diğ., 1998; Langdon ve diğ., 2000; Marubini ve Atkinson, 1999; Marubini ve Davies, 1996), mercan resif toplulukları (Langdon ve diğ., 2000, 2003; Leclercq ve diğ., 2000) ve planktonik organizmalar (Riebesell ve diğ., 2000) üzerinde yapılmış ve potansiyel olarak etkili çalışmalar olmuştur.

İki kabuklu yumuşakçalar ekolojik ve ticari öneme sahip canlılardır. Kabuklu deniz ürünleri yetiştiriciliği Akdeniz ülkeleri için özellikle önemli bir ekonomik etkinliktir. Ayrıca, kabuklu yumuşakçalar, suyun berraklığının ve birincil üretimin kontrolünün sağlanmasında önemlidir ve bentik organizmalar için habitat oluşturmaktadır. Bundan dolayı ekosistem içerisinde önemli bir göreve sahiptir. Bununla birlikte, bivalv türlerinin okyanus asitlenmesine karşı duyarlılığını veya direncini etkileme potansiyeline sahip hidrolojik ve karbonat kimyası koşullarına rağmen, Akdeniz'de okyanus asitlenmesinin etkisine ilişkin çalışma sayısı oldukça azdır. Omurgasız canlıların larvaları çevresel değişimlere karşı hassastır (Qiu ve diğ., 1997). Okyanus asitlenmesinin çoğu kabuklu larvaları üzerinde üreme, yumurtalama, hayatta kalma, kabuk yapısı, kabuk büyüklüğü gibi fonksiyonlarında önemli oranda azalmaya neden olduğu görülmüştür (Kroeker ve diğ., 2013). Okyanus asitlenmesinin bu canlılar üzerindeki kirleticilerin özellikle metal ve / veya radyonüklid biyobirikimi üzerine yapılmış olan çalışma sayısı daha da kısıtlıdır (Lacoue-Labarthe ve diğ., 2009a, 2009b, 2011, 2012, 2018; Belivermiş ve diğ., 2016; Shi ve diğ., 2016; Horwitz ve diğ., 2014; Pascal ve diğ., 2010).

CaCO₃ iskelet veya kabuk yapısına sahip organizmalar, genellikle deniz suyu kalsiyum karbonat konsantrasyonundan etkilenmektedir ve canlıların biyomineralizasyon üzerinde farklı derecelerde etkilere sahiptir (Blue ve diğ., 2017). Çeşitli kalkerli organizmalar için asitlenmenin ardından (aragonit veya kalsit $\Omega > 1$ olduğunda bile) yavru ve ergin bireylerde

kabuk çözünmesi veya larval aşamada kabuk oluşumunda sorunlar gözlenmiştir (Royal Society, 2005; Kleypas ve diğ., 2006; Fabry ve diğ., 2008). Bununla birlikte, duyarlılık derecesi türlere göre değişmektedir ve bazı taksonların, 21. yüzyılda gerçekleşmesi öngörülen CO₂ seviyelerinde kalsifikasyonda azalma göstermeyebileceği belirtilmiştir (Iglesias-Rodriguez ve diğ., 2008; Ries ve diğ., 2008).

OA ayrıca asit-baz dengesi, enerji metabolizması, redoks dengesi ve davranış gibi deniz organizmalarının fizyolojisini diğer özelliklerini de etkileyebilir (Ishimatsu ve diğ., 2008; Sokolova ve diğ., 2015). OA'nın deniz organizmalarının fizyolojisi üzerindeki bu farklı ve küresel etkileri, OA'nın aynı moleküler ve fizyolojik yolları etkileyen kirleticilerle fizyolojik etkileşimleri için güçlü bir temel oluşturmaktadır.

Kalsifikasyon, ortamda bulunan fazla miktarda H⁺ konsantrasyonundan ve pH azalması durumunda zarar görmektedir (Thomsen ve diğ., 2015; Bach, 2015). Deniz suyundaki yüksek CO₂ konsantrasyonu, vücutta çözünen CO₂ miktarının artmasına neden olacaktır. Canlı normal metabolik süreçlerini devam etmek ve bir düzene sokabilmek için daha fazla enerjiye gereksinim duyacaktır (Pörtner ve diğ., 2004; Melzner ve diğ., 2009). Bu tür enerji değişimleri, sırayla, birçok yumuşakçada kabuk oluşumunda sadece kalsiyum karbonat polimorflarının çökmesini değil, aynı zamanda kayda değer miktarda organizmanın enerji kaynağının kullanılmasına neden olan organik matrisin sentezini de içerdiğinden, dolaylı şekilde biyomineralizasyonu etkileyebilir (Palmer, 1992; Thomsen ve diğ., 2013; Waldbusser ve diğ., 2013; Thomsen ve diğ., 2015).

Artan enerji talebini telafi etmek ve karşılamak için, gıda alımını arttırmak, canlının yeterli yiyeceğe ulaşması gereklidir. Yüksek gıda oranlarının, okyanus asitlenmesinin kalsifikasyon üzerindeki olumsuz etkileri bakımından canlılar için önemli olduğu ve organizmaların enerji gerekliliği ile bağlantı olduğunu gösterilmiştir (Stumpp ve diğ., 2011; Hettinger ve diğ., 2013; Thomsen ve diğ., 2013; Waldbusser ve diğ., 2013; Towle ve diğ., 2015; Ramajo ve diğ., 2016). Bununla birlikte, yüksek pCO₂'ye maruz kalmanın, birkaç kalsifikasyon yapan omurgasızdaki sindirim ve yutma oranlarına zarar verdiğine ve muhtemelen gıda alımını sürdürme veya artırma potansiyelini sınırladığına dair artan kanıtlar vardır (Navarro ve diğ., 2013; Vargas ve diğ., 2013; Stumpp ve diğ., 2013; Zhang ve diğ., 2015; Clements, 2016).

Okyanus asitlenmesinin olumsuz etkilerini telafi etmek için deniz organizmalarında artan enerji asimilasyonu artan enerji talebini telafi edemezse, organizmalar bir enerji koruma mekanizması olarak metabolizmalarını aşağı doğru düzenleyebilir ("metabolik depresyon"). Alternatif olarak mevcut enerji, fizyolojik fonksiyonlar ve dokular arasında yeniden tahsis edilebilir (Stumpp ve diğ., 2011; Sokolova ve diğ., 2012; Dorey ve diğ., 2013). Homeostatik işlemler için daha fazla enerjiye ihtiyaç duyulması; büyüme, hücresel yapıların ve dokuların tamiri veya üreme gibi anabolik süreçler için gerekli enerjinin azaltılmasına ve dolayısıyla bu süreçlerin yavaşlatılmasına neden olabilir (Sokolova ve diğ., 2012). Midyeler, gastropodlar ve deniz kestaneleri yüksek CO₂ ile başa çıkabilmek için büyümelerini azaltmaktadırlar (Thomsen ve Melzner, 2010; Stumpp ve diğ., 2011, 2012; Zhang ve diğ., 2015). Organizmanın farklı fizyolojik işlemlerde kullandığı enerji miktarı ve enerji kısıtlamaları hakkında bilgi bu nedenle, türlerin duyarlılığını veya yüksek pCO₂'ye karşı olan toleransı mekanik olarak anlamak için önemlidir, bu da doku özelliklerini tüm organizma yanıtlarına entegre eden çalışmaların gerekliliğini vurgulamaktadır (Harvey ve diğ., 2014; Pan ve diğ., 2015).

Genellikle, kalsiyum karbonat oluşumu; fotosentez veya başka fizyolojik çalışmalarda, deniz biyotası üzerindeki yüksek CO₂ tepkisi çalışmalarının çoğu, saatler ile haftalar arasında değişen kısa süreli deneyler olmuştur. Artmış pCO₂'ye uzun süre maruz kalmanın kalkerli organizmaların büyümesi ve metabolik süreçleri üzerinde karmaşık etkileri olabilir ve bu durum kısa süreli deneylerde gözlenmeyebilir. Bununla birlikte, bu tür laboratuvar deneyleri, tek veya çoklu çevresel değişkenlerin yüksek kontrollü ortamlarda test edilmesini sağlar ve türlerin artan CO₂ konsantrasyonuna veya azalan pH'ya karşı hassasiyetlerini tanımlamak için gereklidir.

Organizmaların okyanus asitlenmesine tepki gösterip göstermediği ve nasıl tepki gösterdiğine dair bilgilerin geliştirilmesi ihtiyacının yanı sıra, türlerin iklimlendirme veya genetik adaptasyon potansiyeline sahip olup olmadıklarını gerçekçi bir şekilde tahmin etmek için uzun vadeli ve birkaç nesil içeren çalışmalara ihtiyaç vardır (Kelly ve Hofmann, 2012). Hızlı iklim değişikliğinden dolayı, bivalvler veya ekinodermiler gibi nispeten uzun yaşayan organizmaların evrimsel adaptasyonunun, yeni mutasyonlardan ziyade mevcut genetik varyasyona dayanması daha olasıdır (Lande ve Shannon, 1996; Pespeni ve diğ., 2013).

Okyanus asitlenmesinin deniz faunası üzerindeki etkileri genellikle geniş ve türe özgüdür ve genellikle çalışılan popülasyon (Harvey ve diğ., 2013; Kroeker ve diğ., 2013), yaşam evresi (Baumann ve diğ., 2012; Scanes ve diğ., 2014), maruz kalma süresi (Dupont ve Thorndyke, 2012; Form ve Riebesell, 2012), doğal habitat değişkenliği (Pansch ve diğ., 2014), nesiller arası maruz kalma (Miller ve diğ., 2013; Thor ve Dupont, 2015) ve diğer çevresel faktörlerle etkileşimler (Dahlke ve diğ., 2017; Dickinson ve diğ., 2012) gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Wood ve diğ., 2016). Kalsiyum karbonat iskelet ve diğer yapıların oluşumu ve stabilitesi, muhtemelen okyanus karbonat kimyasındaki öngörülen değişikliklerden zarar görecektir (Orr ve diğ., 2005; Waldbusser ve diğ., 2015). Ek olarak, çok sayıda çalışma, okyanus asitlenmesinin, dış iskeletinde kalsiyum karbonat biriktiren deniz organizmalarında (Stump ve diğ., 2012; Dorey ve diğ., 2013) enerji kullanım miktarının homeostazın düzenlenmesinde kullanılacak enerji artacağı için daha fazla enerjiye ihtiyaç duyulacağını göstermektedir (Ivanina ve diğ., 2013; Thomsen ve diğ., 2013; Waldbusser ve diğ., 2013). Okyanus asitlenmesinin enerji metabolizması üzerindeki etkileri, yüksek gıda (yani enerji) mevcudiyetinin, olumsuz CO₂ etkilerinden daha etkili olabileceğini gösteren son araştırmalarla da desteklenmektedir (Hettinger ve diğ., 2013; Ramajo ve diğ., 2016; Thomsen ve diğ., 2013). Bununla birlikte, bu enerji değişimlerine neden olan temel fizyolojik süreçler henüz tam olarak anlaşılmamıştır.

Canlıda asit-baz dengesinde bozulma ve fazla CO₂'in neden olduğu potansiyel olarak enerji ihtiyacındaki artış, OA şartları altındaki enerji alışverişinde birincil neden olarak görülmektedir (Melzner ve diğ., 2009; Pörtner, 2008). Deniz ektotermik organizmaları difüzyon düzenlemeleri yoluyla metabolik CO₂'i ortadan kaldırır, böylece deniz suyunun yüksek *p*CO₂'yi vücut sıvılarında da yüksek bir *pe*CO₂'ye (hücre dışı CO₂ basıncı) yol açmaktadır (Melzner ve diğ., 2009; Pörtner ve diğ., 2004). Bu, hücre dışı (*p*He) ve hücre içi boşlukta (*p*Hi) pH düşüşüne neden olmaktadır (Larsen ve diğ., 1997; Michaelidis ve diğ., 2005). Yüksek seviyelerde bikarbonat nedeniyle, hücre içi boşluğun tamponlama kapasitesi genellikle tüm deniz ektotermilerinde yüksektir (Heisler, 1986), ancak *p*He tamponlama için yüksek bir kapasite, yüksek metabolik oranlarla ve aktif bir yaşam tarzı ile ilişkili gibi görünmektedir (Melzner ve diğ., 2009) ve esas olarak balık gibi deniz omurgalılarında bulunmaktadır (Esbaugh ve diğ., 2012; Larsen ve diğ., 1997). Ayrıca sefalopodlarda (Gutowska ve diğ., 2010; Hu ve diğ., 2014) ve bazı kabuklularda (Pane ve Barry, 2007; Rastrick ve diğ., 2014) bulunabilir. Buna karşılık, OA konusunda en çok çalışılan sesil

kalsiyum karbonat yapısına sahip türler, yüksek $p\text{CO}_2$ 'ye yanıt olarak $p\text{He}$ 'nin hasara neden olabileceğini göstermektedir (Lannig ve diğ., 2010; Miles ve diğ., 2007). Yapılan çalışmalar da kalsiyum karbonat yapısına sahip sesil türlerin, potansiyel olarak okyanus asitlenmesine karşı artan hassasiyetleri gözlemlenmiştir (Melzner ve diğ., 2009; Pörtner, 2008; Widdicombe ve Spicer, 2008). pH değerindeki azalmanın fazla olması ve canlı adaptasyonunun düşük olması, metabolik depresyona veya alternatif olarak asit-baz ve iyon-düzenleyici işlemlerde artan enerji ihtiyaçlarına yol açabilir (Michaelidis ve diğ., 2005; Reipschläger ve Pörtner, 1996). Çünkü, canlı tarafından telafi edilemeyecek pH değerleri, $p\text{Hi}$ 'yi azaltır, enerjinin çok kullanılmasına neden olan iyon pompaları vücut epitelinde proton eşdeğer iyon değişiminin yükseltilmesini gerektirir (Melzner ve diğ., 2009). Sonuç olarak, hücrelerin, dokuların ve dolayısıyla tüm vücutta enerji bütçelerini zorlayabilir (Pan ve diğ., 2015; Stumpp ve diğ., 2012). Tüm canlı üzerindeki etkileri ve fizyolojik mekanizmalardaki değişimlerin bilgisi, ekolojik sonuçları tahmin etmenin anahtarıdır (Pörtner, 2008; Sokolova ve diğ., 2012).

Ekotoksikoloji ve risk değerlendirme çalışmalarında, erken yaşam evrelerinin metal kirlenmesine en duyarlı dönem olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (Calabrese ve diğ., 1973; Warnau ve diğ., 1996). Son zamanlarda, bir çalışma grubu, gelişmekte olan sistemik asit-baz düzenlemesinin henüz tam olarak etkili olmadığı (Pörtner ve Farrell, 2008) için embriyoların ve larvaların hiperkapniden (kanda CO_2 fazlalığı) (Dupont ve diğ., 2008; Kurihara, 2008) etkilendiğini göstermiştir.

Okyanus sularının sıcaklık ve kimyasındaki CO_2 kaynaklı değişimlerin, deniz bivalvlerinin gelişimi, büyümesi ve metabolizmasını etkileyerek ölüm oranlarının artmasına, larval ve juvenil fazdaki bireylerin de büyüme oranlarının azalmasına, bozulmuş biyomineralizasyon üretimine, bazal metabolik faaliyetlerin devamlılığının sağlanabilmesi için gerekli enerji miktarının artmasına bağlı olarak yapılan çalışmalar canlıların güçlü şekilde etkilendiği gösterilmektedir (Michaelidis ve diğ., 2005; Dove ve Sammut, 2007; Gazeau ve diğ., 2007; Beesley ve diğ., 2008; Talmage ve Gobler, 2009; Beniash ve diğ., 2010; Gazeau ve diğ., 2010; Lannig ve diğ., 2010; Dickinson ve diğ., 2012). Yumuşakçaların fizyolojisinde CO_2 'nin neden olduğu değişikliklerin hücresel mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılmamıştır, ancak birden çok metabolizma yolu, biyomineralizasyon ve asit-baz dengesi içermesi olasıdır (Pörtner, 1993; Pörtner ve diğ., 2000; Pörtner, 2008). Yüksek $p\text{CO}_2$ 'nin metabolik etkileri, farklı türler arasında değişiklik göstermektedir (Dupont ve diğ., 2010; Hendriks ve diğ., 2010;

Kroeker ve diğ., 2010) ve deniz suyunda CO₂ konsantrasyonuna bağlıdır. Deniz bivalvlerinde, pCO₂'deki (> 1200 µatm) orta dereceli artışların metabolik oranlar üzerinde çok az etkisi olurken, daha yüksek pCO₂ seviyelerinin (> 5000 µatm) yüksek oksijen tüketimi (~ 2000–3500 µatm pCO₂'de) ve metabolik hız depresyonuna neden olabileceği sonucuna varılmıştır (Michaelidis ve diğ., 2005; Beniash ve diğ., 2010; Hendriks ve diğ., 2010; Thomsen ve Melzner, 2010). Oksidatif stres, hayvanlarda metabolik ve asit baz düzensizliklerinin ortak bir sonucudur ve bu nedenle yüksek sıcaklık ve CO₂ seviyelerine verilen fizyolojik tepkilerin bir göstergesi olabilir. Yüksek sıcaklıkla birlikte OA, genellikle deniz yumuşakçalarında, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşması ve detoksifikasyonu arasındaki uyumsuzluğa bağlı olarak oksidatif strese neden olur (Abele ve diğ., 1998; 2001; 2002; Heise ve diğ., 2003; Pohlmann ve diğ., 2011). Bu, hücrel redoks dengesindeki bozulmaların, yüksek sıcaklık ve CO₂ stresinin deniz yumuşakçaları üzerindeki olumsuz etkilerine katkıda bulunan ortak bir mekanizma olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, yüksek sıcaklık ve CO₂ seviyelerinin yakın gelecekteki küresel değişim senaryoları ile ilgili etkileşimli etkileri (IPCC, 2007) deniz yumuşakçalarında iyi anlaşılmamıştır ve daha fazla araştırma gerektirmektedir.

Hassas ve daha dirençli fenotipleri veya türleri tespit etmek, okyanus asitlenmesine karşı direnci artıran temel fonksiyonel özellikleri belirlemek için kullanılabilir (Applebaum ve diğ., 2014). Örneğin, iki farklı tür deniz kestanenin aynı CO₂ konsantrasyonuna maruz bırakılması durumunda, meydana gelen fizyolojik süreçlerin farklı olduğu tespit edilmiş, bu durum türlere özgü asit baz ve iyon düzenleme kapasiteleri ile ilişkilendirilmiştir (Calosi ve diğ., 2013). CO₂ konsantrasyonunun daha az olduğu durumlarda, canlılar asit baz düzensizliklerini telafi etme konusunda nispeten daha başarılıdır (Calosi ve diğ., 2013). Bu durum da, asit baz düzenlemesinin daha iyi olduğu canlılarda okyanus asitlenmesine karşı direnci sağlayan fizyolojik özellikler olabileceği hipotezini desteklemektedir (Melzner ve diğ., 2009; Pörtner, 2008).

Evrim açısından düşünüldüğünde antropojenik okyanus asitlenmesinin hızlı bir süreç olması, türlerin hayatta kalabilmek için hızlı bir şekilde adaptasyona uğramasını gerektirmektedir (Sunday ve diğ., 2014). Son zamanlarda yapılan araştırmalar, deniz omurgasızlarının genetik çeşitlilik (Kelly ve diğ., 2013; Pespenti ve diğ., 2013), nesiller arası esneklik (Thor ve Dupont, 2015) veya tükenme (yani farklı bir amaç için seçilen bir özellik ile uygunluk) içerisinde

mevcut olan mekanizmalar yoluyla okyanus asitlenmesine karşı hızlı uyum sağlama potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Cole ve diğ., 2016; Waldbusser ve diğ., 2015).

2.2.1. Okyanus Asitlenmesinin Deniz Canlılarında Doğrudan Etkileri

2.2.1.1. Enerji Metabolizması

Yüksek $p\text{CO}_2$ / düşük pH ve metal maruziyetinin enerji metabolizması üzerindeki birleşik etkilerini anlamak, OA'nın metal biyokullanılabilirliği ve toksisitesi üzerindeki etkilerini öngören mekanik temelli modellerin geliştirilmesi için önemlidir. Suda yaşayan organizmalarda metallerin alımı, solungaçlarda su bazlı metallerin alımı ile havalandırma oranları (bir organizmanın oksijen talebinden dolayı) ve ayrıca besin ile birlikte metallerin alımı, gıda oranlarının alımı ve asimilasyonu arasındaki pozitif korelasyon (organizmanın besin talebinden dolayı) nedeniyle doğrudan metabolik oranlarla ilgilidir. Daha önceki deneysel çalışmalar ve toksikokinetik modeller, sucul organizmalardaki metal alımının, metal özelliklerinden (yani kovalent indeks) ve türe özgü havalandırma oranlarından tahmin edilebilmesine rağmen (Veltman ve diğ., 2008; Wang ve diğ., 2011), hipoksi gibi çevresel stres faktörleri tarafından bozulabileceğini göstermektedir (Hattink ve diğ., 2005, 2006). Metabolik oranlardaki CO_2 'ye bağlı kaymalar bu nedenle metal birikimini etkileyebilir ve deniz organizmalarında $p\text{CO}_2$ 'ye bağlı metal birikiminin farklı şekillerine katkıda bulunabilir. Suda yaşayan organizmaların metabolizması $p\text{CO}_2$ ve / veya pH'a duyarlıdır; tipik olarak, orta dereceli hiperkapni ve asitlenme, değişmeyen veya yüksek metabolik hıza neden olurken, aşırı asitlenme, metabolik hız depresyonuna yol açmaktadır (Wood ve diğ., 2008; Munday ve diğ., 2008; Lannig ve diğ., 2010; Dissanayake ve Ishimatsu, 2011; Melatunan ve diğ., 2011; Stumpp ve diğ., 2011; Catarino ve diğ., 2012; Dickinson ve diğ., 2013; Matoo ve diğ., 2013; Hu ve diğ., 2014). Ayrıca, metal kirliliğinin yanı sıra pH'ın düşürülmesi, deniz organizmalarının solunum yüzeylerine zarar verebilir, bu da oksijen alımının daha düşük verimine ve dolayısıyla aktif ventilasyona daha fazla ihtiyaç duyulmasına neden olabilir (Lawson ve diğ., 1995; Giari ve diğ., 2007; Rodriguez-Romero ve diğ., 2014). $p\text{CO}_2$ 'nin metallerin dağılımı ve canlılardaki birikimi üzerindeki etkilerini araştıran çalışma sayısı oldukça sınırlı olmasına rağmen, mevcut birkaç çalışma $p\text{CO}_2$ 'nin deniz organizmalarında beslenme oranlarını ve asimilasyon verimliliğini etkileyebileceğini

göstermektedir (Vargas ve diğ., 2014; Houlbrière ve diğ., 2015). OA ve metallerin metabolizma ve deniz organizmalarının beslenme hızları üzerindeki etkileşimli etkilerini değerlendirmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır ve bu değerlendirme farklı OA senaryoları altında metal birikimi için fizyolojik temelli modellerin ayrılmaz bir parçası haline gelmelidir.

OA ve metal etkileşimlerinin metabolizma üzerindeki fizyolojik sonuçları, metal alımı ve birikimi üzerindeki etkilerin ötesindedir. Enerji düzenlenmesi, bazal metabolizma ve büyüme, üreme gibi diğer enerjiye bağlı fonksiyonları karşılamak için gerekli olan enerji ile gıda alımı ve katabolizma yoluyla elde edilen enerji arasında denge olması gereklidir. Bu dengenin sağlanabilmesi de çevresel stres faktörlerine karşı toleransın kilit bir belirleyicisidir (Sokolova ve diğ., 2012; Sokolova, 2013). Toksik metaller, deniz organizmalarının enerji dengesini olumsuz yönde etkileyen metabolik zehirler olarak bilinmektedir. Metal maruziyeti, stres proteinleri (metalotiyoninler, ısı şok proteinleri ve antioksidanlar gibi) üretmek ve hücre hasarı onarmak için canlının daha fazla enerjiye ihtiyaç duymasına neden olabilir. Metal maruziyeti ayrıca, substrat seviyesinde fosforilasyonun mitokondriyal hasarı ve / veya baskılanması nedeniyle ATP üretimini azaltabilir (Sokolova, 2004; Sokolova ve diğ., 2004; Cherkasov ve diğ., 2006; Ivanina ve diğ., 2008; Ivanina ve Sokolova, 2008; Ivanina ve diğ., 2009; Ivanina ve diğ., 2010; Adiele ve diğ., 2011). Ayrıca sistemik O₂ ve yiyecek alım mekanizmalarının bozulmasına (ör. solungaçlara veya sindirim epiteli ve kalp fonksiyonu hasarına) neden olabilir (Lawson ve diğ., 1995; Giari ve diğ., 2007; Lannig ve diğ., 2008). Yüksek CO₂'e maruz kalma, (Wood ve diğ., 2008; Munday ve diğ., 2008; Lannig ve diğ., 2010; Dissanayake ve Ishimatsu, 2011; Stumpp ve diğ., 2011; Catarino ve diğ., 2012; Dickinson ve diğ., 2013; Matoo ve diğ., 2013) bazal metabolizmanın düzenlenmesi için gerekli enerji miktarını artırır ve protein sentezi ve iyon nakli için yüksek enerji talebinden artmasına neden olmaktadır. Böylece, metallerin enerji dengesi üzerindeki olumsuz etkileri daha da artabilir (Pan ve diğ., 2015). Aksine, aşırı yüksek pCO₂ veya düşük pH tipik olarak metabolik hız depresyonuna neden olmaktadır (Michaelidis ve diğ., 2005; Hu ve diğ., 2014). Bu asitlenme kaynaklı metabolik baskılamının metal toksisitesi üzerindeki etkileri iyi anlaşılmamıştır ve pozitif (metal alım oranlarını düşürerek ve enerji rezervlerini koruyarak) veya negatif (azaltılmış ATP arzı, hücrelerin yeterli miktarda stres proteinini üretme yeteneğini sınırlarsa) olabilir.

OA ve metallerin enerji metabolizması üzerindeki etkileri kapsamlı bir şekilde çalışılmamıştır, ancak mevcut veriler metal-OA etkileşimlerinin görüşü ile enerji arzını ve talebini etkilemektedir ve metallerin çevresel açıdan ilgili aralıkta $p\text{CO}_2$ ile karşılaştırıldığında baskın metabolik modülatör olarak görünmektedir. Bu nedenle, sert deniz tarağı *M. mercenaria* ve istiridyeye *C. virginica*'da yüksek $p\text{CO}_2$ (~800 ve 1,500 μatm) ve Cd veya Cu'ya ($50 \mu\text{g L}^{-1}$) eş zamanlı maruz kalma, metalotiyoninlerin indüklenmesini ve yüksek protein sentezini gösteren proteazom aktivitesinin artmasını sağlamıştır (Götze ve diğ., 2014). İlginç bir şekilde, tek başına Cd maruziyeti, istiridyeye içindeki proteazomun tripsin benzeri ve kaspaz benzeri aktivitesinin inhibe edilmesine neden olurken, istiridyelerde kaspaz benzeri aktivite, yüksek $p\text{CO}_2$ ile hafif fakat önemli ölçüde uyarılmıştır. Yüksek $p\text{CO}_2$, Cd'nin istiridyeye proteazomunun tripsin benzeri ve kaspaz benzeri aktivitesi üzerindeki inhibe edici etkisini tersine çevirmiştir (Götze ve diğ., 2014). Hızlı protein devri, artan enerji talebinin bir sonucu olsa da, çeşitli stres maddelerine adaptif tepkilerde kilit rol oynamaktadır (Cherkasov ve diğ., 2006; Fraser ve Rogers, 2007; Deigweiher ve diğ., 2009). Hücrel enerji durumu, yüksek $p\text{CO}_2$ 'ye (~800 ve 1,500 μatm) ve metallere ($50 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd veya Cu) maruz kalan istiridyelerde korunmuştur. Aynı durum, Cd'ye ve yüksek $p\text{CO}_2$ 'ye maruz kalan istiridyeye (*M. mercenaria*) için de geçerlidir, Cu'ya ve yüksek $p\text{CO}_2$ 'ye birlikte maruz kalınması glikojen içeriğinin azalmasına neden olmuştur (Götze ve diğ., 2014).

Özellikle, yüksek CO_2 seviyeleri, iz metallerin metabolizma üzerindeki bazı olumsuz etkilerini hafifletebilir. Bu nedenle, metallerin (Cu ve Cd) mitokondriyal fonksiyon (mitokondriyal eşleşme ve ATP sentez kapasitesi dahil) üzerindeki olumsuz etkileri, deniz bivalvleri *C. virginica* ve *M. mercenaria*'daki düşük pH ile potansiyel olarak metal taşınması ve mitokondride pH'a bağlı etkiler nedeniyle azalmıştır (Ivanina ve Sokolova, 2013). Yüksek $p\text{CO}_2$ seviyelerinin istiridyeye içindeki antioksidan proteinlerin ekspresyonunu arttırdığı (Tomanek, 2011) ve deniz taraklarında metal kaynaklı reaktif oksijen türlerinin oluşumunu hafiflettiği gösterilmiştir (Ivanina ve diğ., 2013). Bu bulgular, artmış $p\text{CO}_2$ 'nin, iz metallerin enerji metabolizması ve oksidatif stres üzerindeki olumsuz fizyolojik etkileri üzerine antagonist etkilere neden olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, bu konudaki mevcut çalışmalar hem metallere hem de hiperkapniye göreceli olarak toleranslı olan ve dolayısıyla tüm deniz organizmalarına genelleştirilemeyen nehir ağızı bivalvleri ile sınırlıdır. Hiperkapninin metallere maruz kalan hayvanların biyoenerjitiği üzerinde gözlenen yararlı

etkilerin ne kadar olduğunu ve bu etkilerin tüm organizma enerji homeostazı için etkilerini belirlemek için daha geniş bir deniz taksonu yelpazesi içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.2.1.2. Asit Baz Dengesi

Asit baz ve iyonik homeostazın sürdürülmesi, OA ve metal maruziyetlerinin etkileşimli etkileri için kilit bir fizyolojik hedefi temsil etmektedir. Çevresel hiperkapni (yüksek $p\text{CO}_2$), vücut sıvılarının pH, CO_2 ve bikarbonat konsantrasyonlarının yanı sıra deniz organizmalarının hücre içi ortamını doğrudan etkilemektedir. Bu kaymalar hücresel fonksiyonu ve metabolizmayı güçlü bir şekilde etkileyebilir ve bu nedenle, pH kaymalarının zararlı sonuçlarından kaçınmak için hayvanlar, hücre içi ve hücre dışı bölümlerin pH'sını düzenlemelidir. Balıklarda, hiperkapniyaya cevaben pH düzenlemesi, solungaçlarda iyon değişimleri ile, Na^+/H^+ değişimi, $\text{Cl}^- / \text{HCO}_3^-$ değişimi ve $\text{Na}^+ / \text{HCO}_3^-$ değişimi yoluyla aşırı proton alımını içerir ve Na^+ ve K^+ gradyanları ve karbonik anhidraz ile bikarbonat dönüşümleri tarafından desteklenmektedir (Claiborne ve diğ., 2002). Deniz kabukluları ve aktif sefalopodlarda da benzer mekanizmalar tarif edilmiştir (Gutowska ve diğ., 2010; Henry ve diğ., 2012). Sesil yumuşakçalar ve ekinodermiler gibi diğer omurgasız türleri, hiperkapni sırasında hücre dışı sıvıların pH ve $p\text{CO}_2$ 'ini etkili bir şekilde düzenleyememektedir. Sınır seviyesine yakın ve B sınıfı iz metalleri (Cd, Cu, Ag, Hg ve Pb gibi), Na^+ / K^+ -ATPaz aktivitesini ve aynı zamanda düşük (nanomolar) konsantrasyonlardaki karbonik anhidraz (CA) aktivitesini inhibe etmektedir (Lionetto ve diğ., 1998; Skaggs ve Henry, 2002; Soyut ve diğ., 2008; Roberto ve diğ., 2010; Lopes ve diğ., 2011; Henry ve diğ., 2012) ve böylece deniz organizmalarında asit-baz düzenlemesini baskılayabilir ve bunları hiperkapnik strese karşı daha duyarlı hale getirebilir. Bu etkilerin, dolaşım sıvısında asit-baz homeostazı için iyon nakil mekanizmalarına bağlı olan aktif balık ve omurgasız türlerinde daha belirgin olması muhtemeldir. Çevresel hiperkapniye maruz bırakılan Atlantik morina balığı hücre dışı asidosizin 24 saat içinde tam olarak telafi edilmesini sağlamış, ancak bu telafi edici cevap Cu maruziyeti tarafından inhibe edilmiştir (Larsen ve diğ., 1997). Buna karşılık, çift kabuklu yumuşakçalarda, izole edilmiş manto hücrelerinin *M. mercenaria* hücre içi pH'ı (pHi), tek başına Cd veya Cu'ya maruz bırakılmasından veya yüksek $p\text{CO}_2$ ile kombinasyonundan etkilenmemiştir (Ivanina ve diğ., 2013). Benzer şekilde, istiridye *M. mercenaria* ve istiridye *C. virginica*'nın hemositlerinin pHi'si, Cd veya Cu ($50 \mu\text{g L}^{-1}$) ile kombinasyon halinde yüksek hücre içi pH düzenlemesine işaret eden yüksek $p\text{CO}_2$ 'ye (~ 800 ve $2000 \mu\text{atm}$) uzun

süre maruz kalmadan etkilenmemiştir (Ivanina ve diğ., 2014). Özellikle, Cd'ye maruz kalma, çift kabuklu hemositlerin ve sindirim bezi hücrelerinin pH değerlerinde artışa yol açmıştır (*M. mercenaria* ve *C. virginica*; Ivanina ve diğ., 2014; *Mytilus galloprovincialis*; Dailianis ve Kaloyaianni, 2004).

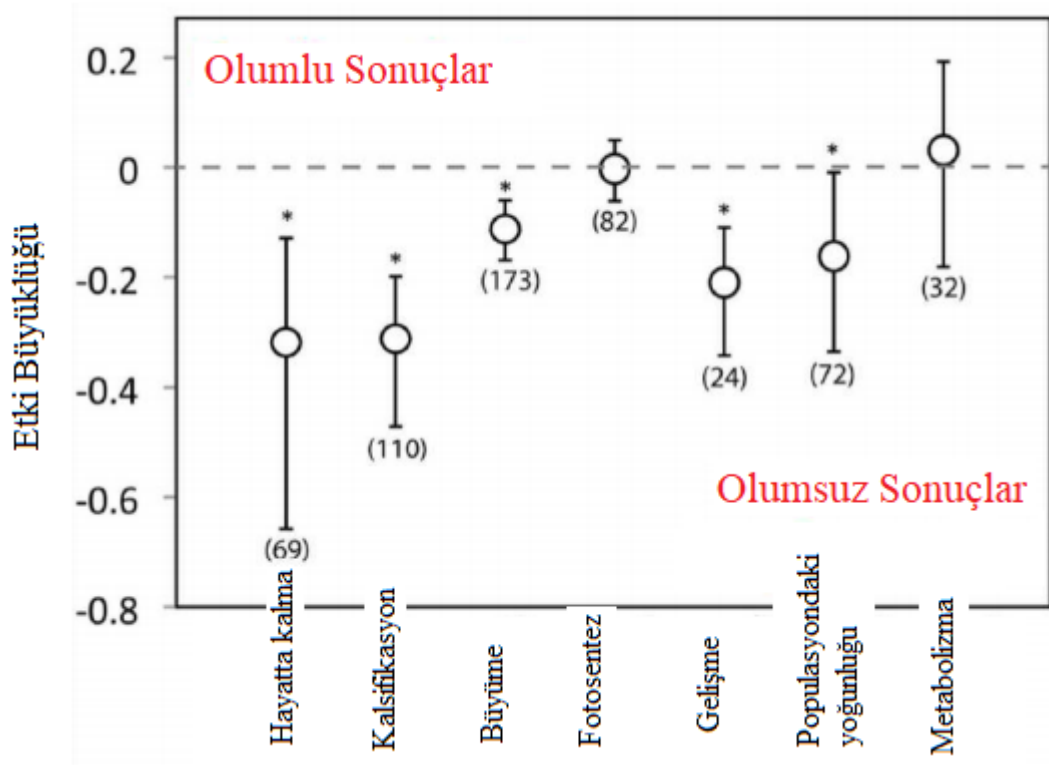
2.2.1.3. Bağışıklık

İz metaller yumuşakçalar (Pipe ve diğ., 1999; Coles ve diğ., 1995; Gómez-Mendikute ve Cajaraville, 2003), kabuklular (Xian ve diğ., 2010), ekinodermiler (Coteur ve diğ., 2005) ve balıklar (Handy, 2003; Prophete ve diğ., 2006; Monserrat ve diğ., 2007) dahil deniz organizmalarında bağışıklık hücrelerin bolluğunu ve fonksiyonlarını etkileyen güçlü immün baskılayıcılardır. Çalışmalar, yakın gelecekteki OA senaryoları tarafından tahmin edildiği gibi yüksek $p\text{CO}_2$ 'ye maruz kalmanın, iz metallerin bağışıklık baskılayıcı etkilerini artırabildiğini göstermiştir. Bu nedenle, yükselmiş $p\text{CO}_2$ ve Cd'nin birlikte etkisi fagositik aktiviteyi, hemositlerin adezyon kapasitesini olumsuz etkilemiş, deniz tarağı *M. mercenaria* ve istiridye *C. virginica* hemositlerinde hemolenf lizozim aktivitesini azaltmış ve lektinlerin ve ısı şok proteini ekspresyonunu bastırmıştır (Ivanina ve diğ., 2014). Benzer şekilde, mavi midye *Mytilus edulis*'te Cd, Cu ve Pb tarafından fagositozun inhibisyonu (engellenmesi) çok düşük pH (6,2)'da daha kuvvetli bir şekilde meydana geldiği belirtilmiştir (Han ve diğ., 2013). Bu, ılımlı çevresel hiperkapninin (OA sırasında beklendiği gibi) metallerin doğuştan gelen bağışıklık üzerindeki olumsuz etkilerini güçlendirdiğini ve deniz organizmalarını kirli haliçlerden parazitlere ve patojenlere karşı hassaslaştırabileceğini göstermektedir. Bu etkilerin deniz organizmalarında yaygın olup olmadığını ve sahadaki daha yüksek hastalık duyarlılığına ne derece çevrildiklerini belirlemek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.2.1.4. Üreme ve Gelişme

Deniz omurgasızlarının erken gelişim evreleri (embriyolar ve larvalar) çevresel strese karşı en hassas aşamalardır. Genellikle omurgasızlarda döllenme ve yumurtlama dönemi kritik bir nokta olarak kabul edilir ve hem OA hem de toksik metallerin etkilerine duyarlıdır (Parker ve diğ., 2010; Ross ve diğ., 2011). Yüksek CO_2 'nin deniz organizmalarının embriyonik gelişimi üzerindeki etkileri, literatürde belgelenen olumsuz (Green ve diğ., 2004; Kurihara ve diğ., 2007; Fabry ve diğ., 2008; Talmage ve Gobler, 2009; 2010; 2011; Scanes ve diğ., 2014), pozitif (Iglesias-Rodriguez ve diğ., 2008; Gooding ve diğ., 2009; Melzner ve diğ., 2013) ve

hiçbir etkiye sahip olmadığı (Gazeau ve diğ., 2011; Talmage ve Gobler, 2011) şeklinde sınıflandırılmaktadır. OA'nın deniz canlılarında neden olduğu etkilerin araştırıldığı 228 çalışma derlenmiş (Kroeker ve diğ., 2013), elde edilen sonuçlar Şekil 2.2'de verilmiştir. Buna karşılık, metal maruziyeti neredeyse her zaman gelişimin bozulmasına ve embriyonik ve larval evrelerde yüksek ölüm oranlarına yol açmaktadır (Kobayashi ve Okamura, 2004, 2005; Bielmyer ve diğ., 2005; Watson ve diğ., 2008; Jezierska ve diğ., 2009; Witeska ve diğ., 2014). Yüksek pCO_2 ve metallerin deniz omurgasızlarının dölleme ve gelişmesi üzerindeki etkilerine dair mevcut veriler, bu iki stresörün ek etkilerini göstermektedir. Halkalı solucan türü olan *Pomatoceros lamarckii*'de yükseltilmiş pCO_2 'de dölleme başarısında azalmaya neden olmuş, ancak düşük Cu seviyeleri ($0,002 \mu M$ veya $0,126 \mu g L^{-1}$) tek başına veya yükseltilmiş pCO_2 ile birlikte ek bir dölleme baskılanmasına neden olmamıştır (Lewis ve diğ., 2013). Poliket *Arenicola marina*'da Cu deniz suyu pH ($8,3-7,5$; $pCO_2 \sim 400-3,000 \mu atm$)'sından bağımsız olarak sperm hareketliliğini, dölleme başarısını ve larva sağ kalımını büyük ölçüde azaltmış, bununla birlikte, yüksek pCO_2 ve Cu'ya kombine maruz kalma, sperm hareketliliğini ve larva sağ kalımını, tek bir stres maddesinin neden olduğu seviyelerin ötesinde, ilave bir şekilde baskılanmıştır (Campbell ve diğ., 2014). Benzer şekilde, yüksek pCO_2 ($\sim 800-3,000 \mu atm$) ve düşük pH ($7,8-7,2$), *P. lamarckii*'nin embriyo ve trokofor larvalarının gelişimini olumsuz yönde etkileyerek yüksek mortalite ve vücut asimetrisine neden olmuş ve düşük Cu konsantrasyonlarına ortak maruz kalma, larva sağkalımını sadece düşük pH'da gözlemlenen seviyelerin ötesine düşürmüştür (Lewis ve diğ., 2013). Deniz kopepodlarında, *Tisbe battagliai*'nin düşük pH ($7,9-7,7$) ve Cu kombinasyonu, ciddi gelişimsel bozukluklara ve muhtemel epigenetik etkilere işaret eden çoklu jenerasyonlarda nauplii üretiminde baskılanmaya yol açmıştır (Fitzer ve diğ., 2013). Bununla birlikte, Cu varlığında, hayatta kalan larvaların somatik büyümesi, çalışılan tüm pH'da anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (Fitzer ve diğ., 2013).



Şekil 2.2: Okyanus asitlenmesinin deniz canlıları üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği sonuçlar (Kroeker ve diğ., 2013)

2.2.1.5. Davranış

Olumsuz çevresel koşulların davranıştan kaçınılması hareketli deniz organizmalarında ortak bir uyarlayıcı stratejidir ve davranışsal kaçış yanıtları bivalvlerde (kapak kapanması gibi) sessiz organizmaların stres toleransında da önemli bir rol oynayabilir. Çalışmalar, yüksek $p\text{CO}_2$ 'in, avcı ve toksinlerden kaçma dâhil olmak üzere deniz organizmalarının davranışını etkileyebileceğini göstermiştir. İntertidal salyangozlarda *Littorina littorea*, yükseltilmiş $p\text{CO}_2$, muhtemelen düşük pH'da üretilen daha ince kabukları nedeniyle azalan fiziksel savunmayı telafi etmek için, yırtıcı bir yengeçten kaynaklanan kimyasal içeren deniz suyundan kaçınılmasını arttırmıştır (Bibby ve diğ., 2008). Buna karşılık, yüksek CO_2 seviyeleri ($\sim 961 \mu\text{atm}$), deniz kabuklusu *Gibberulus gibbosus*'ta avcı kaçış davranışını, GABA (gama aminobütirik asit) reseptörünün aracılık ettiği davranışsal kararları değiştirerek bozmuştur (Watson ve diğ., 2013). Yüksek CO_2 'ye maruz kalma aynı zamanda tropik balıklarda avcı

kaçış tepkileri (kat edilen mesafe, tepki hızı ve süresi dahil) üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir (Allan ve diğ., 2013) ve balık larvalarının kimyasal işaretler arasında ayrım yaptığı koku alma mekanizmalarını bozmuştur (Munday ve diğ., 2008). Cd ve Cu gibi iz metallerin ayrıca koku alma reseptörü bağlama bölgelerine müdahale ettiği (Cagan ve Zeiger, 1978) ve koku almaya karşı tepki verme yeteneğini bastırdığı (Scott ve diğ., 2003; Sovová ve diğ., 2014) ve böylece yüksek $p\text{CO}_2$ 'nin olumsuz etkilerini potansiyel olarak arttırdığı bilinmektedir. Deniz bivalvlerinde, düşük pH'ın (Clements ve Hunt, 2014; Rodriguez-Romero ve diğ., 2014) yanı sıra Cd, Cu ve Pb gibi metaller yaşamsal aktiviteleri azalmaktadır (Phelps ve diğ., 1985; Roper ve Hickey, 1994; Bonnard ve diğ., 2009) ve koruyucu valfin kapanma hızını yavaşlatarak (Sobrino-Figueroa ve Caceres-Martinez, 2009) avcıdan kaçınmayı etkilemektedir. Bu nedenle, yüksek $p\text{CO}_2$ ve metallerin davranış değişiklikleri üzerindeki ilave veya sinerjik etkileri, deniz ekosistemlerinde av-avcı etkileşimlerini etkileyebilir.

2.2.1.6.Kalsifikasyon

CaCO_3 iskelet yapılarının salgılanması Prekambriyen döneminden bu yana jeolojik zaman boyunca zamandan bağımsız olarak ve tekrar tekrar gelişmiştir (Knol, 2001). Kalkerli bir dış iskelete veya kabuğa sahip olmanın en büyük avantajı predatörlere karşı korunmadır. Ek olarak, diğer çeşitli biyotik ve abiyotik faktörler muhtemelen evrimsel tarihin farklı zamanlarında farklı fauna gruplarında CaCO_3 kısımlarının seçimine katkıda bulunmuştur. Bu da, uzun süreç içerisinde canlıların varlığını korumasına yardımcı olmuştur (Kroeker ve diğ., 2011).

Çalışmaların birçoğunda, artmış $p\text{CO}_2$ ve azalmış karbonat iyon durumu, CaCO_3 doygunluk durumu ve pH'ın kalsifikasyonda azalmaya neden olduğunu göstermiştir (Gattuso ve diğ., 1998; Langdon ve diğ., 2000, 2003; Riebesell ve diğ., 2000). Bu çalışmaların çoğunluğu ılık su mercanları ve kokkokolofor alglerde test edilmiştir (Royal Society, 2005; Kleypas ve diğ., 2006). Sonuçlar, mercanlardaki kalsifikasyon oranının, pH veya deniz suyu CO_2 sisteminin başka bir parametresi yerine CaCO_3 doygunluk durumu tarafından kontrol edildiğini göstermektedir (Gattuso ve diğ., 1998; Langdon ve diğ., 2000, 2003; Langdon ve Atkinson, 2005; Schneider ve Erez, 2006; Silverman ve diğ., 2009).

pH'nın düşürülmesi, deniz suyunda inorganik karbon sistemi üzerindeki ve okyanusun antropojenik CO₂ alımından kaynaklanan tek etki değildir. Kalsit ve aragonit, deniz kalsifikatörleri tarafından üretilen başlıca biyolojik olarak oluşturulmuş karbonat mineralleridir ve her iki mineralin stabilitesi, kısmen sıcaklık tarafından belirlenen deniz suyunda bulunan CO₂ miktarından etkilenir. Soğuk sular doğal olarak daha fazla CO₂ tutar ve sıcak sulardan daha asidiktir. Aragonit ve kalsit doyma horizonlarının derinlikleri, deniz kalsifikatörleri için önemlidir, çünkü bu horizonların derinliği, deniz canlıları tarafından biyojenik kalsiyum karbonatın çökeltilmesinin meydana gelebileceği (doygunluk derinliğinden daha sığ) ve koruyucu mekanizmaların yokluğunda çözülme yaşayacakları sınırı belirler.

Okyanus asitlenmesinin bir popülasyonun birey sayısındaki düşüşün birincil nedeni olup olmadığını değerlendirmek, şu anda okyanusta süregelen fiziksel ve kimyasal değişikliklerin çokluğu nedeniyle zor olmaktadır. Okyanus asitlenmesi, devam eden önemli çevresel değişikliklerle (örneğin, okyanus sıcaklığı artışı) birlikte sinerji içerisinde gerçekleşmektedir ve çoklu stres faktörlerinin bu kümülatif etkileri veya etkileşimleri, biyota için herhangi bir stres etkenin tek başına olan etkisinden daha önemli sonuçlar doğurabilir. Bu nedenle, bu değişikliklerin deniz organizmaları üzerindeki sinerjistik etkileri ve bunun sonucunda ortaya çıkan ekosistem tepkileri üzerine araştırmalar kritik öneme sahiptir ancak hala başlangıç aşamasındadır.

Kronik olarak artmış CO₂'nin CaCO₃ kabuk yapısına sahip canlılara etkilerini, bireysel türler ve bunların ekolojik toplulukları içindeki düşük kalsifikasyon oranlarının uzun vadeli etkileri bilinmemektedir. Kalsifikasyon kalsiyum karbonat yapısına sahip canlılarda birden fazla fonksiyonla ilişkilidir. Azalan kalsifikasyon, muhtemelen bu organizmaların predatörlere ve hastalık yapıcı mikroorganizmalara karşı savunmasız kalmasına ve rekabet avantajının azalmasına neden olmaktadır (Kuffner ve diğ., 2008).

2.2.1.7. Bentik omurgasızlar

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, bentik yetişkin yumuşakçaların ve ekinodermlerin deniz suyu karbonat kimyasındaki değişikliklere duyarlı olduğunu göstermektedir. IS92a emisyon senaryosunda (2100'de yaklaşık 740 ppmv) gerçekleşmesi öngörülen yüksek pCO₂ seviyesine cevap olarak, midye *Mytilus edulis* ve Pasifik istiridye *Crassostrea gigas*'daki kireçlenme

oranlarının sırasıyla % 25 ve % 10 oranında azaldığı gösterilmiştir (Gazeau ve diğ., 2007). Altı aydan fazla bir süre boyunca yüksek CO₂ (560 ppm) içeren deniz suyunda büyütülen deniz salyangozu *Strombus luhuanus*'ta, kabuk büyümesinde bir azalma gözlenmiş ve hem bu salyangoz hem de iki denizkestanesi türünde vücut ağırlığında bir azalma rapor edilmiştir (Shirayama ve Thorton, 2005).

Bentik yumuşakçaların ve ekinoidlerin erken evrelerindeki CaCO₃ yapılarını oluşturma aşamaları, artan deniz suyu pCO₂'den (veya azalan pH, bikarbonat iyon konsantrasyonu ve CaCO₃ doygunluk durumu) etkilenmektedir. Denizkestanelerinde (*Hemicentrotus pulcherrimum* ve *Echinodetra mathaei*), dölleme başarısı, gelişim oranları ve larva büyüklüğü, artan CO₂ konsantrasyonu ile azalmıştır (Kurihara ve Shirayama, 2004). Okyanus asitlenmesi şartlarında denizkestanesi larvalarında yüksek oranda çözünür yüksek magnezyum CaCO₃ spiküllerinin anormal iskelet oluşumu gözlenmiştir. Green ve diğ. (2004) tarafından yapılan çalışmada, sert kabuklu istiridye *Mercenaria mercenaria*'nın yavru bireylerinin kabuğu, düşük deniz suyu pH değerine dolayısıyla düşük Ω değerine maruz bırakıldığında ($\Omega_{\text{arag}} \sim 0,3$) kabuk erimesi olduğunu rapor etmişlerdir. İki haftalık deney süresinde, CaCO₃ kabukları büyük oranda çözülmüş ve kabuğun yalnızca organik matrisi kalmıştır.

Yumuşakçaların mineralojisi ve kalsifikasyon mekanizmaları, ekinoid larva aşamalarını okyanus asitlenmesine hassas hale getirebilir. Her ne kadar yetişkin gastropodlar ve çift kabuklar, kabuk yapısında aragonit, kalsit veya her iki fazı salgırlarsa da, gastropodların ve bivalvların veliger (larval aşamalardan biri) kabuklarının hepsinin benzer kristal ince yapılarda aragonit içerdiği ve bu nedenle yumuşakça larva kabuğunun evrimde büyük oranda korunduğu bilinmektedir (Weiss ve diğ., 2001). Dahası, kızılötesi spektrometre ve Raman görüntüleme spektroskopisi kullanılarak yapılan son çalışmalar istiridye *M. mercenaria*'nın (yetişkin kabuğu aragonitiktir) larvalarının, istiridye *C. gigas*'ın (yetişkin kabuğu neredeyse tamamen kalsitiktir) aragonit için geçici bir öncü olarak amorf CaCO₃ oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Weiss ve diğ., 2001). Benzer şekilde, iki deniz kestanesi türünün embriyonik gelişimi sırasında, amorf bir CaCO₃ öncüsü, temel kabuk yapısının (dikenli yapı) oluşumu sırasında kalsite dönüşür (Beniash ve diğ., 1997; Raz ve diğ., 2003).

Yüksek pCO₂'nin çift kabuklular üzerindeki olumsuz etkileri çok sayıda çalışmada araştırılmıştır (Kuwatani ve Nishii, 1969; Bamber, 1987, 1990; Michaelidis ve diğ., 2005;

Berge ve diğ., 2006). Kıyıdaki nehir ağzı bölgelerine yerleşmiş olan bivalvler, antropojenik okyanus asitlenmesine karşı özellikle savunmasız olabilirler. Bu organizmalar larvalardan bentik yavru bireye (Green ve diğ., 2004) geçişlerinde son derece yüksek ölüm oranları (>% 98) gözlenmekte ve okyanus asitlenmesinden kaynaklanan genç ölüm oranlarındaki artışın, çift kabuklu popülasyonlar üzerinde ciddi etkileri olabileceği gözlenmiştir.

Kurihara ve diğ. (2008) yaptıkları çalışmada, 2300 yılına kadar (pH 7,4) gerçekleşmesi öngörülen deniz suyu pCO_2 'nin, istiridye *Crassostrea gigas*'ın erken gelişimini ciddi şekilde etkileyeceğini ve asitlenme etkilerinin $CaCO_3$ kabuklarının larva gelişim aşamalarındaki önemini vurguladığını göstermiştir. Erken yaşam evreleri çevresel etkenlere yetişkinlere göre daha duyarlı olduğu ve bivalv ve gastropod gibi çoğu bentik kalsifikasyon yapan canlının planktonik larva evrelerine sahip olması nedeniyle, yüksek ölüm oranlarından dolayı larva evresindeki dalgalanmalar yetişkinlerin nüfus büyüklüğü üzerinde güçlü bir etki yaratabilir (Green ve diğ., 2004). Kurihara ve Shirayama (2004), yüksek pCO_2 'in iki denizkestanesi türünün (*Hemicentrotus pulcherrimus* ve *Echinometra mathaei*) döllenme hızı ve larva morfolojisi üzerindeki etkilerini araştırdığı çalışmada, her iki türün de döllenme oranının artan CO_2 konsantrasyonu ile azaldığını tespit etmişlerdir. Ek olarak, artan CO_2 konsantrasyonu ile pluteus larvalarının büyüklüğü azalmış ve her iki türün larva evresinde hatalı şekillenmiş iskelet oluşumu gözlenmiştir. Kurihara ve diğ. (2008) yapmış oldukları çalışmada, azalan pH ve değişmiş karbonat kimyasının, deniz ekosistemleri için ciddi sonuçlar doğurabileceği birçok deniz organizmasının erken gelişimini ve yaşam geçişini etkilediğini rapor etmiştir.

Artan okyanus asitlenmesinin kalsiyum karbonat yapısına sahip canlılar üzerindeki doğrudan etkilerine odaklanan araştırmalar yapılmıştır, ancak bireysel ve ekolojik olarak önemli dolaylı etkiler meydana gelmesi de olasıdır. Bibby ve diğ. (2007) yaptıkları çalışmada gastropod türünde asitlenmiş deniz suyuna (pH = 6,6) karşı davranışsal, metabolik ve morfolojik tepkilerini belgelemiştir. Deniz salyangozu, kontrol deneylerinde yırtıcıya (yengeç) maruz kaldığında daha kalın kabuklar ürettiği, ancak bu savunma tepkisinin, pH düştüğünde bozulduğu tespit edilmiştir. Deniz salyangozunda metabolizma hızının ve organizma etkileşimlerinin azaldığı, enerji gereksinimleri ve av-avcı ilişkileri yoluyla önemli ekosistem etkileri gibi konularda artış olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma sadece bir yumuşakça türünü araştırmıştır, ancak diğer deniz organizmalarının muhtemelen okyanus asitlenmesine dolaylı

tepkileri olacaktır (Bibby ve diğ., 2007). Ayrıca çalışılan pH değeri OA senaryoları değerlerinin çok daha altında olan, bir bakıma gerçekçi olmayan seviyededir.

Önceki çalışmalar, OA'in birçok CaCO_3 dış iskelet yapısına sahip olan ve olmayan organizma için temel olarak olumsuz sonuçlara sahip olacağını ve biyolojik çeşitlilik, trofik etkileşimler ve diğer ekosistem süreçlerinde değişikliklere yol açabileceğini göstermektedir (Pörtner, 2010; Royal Society, 2005; Kleypas ve diğ., 2006; Hall-Spencer ve diğ., 2008; Fabry ve diğ., 2008; Andersson ve diğ., 2008). Deniz organizmaları OA'den, asit-baz düzenleme, solunum, enerji döngüsü ve metabolizma bozuklukları, büyüme oranlarındaki azalma, üreme başarısı, kalsifikasyon ve duyuusal yeteneklerin azalması ile gösterilen temel olarak olumsuz yönlerden etkilenmektedirler (Riebesell ve diğ., 2000; Caldeira ve Wickett, 2003; 2005; Pörtner ve diğ., 2004; Ishimatsu ve diğ., 2004; 2005; Pörtner, 2006; Green ve diğ., 2009; Munday ve diğ., 2008).

2.2.1.8. Diğer Fizyolojik Süreçler

Okyanus asitlenmesi, infaunal deniz bivalvleri için potansiyel bir tehdittir (Gazeau ve diğ., 2013). İnafaunal türler sediment-su ara yüzeyinin altında yaşamaları nedeniyle sedimentte çok farklı pH ve karbonat sistemi koşullarına maruz kalmaktadırlar. Sediment gözenek suyunun (porları arasında yer alan deniz suyunun) su kolonunda deniz suyundan daha yüksek bir pH tamponlama kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir (Leclercq ve diğ., 2002; Andersson ve diğ., 2008). Bu nedenle, infaunal organizmaların okyanus asitlenmesinin etkilerine karşı daha dirençli olduğu varsayılmıştır (Widdicombe ve diğ., 2011). Çalışmalar, sedimentin içinde ve yüzeyinde yaşayan poliketler (Batten ve Bamber, 1996, Widdicombe ve diğ., 2009), nematodlar (Widdicombe ve Needham, 2007), deniz kestanesi (Dashfield ve diğ., 2008) ve deniz yıldızı (Wood ve diğ., 2009) gibi çeşitli deniz omurgasızlarının pH ve karbonat jeokimyası ile ilgili değişikliklere dayanıklı olduğunu göstermiştir. Buna karşın son çalışmalar, sediment asitlenmesinin infaunal organizmaları da olumsuz etkileyebileceğini belgelemiştir (Green ve diğ., 2004, 2009; Clements ve Hunt, 2014; Rodríguez-Romero ve diğ., 2014; Clements ve diğ., 2016).

Deniz organizmaları üzerindeki OA etkileri daha fazla araştırılırken, sediment asidifikasyonunun infaunal organizmalar üzerindeki etkileri nispeten daha az incelenmiştir.

Sediment, deniz suyu pH'sının azalmasıyla birlikte daha da asidik hale gelebilir. Çalışmalar, daha asidik sedimente maruz kalan bivalvlerde kabukta çözünmenin arttığını, daha fazla lezyonların meydana geldiğini ve ölüm oranının arttığını göstermektedir. Bivalvin türü veya yaşam evresine bağlı olmaksızın, daha asidik sedimentin olumsuz etkilerini en aza indirmek için sedimentin içerisine daha az gömülebilir veya daha geniş alanlara dağılım gösterebilirler.

2.2.2. Okyanus Asitlenmesinin Dolaylı Etkileri

Okyanus asitlendirmesinin balıkçılık ve su ürünleri üzerindeki dolaylı etkileri, (i) biyolojik çeşitlilikteki değişiklikler, (ii) habitat kaybı ve (iii) trofik ağ değişimidir.

2.2.2.1. Biyolojik Çeşitlilikteki Değişiklikler

Akdeniz'deki biyoçeşitlilik, deniz organizmalarının sürdürülebilir kullanımı yoluyla fayda sağlamaktadır. Örneğin, ticari değeri düşük olarak bilinen bazı algler ve süngerler, bazıları insan hastalıklarını tedavi etmek için kullanılan çok çeşitli biyolojik olarak aktif metabolitleri sağlar. Deniz canlıları, geniş besin kaynağı (yüksek kalitede protein, mineraller, D vitamini ve Omega-3 yağ asidi içeriği) antioksidan özellikleri, kalp sağlığı ve kansere karşı koruyucu olması, aynı zamanda süs eşyası olarak kullanılması bakımından önem taşımaktadır.

2.2.2.2. Habitat Kaybı

Pek çok bitki ve omurgasız, balık ve kabuklular için temel habitatlar sağlayan ve ekosistemin işleyişine önemli katkıda bulunan topluluklar oluşturmaktadır. Israel ve Hophy (2002) yapmış oldukları çalışmada 7,8 pH'ın, çok çeşitli Akdeniz alglerinde büyüme ve fotosentez üzerinde bir etkisi olmadığını göstermiştir. Vulcano ve Ischia adalarında yapılmış olan saha çalışmalarında, bazı deniz yosunlarının yüksek CO₂'den faydalanabildikleri gösterilmiştir (Hall-Spencer ve diğ., 2008; Johnson ve diğ., 2013; Porzio ve diğ., 2011). Kroeker ve diğ. (2013) yapmış oldukları çalışmada kalkerli türlerin yakın gelecekte okyanus için öngörülen pH koşullarında fizyolojik olarak dayanabileceğini ancak kalkerli olmayan deniz yosunları için daha yüksek bir rekabet kabiliyetinin gelişmesine neden olabileceğini göstermiştir. Genel olarak çalışmalar okyanus asitlenmesinin mikroalg ve deniz yosunu topluluklarında büyük değişimlere neden olacağını göstermektedir. Bu organizmaların bazılarının potansiyel olarak kaybı, balıklar, kabuklu deniz hayvanları ve diğer organizmalar için önemli habitatlar oluşturmaları nedeniyle endişe kaynağıdır.

Vermetid resifleri ve mercan resiflerinde kalsiyum karbonat yapının canlılar için gerekli miktarda sağlanamaması, canlıların yavaş büyümesine veya hatta tükenmesine neden olarak biyolojik dengeyi olumsuz yönde etkileyebilir (Milazzo ve diğ., 2015). Levant sahili boyunca yer alan vermetid resifleri nesli tükenme tehlikesiyle karşı karşıya kalarak, biyolojik çeşitlilik ve kıyı erozyonunda büyük kayıplara neden olabilir. Balıklar için önemli habitatlar oluşturan, kendi balıkçılığını destekleyen, turizmi çeken (Hilmi ve diğ., 2012) ve yerel ekonomileri destekleyen mercanların kalsifikasyonu okyanus asitlenmesine karşı özellikle savunmasız görünmektedir (Rodolfo-Metalpa ve diğ., 2011). Örneğin, okyanus asitlenmesinin ekonomik olarak önemli olan endemik Akdeniz kırmızı mercan türü olan *Corallium rubrum*, Coralliidae, özellikle Mg-kalsit iskeletinin yüksek çözünürlüğünden dolayı zararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (Bramanti ve diğ., 2013). Buna karşılık, soğuk su mercanlarının büyümesi ve kalsifikasyonu, gerekli adaptasyonu sağlayarak yüzyıl sonu için öngörülen CO₂ seviyelerinden etkilenmeyebilir (Maier ve diğ., 2013). Bununla birlikte, doğal ortamdaki bu kireçlenme iklimasyonu hakkındaki bilgilerin az olduğu ve mercanların Akdeniz'deki üst termal sınırlarına yakın yaşadıkları göz önüne alındığında, bu derin ve sıcak deniz üreticilerin çeşitliliğinin OA'ya karşı durumunu belirsiz kılmaktadır.

2.2.2.3. Trofik Besin Ağ Değişimi

Deniz kaynaklarının bolluğu yumuşakçalar ve balıkların da dahil olduğu pek çok canlı için, bölgesel trofik ağların yapısına ve işleyişine büyük ölçüde bağlıdır ve artan CO₂ seviyeleri en düşük trofik düzeylerin (yani fitoplankton ve zooplankton) bolluğunu ve kalitesini etkilediğinde dolaylı olarak etkilenebilir. Akdeniz'deki bentik besin ağları, *Posidonia oceanica* deniz çayırının üretkenliği ile desteklenmektedir. Bu bentik üretkenlik, yükselen deniz suyu sıcaklığının doğrudan deniz suyu üzerindeki olumsuz etkileri ve öngörülen yüksek pCO₂ nedeniyle önemli miktarda epifitik topluluk kaybına neden olabilir (Cox ve diğ., 2015). Çalışmalar, gelecekteki okyanus asitlenmesinin sonucu olarak mikro düzeydeki planktondan en küçük piko ve nano-planktona doğru pelajik üretkenlikteki olası bir kayba dikkat çekmektedir (Riebesell ve diğ. 2013; Maugendre ve diğ., 2016). Kokkolitoforların hücre yoğunluğu ve biyolojik çeşitliliğinin volkanik bir doğal CO₂ sızıntı adası olan Vulcano Adası'ndaki doğal bir pH derecesi boyunca azaldığı bulunmuştur (Ziveri ve diğ., 2014). Ek olarak, Lyon Körfezi'ndeki, kalkerli fitoplankton baskın türlerin okyanus asitlenmesinden

etkilendiği gözlenmiştir (Meier ve diğ., 2014). Bir sonraki trofik seviyede zooplanktonun, sardalya balığı gibi küçük pelajikler de dâhil olmak üzere balıklar için önemli bir besin kaynağı olması besin zinciri boyunca canlıların artan deniz suyu CO₂ konsantrasyonlarından etkilenebileceğini desteklemektedir. Fotosentetik mikroalgler olan pteropodların larva evresi *Cavolinia inflexia* (Cavoliniidae), yüzyılın sonunda öngörülen pH değerinden doğrudan etkilenmiş ve malformasyonlar ve daha düşük kabuk büyümesi sergilemiştir (Comeau ve diğ., 2010). Kopepodların okyanus asitlenmesinden etkilenmeyeceği düşünöldüğü halde, son çalışmalar, deniz kopepodu *Acartia clausi*'nin (Acartiidae) asitlenme ve ısınmanın birlikte etkisiyle yeteneğinde azalma olabileceğini göstermiştir (Zervoudaki ve diğ., 2014).

2.2.3. İnsan Sağlığı Etkileri

Okyanus asitlenmesinin deniz kaynaklarının üretimi üzerindeki etkisinin ötesinde, deniz ürünlerinin kalitesi gelecekteki okyanus koşullarıyla tehlikeye girebilir ve insanlar tarafından tüketilen türler için güvenlik riskini artırabilir. Akdeniz havzasında ötrofikasyon ve tabakalaşmanın artmasıyla birlikte, okyanus asitlenmesinin kıyı sularında zararlı alg patlamalarının (Harmful Algal Bloom-HAB) frekansında ve yoğunluğunda artışa sebep olabileceği düşünölmektedir (Hall-Spencer ve Allen, 2015; Rosa ve diğ., 2012). Bu zararlı mikro alglerin çoğalması, organizmaları doğrudan etkileyerek çevreye zarar verebilir ve kontamine deniz ürünleri tüketimi yoluyla insan sağlığını tehdit edebilir (Erdner ve diğ., 2008).

Artan CO₂ nedeniyle deniz suyu kimyasında meydana gelen değişiklikler, iz elementler gibi kirleticilerin biyolojik kullanılabilirliğini (bioavailability) değiştirebilir (Millero ve diğ., 2009). Okyanus asitlenmesinin bir sonucu olarak, metallerin sefalopod veya bivalvler gibi yumuşakçalarda biyolojik birikiminin, kirlenmenin artmasıyla birlikte sürekli artış göstermesi beklenmektedir (Lacoue-Labarthe ve diğ., 2009a,b, 2011, 2012; López ve diğ., 2010; Ivanina ve diğ., 2013). Deniz hayvanları için doğrudan toksikolojik risklerin ötesinde, insanlar için deniz ürünleri güvenliği, hem toplam metal konsantrasyonlarının hem de kirleticilerin biyolojik olarak erişilebilen fraksiyonunun artmasıyla tehlikeye girebilir (Belivermiş ve diğ., 2016). İstiridyeler gibi bivalvler, Zn gibi iz elementleri metabolik olarak inert metal bakımından zengin granüller formunda biriktirebilir (Wallace ve Luoma, 2003). Bu Mg / Ca

karbonat granülleri, hücre dışı pH'ı tamponlama potansiyelleri ile bilinmektedir (Viarengo ve Nott, 1993; Viarengo ve diğ., 1998). Bu bağlamda, okyanus asitlenmesi metal detoksifikasyon stratejilerini ve dolayısıyla biyolojik olarak erişilebilirliklerini ve bu metallerin daha yüksek trofik seviyelerine transferini etkileyebilir.

Gelecekteki okyanus asitlenmesi ve su sıcaklığının artması, atmosfere küresel CO₂ emisyonlarının azalmaya devam etmesi halinde bile, Akdeniz için bir tehdit oluşturmaktadır ve biyolojik çeşitliliğini ve verimliliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Bunun sonucunda bölgedeki insan topluluklarına sağladığı kabuklu deniz ürünleri yetiştiriciliği, balıkçılık ve turizm gibi kilit sosyal ve ekonomik hizmetlerin okyanus asitlenmesinden olumsuz etkilenebileceği düşünülmektedir.

2.3.CO₂ KAYNAKLI SEDİMENT ASİTLENMESİ

Sediment gözenek suyu pH'sı ve karbonat doygunluk durumu (doyma durumu kalsiyum karbonatın çökertilmesi için deniz suyunun kapasitesinin bir ölçüsüdür ve pH, sıcaklık, tuzluluk ve basınçtan etkilenir; >1 = süperdoyma, 1 = doygunluk, <1 = az doygunluk) genellikle yüzey suyundan çok daha düşüktür (Kuzeybatı Atlantic: Hales ve diğ., 1994; Green ve diğ., 2009; California Sahili: Cai ve Reimers, 1993). Sediment pH'ı tipik olarak $\sim 6,5-8,2$ arasında değişmektedir (Widdicombe ve diğ., 2011). Sedimentteki pH ve karbonat doygunluk durumu derinlikle artabilir (Widdicombe ve diğ., 2011; Green ve diğ., 2004, 2009).

Sediment gözenek suyu pH'sı ve ilişkili karbonat jeokimyasal koşulları organik maddenin mikrobiyal fauna ile ayrışmasıyla kontrol edilir (Widdicombe ve diğ., 2011). Yüzey sedimentinde bulunan mikroorganizmaların esas olarak aerobik respiratörler olduğu düşünülürse, O₂'yi tüketirler ve sediment yüzeyinde birikebilecek büyük miktarlarda organik maddeyi ayrıştırarak CO₂ üretirler. Yetersiz oksijenli sedimentlerde, bu CO₂ yüzey sediment pH'sını azaltabilir. Eğer organik madde dekompozisyonu (bozunması) yoluyla aerobik solunum, derin sediment tabakalarında meydana gelen süreçlerden daha fazla pH azalmasına neden oluyorsa, yüzeydeki sediment gözenek suyu pH'sı ve karbonat jeokimyası derin sediment tabakalarından daha asidik hale gelebilir. Bu işlemlerin bir sonucu olarak, yüzey sedimenti pH'sında bazik ve asidik koşullara yayılan önemli değişiklikler gözlemlenebilir (pH: $\sim 6,5-8,2$; Widdicombe ve diğ., 2011).

2.3.1. Okyanus Asitlenmesinin Sediment Üzerine Etkileri

Okyanus asitlenmesinin (yani su kolonu asitlenmesinin) sediment jeokimyasal süreçleri üzerindeki etkileri yeterince tanımlanmamıştır. Herlihy ve Mills (1986), su sütunu parametrelerine dayanan sediment biyojeokimyasal koşullarına ilişkin çıkarımlardan kaçınılması gerektiğini, çünkü tatlı sularda (Anna Gölü, Virginia) sediment gözenek suyunun pH değerinin (pH ~ 6,0–7,0) su sütunu pH değerinden (pH ~ 3,5) iki kat yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, Widdicombe ve diğ. (2009) yapılan çalışmada deneysel olarak, deniz suyundaki pH değerini düşürmenin, sediment suyunun pH değerini azaltabileceği belirlenmiştir. Ayrıca, su sütunu koşulları daha asidik hale geldikçe pH derinlik gradyanları değiştiği gözlenmiştir. Sediment pH'ı, sediment yüzeyinde bile, üstte bulunan suyun pH'ı <7,0 olduğu zaman (yukarıdaki Herlihy ve Mills (1986) 'ın gözlemlerine uygun olarak) üstteki suyun pH değerine eşit veya ondan daha yüksektir (Widdicombe ve diğ., 2009). Gazeau ve diğ. (2014) Arktik okyanusunda yapmış oldukları çalışmada su kolonunda meydana gelen asitlenmenin sedimentte meydana gelen reaksiyonları etkilemediğini göstermişlerdir. Sediment gözenek suyu pH'sı, su kolonu pH'sının bir fonksiyonu olarak ölçülememektedir. Benzer şekilde, Kitidis ve diğ. (2011) yaptıkları çalışmada daha asidik koşullar altında su kolonunda amonyak oksidasyon oranlarında düşüslere rağmen, daha asidik bir su kolonuna maruz kalan sedimentlerde amonyak oksidasyon hızlarında herhangi bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Ancak, çalışmalar sedimentin asitlenmesinin tortuların toksisitesini artırabildiğini, hem mobilizasyonu (yani sediment tanelerinden sediment gözenek suyuna doğru hareketi) hem de deniz sedimenti içindeki metallerin toksisitesini artırabileceğini öne sürmektedir (Roberts ve diğ., 2013; De Orte ve diğ., 2014; Ivanina ve Sokolova, 2015). Sediment pH ve karbonat jeokimyası daha asidik su sütunu koşullarından etkilenebilirken, sediment çoğunlukla okyanus asitlenmesinden etkilenmez.

2.4.OKYANUS ASİTLENMESİNİN DENİZ ORGANİZMALARINDA METAL VE RADYONÜKLİD BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİ

Radyoekoloji alanında çalışmalar, ekosistemlerin ekolojik işleyişi ve canlıların etkileşimi hakkında, canlıların çeşitli kirleticilere maruz kalması ve etkisi için öngörülen gerçekçi

modellerin geliştirilmesine katkıda bulunmaktadır. Belirli bir ekosistemdeki bileşenlerin radyoaktif kirlenmesinin simülasyon modellerinin gerçekçiliğini arttırmak ve radyoaktif kirlenmenin biyoindikatörleri olarak seçilen organizmaların belirlenmesini sağlamaktadır.

Deniz ürünleri arasında, bivalvler genellikle metalleri dokularında yüksek miktarda biriktirebilirler, bu da insanlar tarafından tüketildiklerinde risk oluşturabileceğini göstermektedir (Chouvelon ve diğ., 2009; Metian ve diğ., 2008). Bu risk temel olarak, deniz ürünlerinin yumuşak dokularındaki metal özelliklerine bağlıdır. Metalin besin yoluyla alınmış olması ve biyolojik olarak kullanılabilir fraksiyonunda olmasına (yani gıdadan asimile olan ve bir organizmanın sistemik dolaşımına erişebilen fraksiyon) bağlıdır. 1990'lardan önce, genel olarak metallerin biyolojik olarak kullanılabilir fraksiyonunun hücrelerdeki sitozolik ("çözünür") fraksiyonun metal içeriği tarafından güvenilir bir şekilde değerlendirildiği varsayılmıştır. Daha sonra, çalışmalar hücre içerisinde çözünmeyen kısımların metal biyoyararlanımı üzerine etkisine odaklanmış ve sadece sitozolik fraksiyonun kullanılmasının, metallerin trofik seviyede biyolojik kullanılabilirliğinin açıklanmasında eksik olduğunu göstermiştir. Günümüzde, hücre içinde hem sitozolik hem de organel fraksiyonlarında bulunan metallerin biyolojik olarak kullanılabilir fraksiyonu daha iyi yansıttığı düşünülmektedir (Wallace ve Lopez, 1996; Wallace ve Luoma, 2003). Daha yakın zamanlarda, sindirimle alınan bir metalin toplam miktarının biyolojik olarak kullanılabilir fraksiyonunun daha gerçekçi bir değerlendirmesini sağlamak için in-vitro sindirim metotları geliştirilmiştir (Oomen ve diğ., 2003; Versantvoort ve diğ., 2005; Amiard ve diğ., 2008).

Radyonüklidlerin, enerji santralleri ve yakıt işleme tesisleri dahil olmak üzere nükleer tesislerden salınması ve radyonüklid atıklarının bertaraf edilmesi, su ortamlarındaki kimyasal ve biyolojik durumları için büyük endişe yaratmaktadır. Deniz ortamlarına boşaltılan birçok radyonüklid arasında, ^{137}Cs ve ^{134}Cs , uzun fiziksel yarı ömürleri ve su kolonunda kalma süreleri nedeniyle dikkat çeken fisyon ürünleridir. Bu radyonüklidlerin su besin zincirinde izleyeceği yolun belirlenmesi, insan sağlığı üzerindeki potansiyel etki risklerinin gerçekçi bir değerlendirmesi için şarttır. Radyosezyum için endişe, sudaki besin ağları içindeki potansiyel transferinden kaynaklanmaktadır (Rowan ve Rasmussen, 1994). 2011 yılında Japonya Fukuşima'daki Daiichi Nükleer Santrali'nde meydana gelen kaza, deniz ortamında büyük miktarda radyoaktif Cs salınımına neden olmuştur (Chino ve diğ., 2011; Bailly du Bois ve

diğ., 2012). Bu kazadan sonra, Japonya'nın kıyı sularında Cs izotop konsantrasyonları önceki seviyelere göre 10-1000 kat arttığı tespit edilmiştir (Buesseler ve diğ., 2012).

1950'lerden bu yana, deniz ekosistemleri radyonüklidlerin (^{134}Cs gibi) endüstrilerden, nükleer kazalardan ve nükleer silah testlerinden kaynaklanan sızıntılara maruz kalmasına neden olmuştur (Friedlander ve diğ., 2005). Bu radyoaktif kirlenme azalma eğiliminde olmasına rağmen, yine de radyoaktif girdi alan kıyı bölgelerinde hala endişe vericidir. Deniz biyotası su kaynaklı kirlenmeden doğrudan etkilenebilir.

Madencilik, fosil yakıtların kullanılması, endüstriyel faaliyetler ve atıkların kontrolsüz olarak çevreye verilmesi, çevredeki eser element ve radyonüklid salınımlarının ortak kaynaklarıdır ve geçen yüzyılda kıyı deniz ekosistemlerinin kirlenmesindeki en önemli etkenlerden biridir (Belivermiş ve diğ., 2016). Organizmalarda gerekli olan (örn. Co, Mn veya Zn) veya gerekli olmayan (örn. Ag, ^{241}Am , Cd) elementlerin aşırı birikmesi toksik etkilere neden olabilir (Rainbow, 1997). Metallerin biyotada biyolojik birikimi (i) çevrenin fizikokimyasal koşulları ile belirlenen elementin biyokullanılabilirliğine, (ii) organizmaların biyolojik özelliklerine (metabolizma ve beslenme stratejisi gibi) ve (iii) elementlerin özelliklerine bağlıdır. Bu faktörlerin hepsi deniz suyu pH'sından etkilendiğinden okyanus asitlenmesinin deniz omurgasızlarındaki metal biyobirikim kapasiteleri üzerindeki etkisinin araştırılması gerekmektedir. Aslında, artmış $p\text{CO}_2$ 'nin neden olduğu pH ve deniz suyu kimyası değişiklikleri metallerin kimyasal özelliklerini ve dolayısıyla organizmalara biyokullanılabilirliğini özellikle karbonatlarla güçlü kompleksler oluşturan elementler için (Am-Choppin, 2006) etkili olmaktadır (Millero ve diğ., 2009). Ayrıca, artan sıcaklık veya hiperkapninin ortak etkileri metallerin biyolojik birikimini etkileyebilir (White ve Rainbow, 1984; Houlbreque ve diğ., 2011) ve böylece metal toksisitesini artırabilir (Pascal ve diğ., 2010; Roberts ve diğ., 2013).

Son altmış yıl boyunca, insan faaliyetleri, denizlerin ve okyanusların antropojenik radyonüklidlerle çeşitli derecelerde kirletmiştir (Friedlander ve diğ. 2005). Her ne kadar bu kirlenmenin azalmaya meyilli olduğu belirtilse de, endüstriden, nükleer kazalardan ve nükleer silah testlerinden ve kullanımından kaynaklanan serpinti biyotada yapay radyoaktif maddelerin bulunmasına sebep olmaktadır (Friedlander ve diğ. 2005). Sonuç olarak, deniz ortamındaki bu radyonüklidlerin seviyelerini izlemek için dünya çapında izleme programları

oluşturulmuştur (Nielsen ve diğ., 2007). Genel olarak, izleme programları deniz suyu analizleri, çökelti ve biyolojik örneklerin analizine dayanmaktadır (Fegan ve diğ., 2010).

Bu çalışmada ele alınan metallere kadmiyum, en toksik metallere biri olarak kabul edilir (Ramade, 1992). Kadmiyum, metallere taşınmasında ve stoklanmasında rol oynayan protein olan metalotiyoninlerin sentezini indüklemektedir. Ayrıca, kadmiyum konsantrasyonu fosfatla o kadar iyi korelasyon gösterir ki, deniz omurgasızlarının fosilleşmiş testlerinde Cd birikmesi denizdeki geçmiş besin konsantrasyonlarının bir ölçüsü olarak kullanılır (Boyle ve diğ., 1976). Sezyum, biyokimyasal olarak potasyum ile benzer özelliktedir. Kobalt canlıların metabolizması için gerekli elementlerden biridir (Smith ve Buddemeier, 1992). Bilinen hiçbir biyolojik işlevi olmayan Ag, su organizmaları için en toksik ağır metallere biri olarak kabul edilir (Lima ve diğ., 1982; Ratte, 1999).

Bivalvler deniz suyunu süzerek beslendikleri sırada metal biriktirirler (Reinfelder ve diğ., 1997; Boisson ve diğ., 1998; Metian ve diğ., 2005). Son 30 yıl boyunca, mavi midye *Mytilus edulis*, deniz ortamındaki kadmiyum ve diğer metallere için en sık kullanılan izleme organizması olmuştur (Coleman ve diğ., 1986; Rainbow, 1995) ve birçok midye izleme projeleri yapılmıştır (Fowler ve Oregioni, 1976; Goldberg ve diğ., 1983; Amiard ve diğ., 1986; Thebault ve diğ., 2008).

Canlılarda metal veya radyonüklid biyobirikimi çözünmüş halde sudan alıma, besin yoluyla ve sediment yoluyla alım olmak üzere üç yolla meydana gelmektedir. Genel olarak, sediment, ²⁴¹Am gibi transuranik elementlerin biyotaya geçişinde önemli bir vektör olarak kabul edilir (Miramand ve diğ., 1982; Bustamante ve diğ., 2006; Ryan ve diğ., 2002). Buna karşılık, sedimanlardan Cs transferi nispeten sınırlı görünmektedir (Bustamante ve diğ., 2006; Borretzen ve Salbu, 2009). Bu nedenle, bu üç maruz kalma yolunun nispi katkısını daha iyi anlayabilmek için, deniz suyundan, besinlerde ve sedimentten radyonüklidlerin biyobirikiminin deneysel olarak belirlenmesi gerekli görünmektedir.

Metaller kirletici olarak değerlendirildiğinde, radyonüklidlerde olduğu gibi fizyolojik yarı-ömre sahip olmadıkları bilinmektedir. Bu durum metallere biyotada çok daha uzun süre kalma eğiliminde olduğunu göstermektedir. Çinko, kobalt gibi metabolik olarak gerekli olan metallere, belirli bir konsantrasyona kadar canlı üzerinde olumlu sonuçlara neden olurken, bu gerekli elementlerin konsantrasyonunun canlı vücudunda gereğinden fazla artması canlı için

toksik etkiye neden olmaktadır. Bununla beraber, kadmiyum, arsenik ve civa gibi metaller canlı için düşük konsantrasyonlarda bile toksik etkiye neden olmaktadır.

2.5.RADYOİZLEYİCİ TEKNİĞİ

Deniz canlılarında metallerin ve PAH-PCB gibi organik bileşenli kirleticilerin biyobirikiminin incelenmesi amacıyla radyoaktif izotoplarının (metaller için) ve radyoaktif işaretli formlarının (organik bileşikler için) kullanılması yöntemi radyoizleyici tekniği olarak adlandırılmaktadır (Kalaycı ve diğ., 2013; Sezer ve diğ., 2014).

⁵⁷Co, deniz canlılarında belirli bir konsantrasyona kadar metabolizma için gerekli olan bir metal olduğu (Nolan ve diğ., 1992), bu sebepten dolayı da deniz organizmalarında biriktirildiği bilinmektedir (Rainbow ve White, 1990). Okyanus asitlenmesi şartlarında bu kirleticinin deniz bivalvlerinde biyobirikimi artarsa toksik etkiye neden olabileceği düşünülmektedir.

Cs-134, ¹⁰⁹Cd ve ^{110m}Ag nükleer enerji santrallerindeki sızıntılardan çevreye dağılan radyonüklidlerdir. Geçmişte meydana gelen nükleer silah denemeleri, Çernobil ve Fukuşima nükleer santral kazaları sonrasında atmosfere ve ardından biyotaya dağılım göstermiştir (Güngör ve diğ., 2001). Özellikle, nispeten uzun yarı ömre sahip olan ¹³⁷Cs gibi radyonüklidler günümüzde deniz ortamında ve deniz canlılarında hala yüksek konsantrasyonda bulunan radyonüklidler arasındadır (Kılıç ve diğ., 2014).

Metal ve radyonüklid biyobirikiminin deniz canlıları üzerindeki etkilerinin araştırılmış olduğu çalışmaların sayıları oldukça azdır (Topcuoğlu ve Van Dowen, 1997; Onat ve diğ., 1999; Güngör ve diğ., 2001; Topcuoğlu, 2001; Kalaycı ve diğ., 2013; Sezer ve diğ., 2014). Bununla birlikte, metal ve radyonüklid biyobirikimi sadece günümüz şartlarında incelenmiştir. Ülkemizde okyanus asitlenmesinin deniz omurgasızlarının herhangi bir biyolojik parametresine veya metal ve radyonüklid biyobirikimine etkilerini araştıran, sadece iki adet çalışma (biri bu tezden) literatürde yerini almıştır (Sezer ve diğ., 2018a,b).

3. MALZEME VE YÖNTEM

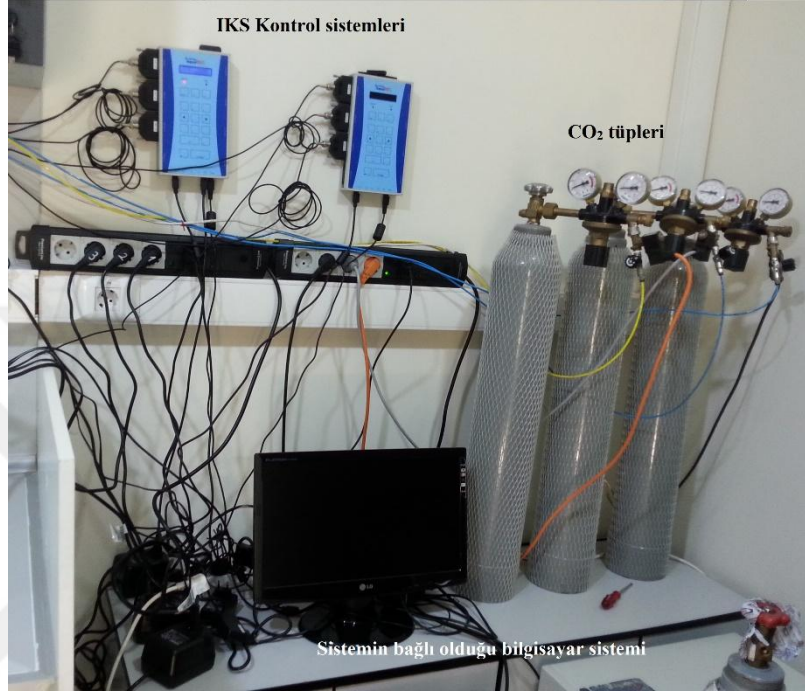
Okyanus asitlenmesi ile ilgili yapılan deneysel çalışmalarda suyun pH değerinin ve karbonat kimyası ile ilgili değişkenlerin hassas bir şekilde ölçülmesi ve deneyler süresince çok iyi takip edilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada pH değerleri IKS Aquastar (Karlsbard) deniz suyu şartlandırma sistemi ile kurulmuş ve devamlı olarak takip edilmiştir. Sıcaklık değerleri de aynı sistem üzerinden takip edilmiştir. Diğer taraftan alkalinite suyun ne kadar asidite tamponlayıcı alkali kimyasallar içerdiğini gösteren bir parametredir. Bu nedenlerle pH değerinden sonra okyanus asitlenmesi çalışmalarında en önemli parametre toplam alkalinite A_T 'dir. Deniz suyu pH ve toplam alkalinite değerlerinin her ikisi de kullanılarak deniz suyunun diğer önemli inorganik karbon değişkenleri olan pCO_2 , CO_2 kısmi basıncı; CO_3^{2-} ve HCO_3^- : sırasıyla karbonat ve bikarbonat konsantrasyonları; C_T : toplam inorganik karbon; Ω_{arg} : aragonit doygunluk durumu; Ω_{cal} : kalsit doyma durumu hesaplanabilmektedir.

3.1.PH SİSTEMİ (IKS)

IKS cihazı, CO_2 tüpü ve pH problemleri kullanılarak akvaryumlarda istenilen pH değerleri tam zamanlı olarak ayarlanıp kontrol edilebilmektedir. Eğer IKS sisteminin pH problemlerinin suda ölçmüş olduğu değer istenilen değerden daha büyükse, sistem kendiliğinden devreye girerek akvaryuma CO_2 gazının salınmasını sağlamaktadır. CO_2 gazının akvaryumda daha iyi çözünebilmesi için CO_2 bağlantıları, hava motorlarının tam karşısına yerleştirilmektedir. Sistem akvaryumun pH'sı istenilen değere geldiğinde CO_2 salınımını selenoid valfler yardımıyla otomatik olarak kesmektedir. Akvaryumun pH değeri zamanla yükselmekte bu durumda IKS sistemi kendiliğinden devreye girmekte ve pH değerini hedeflenen değere tekrar düşürmektedir. Her akvaryum için ayrı olacak şekilde pH probu bulunmakta ve her akvaryum için ayrı pH değeri ayarlanabilmektedir.

IKS Aquastar, selenoid valfli CO_2 tüp ve akvaryumların içindeki pH problemleri arasındaki otomasyon sayesinde üç akvaryumdaki suların pH seviyeleri deneyler boyunca istenen seviyede (7,5, 7,8 ve 8,1) tutulabilmiştir. pH hedef değerinin 0,01 pH seviyesi üzerine çıktığında pH probu yoluyla bunu algılayan IKS Aquastar'ın CO_2 tüpünün selenoid valfine sinyal göndermektedir. Valfin açılarak pH istenen seviye gelinceye dek akvaryuma saf CO_2 verilmektedir. Akvaryumların içinde devamlı bulunan pH problemleri IKS AQUASTAR marka

referans elektrot içeren cam elektrot tipindedir. Sistem akvaryumların pH ve sıcaklık değerlerini 15 dakikada bir bilgisayardaki programa kaydetmektedir. Böylece deney boyunca kaydedilen değerlerin ortalaması alınarak uygulanan deneysel pH ve sıcaklık değerleri bulunmuştur.

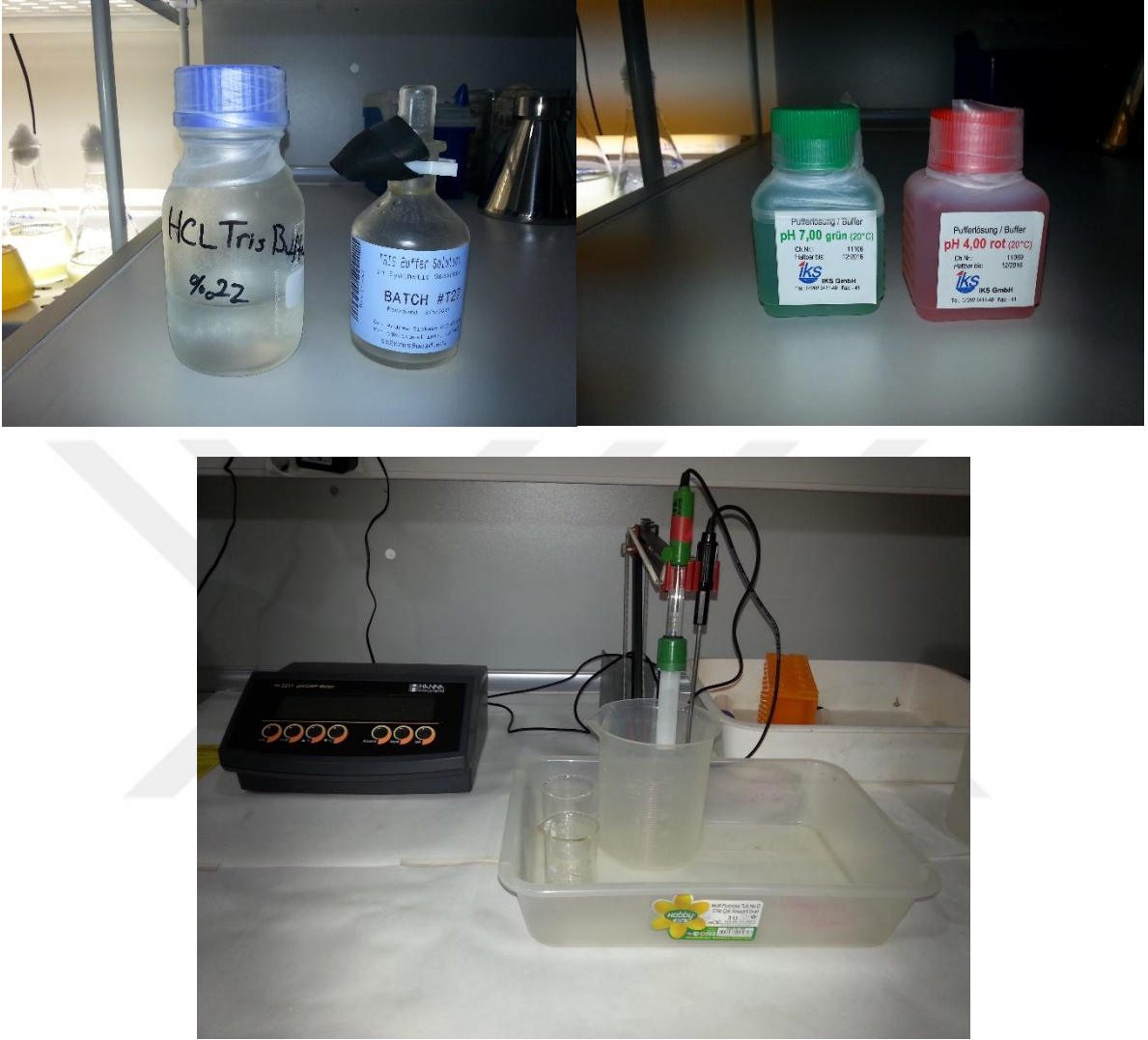


Şekil 3.1: IKS-Aquastar, bağlantılı bilgisayar ve CO₂ tüpleri

Akvaryumlara sistem tarafından otomatik olarak çok az CO₂ pompalanması bile bazen pH değerinin istenenden daha fazla düşmesine neden olmaktadır. Bunun engellenmesi için akvaryumlara bir motor yardımıyla kireç taşı (sodalime) ile zenginleştirilmiş hava da devamlı olarak eklenmiştir. Soda kirecinden geçen hava ile CO₂ pH'a olan etkileri bakımından birbirine zıt etki göstermektedir. Soda kireç taşı içerdiği bazı maddeler nedeniyle (kalsiyum hidroksit [$Ca(OH)_2$] (yaklaşık % 75), sodyum hidroksit [$NaOH$] (yaklaşık % 3), potasyum hidroksit [KOH] (yaklaşık % 1) suyu bazikleştirebilmektedir. Soda kirecinin akvaryumlara verilmesinin bir diğer nedeni kontrol akvaryumunda pH'ın 8,1 değerinin altına düşmesinin engellenmesidir. Sodalime pH'ı hafifçe yükselterek gerçek anlamda bir "kontrol" olmasını sağlamaktadır.

3.2.İKS SİSTEMİNİN KALİBRASYONU

Tüm dünyada labortauvarlarda standart olarak kullanılan pH-metrelerde serbest hidrojen skalası (free hydrogen scale, pH_{free}) kullanılmaktadır. Bu skalada sadece serbest hidrojen iyonları dikkate alınır. Toplam pH skala (pH_T) veya deniz suyu pH skalası denilen skalada ise deniz suyundaki sülfat ve florit iyonları da dikkate alınmaktadır. IUPAC NBS (National Bureau of Standards) tarafından kabul edilen serbest H skalasına göre (pH_{NBS}) pH metreler düşük iyonik sertliğe sahip standart tamponlarla belirlenen pH skalasıdır. NBS pH tamponlarının iyonik sertliği ve deniz suyu iyonik sertliği arasındaki fark nedeniyle deniz suyunda pH ölçümlerinin potansiyometrik sistemlerle ölçülebilmesi için kalibrasyon yapılması gerekmektedir. Bu nedenle deniz suyu pH ölçümlerinde daha doğru sonuçlar veren toplam pH skalasının (total pH; pH_T) kullanılması gerekmektedir. Total pH skalasında H^+ iyonları yanı sıra florid ve sülfat iyonlarının da hesaba katılması doğru ölçüm sonuçları alınmasını sağlamaktadır. Standart pH metrelerle toplam pH belirlemek için özel olarak hazırlanmış kalibrasyon sıvılarına ihtiyaç vardır. Sentetik deniz suyu ile hazırlanmış Tris HCL tamponu (equimolar Tris buffer 0,04 mol/kg- H_2O Tris+0,04 mol/kg- H_2O Tris-HCl) toplam pH hesaplanmasında en sık kullanılan tampondur. Bu çalışma için tuzluluğu 35 psu olacak şekilde deniz suyu ile hazırlanmış Tris (2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol) HCL tamponu A.B.D.'nin Scripps Institution of Oceanography Marine Physical Laboratory'den tedarik edilmiştir (Dickson ve diğ., 2007). Tuzluluğu 35 psu olan bu tampon çözelti saf su ile sulandırılarak deneylerde kullanılan deniz suyuna uygun tuzluluğu 22 psu olan tampon elde edilmiştir. Her üç akvaryumdaki suların toplam İKS sisteminin vermiş olduğu pH_f değerlerinden pH (pH_T) seviyelerini belirlemek için pH ölçüm sistemi her hafta Tris-HCL buffer kullanılarak kalibre edilmiştir. Bu tezde verilen tüm pH değerleri toplam pH (pH_T) ölçeğinden verilmiştir.



Şekil 3.2: Akvaryumların pH değeri kalibrasyonlarının yapıldığı pHmetre

3.3.TOPLAM ALKALİNİTE ÖLÇÜMÜ

Toplam alkalinite (A_T) Gran yöntemi ile ölçülmüştür (Gran, 1952). Bu yöntem deniz suyunun sülfürik asid ile titrasyonuna dayanmaktadır. A_T ölçümüne başlanmadan önce pH elektrotlarının kalibrasyonu yapılmıştır. Toplam alkalinite (A_T) ölçümü için deneyin yapıldığı akvaryumların her üçünden de 100 ml deniz suyu örneği alınmış ve 0,45 μ m por çaplı filtre kağıtları kullanılarak süzölmüştür. Süzölmüş olan deniz suyu ayrı beherler içerisine alınmış, beherin içerisine manyetik karıştırıcı ve pH probu yerleştirilmiştir. Deniz suyu örneğinin titre

edilmesi amacıyla 0,01 N sülfürik asit (H₂SO₄) kullanılmıştır. Örnek içerisine eklenen sülfürik asidin tüm sıvıda dağılması için manyetik karıştırıcı kullanılmış, örneğin iyice karışması için yaklaşık olarak 30 saniye beklenmiştir. Asit eklemeye başlanmadan önce başlangıç pH değeri ölçülmüştür. Sülfürik asit; deniz suyunun içerisine yavaş yavaş ilave edilmiş, eklenen asit miktarına bağlı olarak değişen pH değerleri kaydedilmiştir. pH değeri 3,5-3,0 aralığına düşünceye kadar titrasyona devam edilmiştir. A_T Gran metoduna göre toplam alkalinite pH değerinin 3,5-3,0 aralığına kadar düşürülmesi sonucu yapılan hesaplama ile belirlenebilmektedir (Dickson ve diğ., 2007). Matematiksel olarak eklenen titrantın ml ve equivalent noktası tespit edilerek Gran F1 fonksiyonu elde edilmiştir. Titrasyon sonucunda GRAN grafiği üzerinden bikarbonat equivalent noktası bulunmuş ve buna göre toplam alkalinite $\mu\text{mol kg}^{-1}$ biriminden hesaplanmıştır.

$$F_1 = (V_0 + V) \times 10^{(-pH)}$$

V₀=Örnek hacmi (ml)

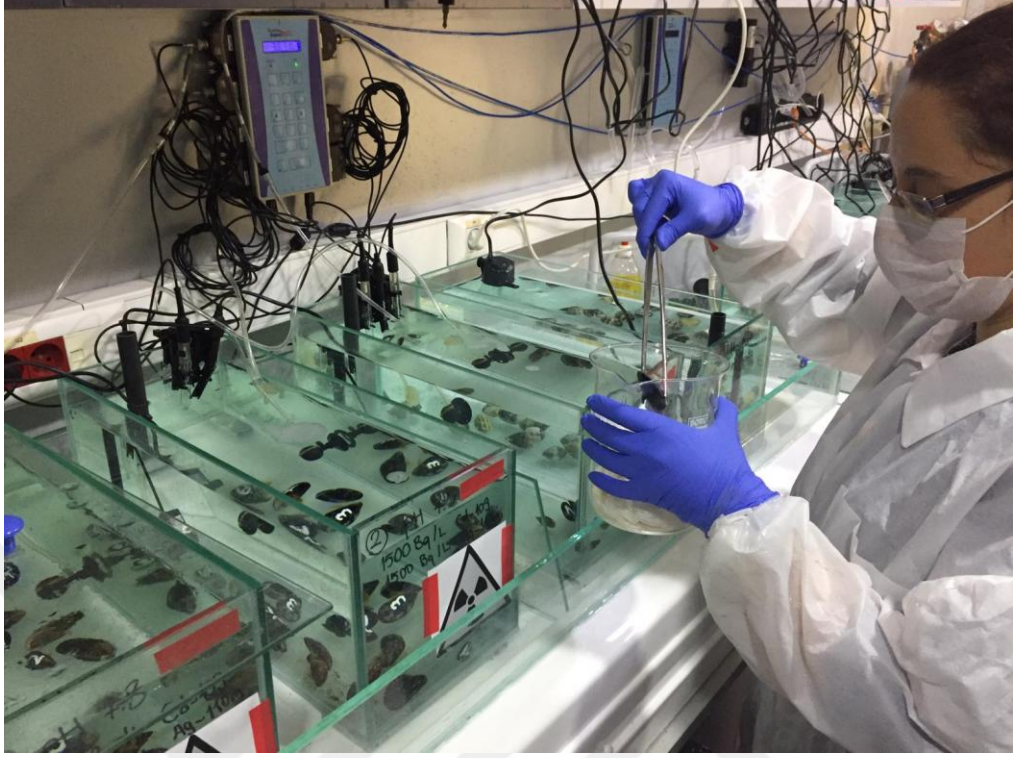
V=Titrant hacmi (ml)

Akvaryumlar, IKS Aquastar düzeneği, pH ve sıcaklık problemleri kurulduktan sonra tez deneylerine başlanmıştır. Tez çalışması kapsamında yapılan deneylerin kısa bir özeti Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1: Tez deneylerinin özeti

Deney no	Çalışılan tür	Radyonüklid	Deneyin içeriği
Deney 3.1	Manila Kum Midyesi (<i>Ruditapes philippinarum</i>)	²¹⁰ Po	<ul style="list-style-type: none"> Alım
Deney 3.2	İstiridye (<i>Ostrea edulis</i>)	¹³⁴ Cs, ⁵⁷ Co ve ¹⁰⁹ Cd	<ul style="list-style-type: none"> Biyokinetik: Alım ve atılım Doku dağılımı Hücre içi dağılımı
Deney 3.3	Karides (<i>Palaemon</i>)	^{110m} Ag	<ul style="list-style-type: none"> Biyokinetik: Alım ve atılım Doku dağılımı

	<i>adpersus</i>)		
Deney 3.4	Sediment su transferi (K_d)	^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs	
Deney 3.5	<i>Mytilus galloprovincialis</i> (TF sedimentten midyeye transfer)	^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs	<ul style="list-style-type: none"> • Alım
Deney 3.6	<i>Ruditapes philippinarum</i> (TF sedimentten midyeye transfer)	^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs	<ul style="list-style-type: none"> • Alım
Deney 3.7	Akdeniz midyelerinde (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	^{110m}Ag ve ^{109}Cd	<ul style="list-style-type: none"> • Biyokinetik: Alım ve atılım • Doku dağılımı
Deney 3.8	Akdeniz midyelerinde (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	^{110m}Ag ve ^{109}Cd	<ul style="list-style-type: none"> • Filtrasyon miktarı belirleme • İmmunomodülasyon testleri • Dolaşımdaki hücre dışı nükleik asit miktarının belirlenmesi



Şekil 3.2: Laboratuvarda örneklerin ölçüme hazırlanması.

3.4.OKYANUS ASİTLENMESİNİN MANİLA KUM MİDYESİNDE (*RUDITAPES PHILIPPINARUM*) ²¹⁰PO ATILIMINA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:

Kaynağı Marmara Denizi olduğu öğrenilen 128 adet Manila kum midyesi (*Ruditapes philippinarum*) (Adams & Reeve, 1850) Yeniköy Balık Pazarı'ndan Ocak, 2017 tarihinde alınmış ve Radyoekoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir.

Deneyde kullanılan deniz suyu yapay olarak laboratuvarda hazırlanmıştır. Yapay deniz suyu, canlıların toplanmış olduğu Marmara Denizi'nin deniz suyu fiziksel ve kimyasal özellikleri sağlanmaya çalışılmıştır. Yapay deniz suyunun hazırlanması için Aquarium Systems Ocean Instant marka deniz tuzu belirlenen miktarda saf su ile karıştırılmış ve tuzun su içerisinde tamamen çözünmesinin sağlanabilmesi için motor kullanılmıştır.



Şekil 3.3: Boyutlarına göre ayrılmış olan kum midyeleri (*Ruditapes philippinarum*).



Şekil 3.4: Üç farklı pH değerinde deniz suyu ile doldurulmuş akvaryumlarda bulunan kum midyeleri (*Ruditapes philippinarum*).

Deneyde etkili olacağı düşünülerek boy ve ağırlık bakımından yakın olan canlılar deney için seçilmiştir. Bu nedenle ağırlıkları ortalama $16,3 \pm 3,9$ gr, boyları ortalama $1,7 \pm 0,7$ cm olan kum midyeleri seçilmiştir. Canlılar laboratuvara getirildikten sonra, ilk durumdaki aktivitenin tespit edilebilmesi için 8 adet kum midyesi ayrılarak yumuşak doku ve kabuk olmak üzere disekte edilmiştir. Geri kalan 120 adet deniz tarağı ^{210}Po atılımının araştırılması için 3 akvaryuma eşit sayıda yerleştirilmiştir. Akvaryum pH değerleri şu şekildedir: 8,1: günümüz pH değeri, 7,8: 2100 yılında ulaşacağı tahmin edilen pH değeri, 7,5: 2300 yılında okyanusların ulaşacağı tahmin edilen pH değeri. Farklı pH değerlerinde canlıların vücudundan ^{210}Po atılımının araştırılması amacıyla kurulmuş olan sistemlerde önceden hazırlanmış olan yapay deniz suyu kullanılarak deneyin ilk haftasında her gün, geri kalan süreçte ise iki günde bir akvaryumlardaki deney suları değiştirilmiştir. Canlılar iki günde bir akvaryumların temizlenmesi ve deniz suyunun değiştirilmesi süresince beslenme kaplarına alınarak 30 dakika süre ile *Isochrysis galbana* türü fitoplanktonla beslenmiştir. Farklı pH değerlerinde incelenen canlılar beslenme periyodu boyunca farklı beslenme kaplarına alınmış ve böylece canlıların karıştırılması önlenmiştir. Beslenme periyodu sonunda canlılar temizlenmiş ve deniz suyu pH değerleri ayarlanmış olan akvaryumlara geri yerleştirilmiştir.

Polonyumun midye yumuşak dokusundan zamana bağlı atılımının incelenmesi için belirlenmiş olan tarihlerde 3 akvaryumdan da midyeler alınmış, yumuşak doku ve kabuk olarak disekte edilmiştir. Canlıların yumuşak dokuları, önce -20 °C'de dondurulmuş, daha sonrasında liyofilizatör (Labconco) yardımıyla -52 °C'de ve yüksek vakumla 2 gün süreyle dokuların soğuk olarak kuruması sağlanmıştır. Kurutulmuş olan örnekler, ezilerek homojen hale getirilmiştir. Analizlerin yapılabilmesi için, öncelikle örnekler organik maddeden arındırılmış ve ardından çapı 2 cm olan gümüş diskler üzerine ^{210}Po biriktirme işlemi (Depozisyon) yapılmıştır. Bunun için kurutulup sabit ağırlığa getirilen örneklerle bir seri işlem uygulanmıştır (Sethy ve diğ., 2015; Kılıç ve diğ., 2018).

- Kurutulmuş ve homojenize hale getirilmiş her midye örneğinden 0,3 g tartılmış ve sindirilerek örneklerin tamamen sıvı faza geçmesi için teflon kaplara alınmıştır.
- Örneklerin üzerine 10 ml konsantre (%65) HNO_3 ilave edilmiştir.
- İçerisine numune ve asit eklenmiş kaplar teflon kaplar Milestone marka Start D model 24 teflon tüplü sıcaklık kontrollü mikrodalga eritme sistemine yerleştirilmiştir.

- Mikrodalga cihazında eritme işlemine başlamadan önce, ölçüm veriminin hesaplanabilmesi amacıyla, örneklere izleyici olarak 100 mBq ^{209}Po eklenmiştir.
- İki aşamalı olarak yapılan sindirme işleminde; birinci adımda, mikrodalga fırın 180°C 'de 30 bar basınç altında 20 dakika süre ile çalıştırılmış, ikinci adımda ise, 180°C 'de 30 bar basınç altında 15 dakika süre ile çalıştırılmıştır. Birinci adımda, mikrodalga fırında ayarlanmış olan değerlerin sabit faza geçmesi beklenmiş, ikinci adımda ise, sabitlenmiş olan değerlerle örneklerde bulunan organik maddenin tamamen uzaklaştırılması ve örneklerin sıvı faza dönüşmesi meydana gelmiştir.
- Mikrodalga fırında örneklerin sindirme işlemi sona erdiğinde çeker ocak altında teflon kaplar açılmıştır.
- Örneklerde var olan konsantre asidin buharlaşmasının sağlanabilmesi için 200°C 'de ısıtma tablasına alınmıştır.
- Örneklerde var olan asidin iyice arındırılması amacıyla ısıtma tablasında kurutma işlemi sırasında belirli aralıklarla 3 defa yaklaşık 3-5 ml 0,5 M HCl solüsyonu eklenmiştir.
- Örnekler kurumaya yakınlaştığında asit buharlaştırma işleminin yapıldığı beherler içerisine 200 ml 0,5 M HCl ilave edilmiş, 125 mm por çaplı filtre kağıdından süzülerek 250 ml hacimli beherlere alınmıştır.

Depozisyon işleminde; çapı yaklaşık olarak 2 cm olan gümüş diskler alkolle temizlenmiştir. Temizlenen gümüş diskler, kapak ve manyetik bardan yapılan özel taşıyıcılara yerleştirilmiştir. 250 ml cem beherlerde bulunan örnek solüsyon içerisine hazırlanan bu taşıyıcılar konulmuştur. Fe^{+3} ve Fe^{+2} iyonlarının gümüş disk üzerinde birikimini engellemek amacıyla (polonyum birikimini engellemektedir) örnek solüsyonunun içerisine 0,4 g askorbik asit ilave edilmiştir (Kılıç ve diğ., 2014). Örnek solüsyonları manyetik karıştırıcılar üzerine alınmış ve 16 saat boyunca dakikada 680 devirde depozisyon işlemi sağlanmıştır. Depozisyon işleminin ardından gümüş diskler deiyonize su ile yıkanmış ve kuruması için bir petri kabı içerisine yerleştirilmiştir.

Po-210 radyonüklidinin aktivitesi, alfa spektrometresi (ORTEC Ensemble) kullanılarak yapılan ölçüm ile belirlenmiştir. Net pik alanları ORTEC Maestro 32 veri analiz sistemi kullanılarak hesaplanmıştır. Bu hesap işlemi için ^{210}Po 'un 5,30 MeV ve ^{209}Po izleyici radyonüklidin ise 4,88 MeV'lik enerjideki karakteristik alfa pik alanlarından yararlanılmıştır. Her bir detektörün enerji kalibrasyonu standart bir multi-alfa kaynağı kullanılarak yapılmıştır.

Her bir örnek en az 48 saat sayılmış, böylelikle sayım hatasının % 5'in altına düşmesi sağlanmıştır.



Şekil 3.5: Kum midyelerinin diseksiyonu.



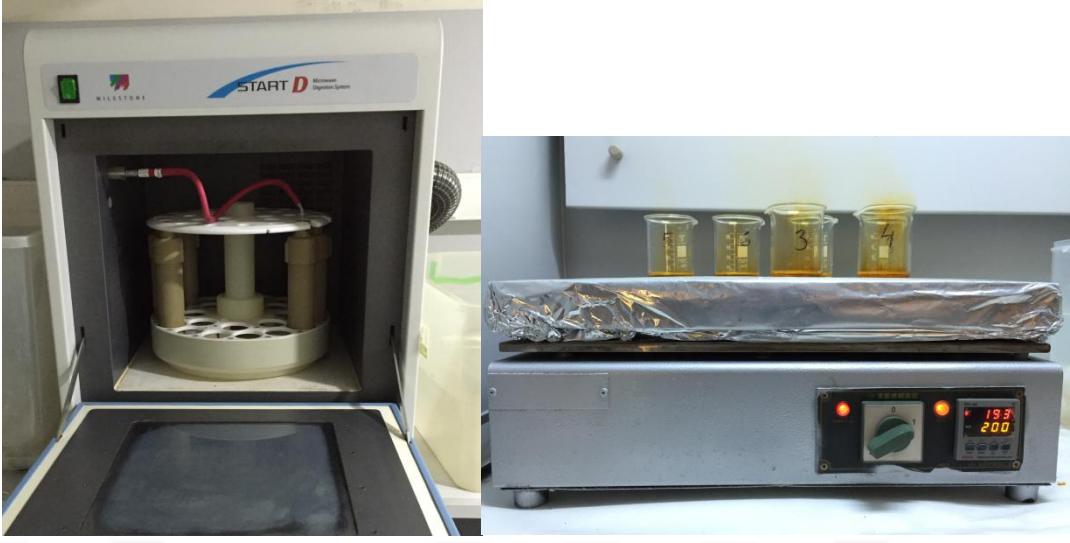
Şekil 3.6: Yumuşak dokuların liyofilizatörde kurutulması için hazırlanması

Çalışmadaki ölçüm verimi, ^{209}Po (0,1 Bq) standardı kullanılarak hesaplanmıştır. Kullanılan ^{209}Po standardı Eckert & Ziegler Isotope Products laboratuvarından satın alınmıştır. Hazırlanmış olan ara stoktan 0,25 ml alınarak, her bir örneğe aktivitesi 0,1 Bq olacak şekilde ^{209}Po izleyicisi ilave edilmiştir.

Çalışmada örneklerin ^{210}Po aktivitelerini belirlemek için “Ortec Alpha Ensemble” alfa spektrometresi kullanılmıştır. Alfa spektrometresi; iyon implante silisyum yüklü parçacık tipi, alanları 300 mm^2 olan 8 adet dedektörü ve dedektörlerin bulunduğu odacıkların iç basıncını düşüren bir vakum pompasından oluşmaktadır.



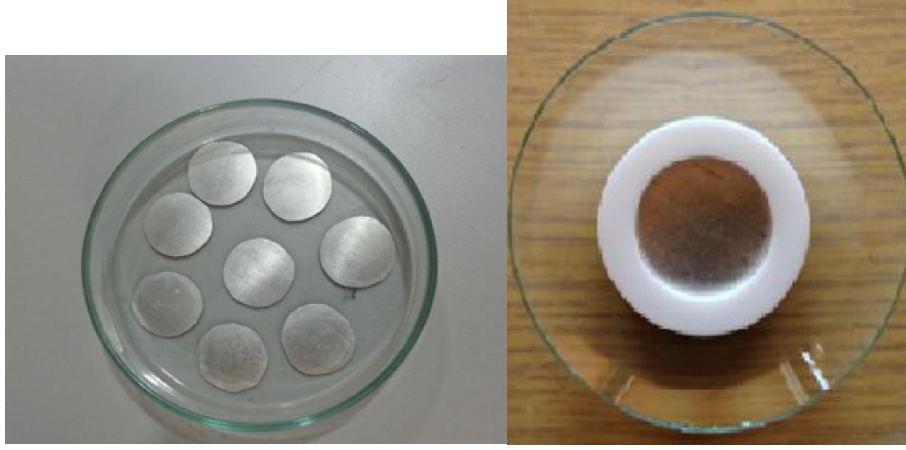
Şekil 3.7: Midye yumuşak dokularının liyofilizatörde kurutulması



Şekil 3.8: Mikrodalga fırında sindirme işlemine hazırlık ve dokulardan nitrik asitin uzaklaştırılması.



Şekil 3.9: Örneklerin gümüş disklere deposizyonu.



Şekil 3.10: Üzerinde polonyum biriktirilmiş gümüş diskler.



Şekil 3.11: Po-210 ölçümlerinin yapıldığı alfa spektrometresi.

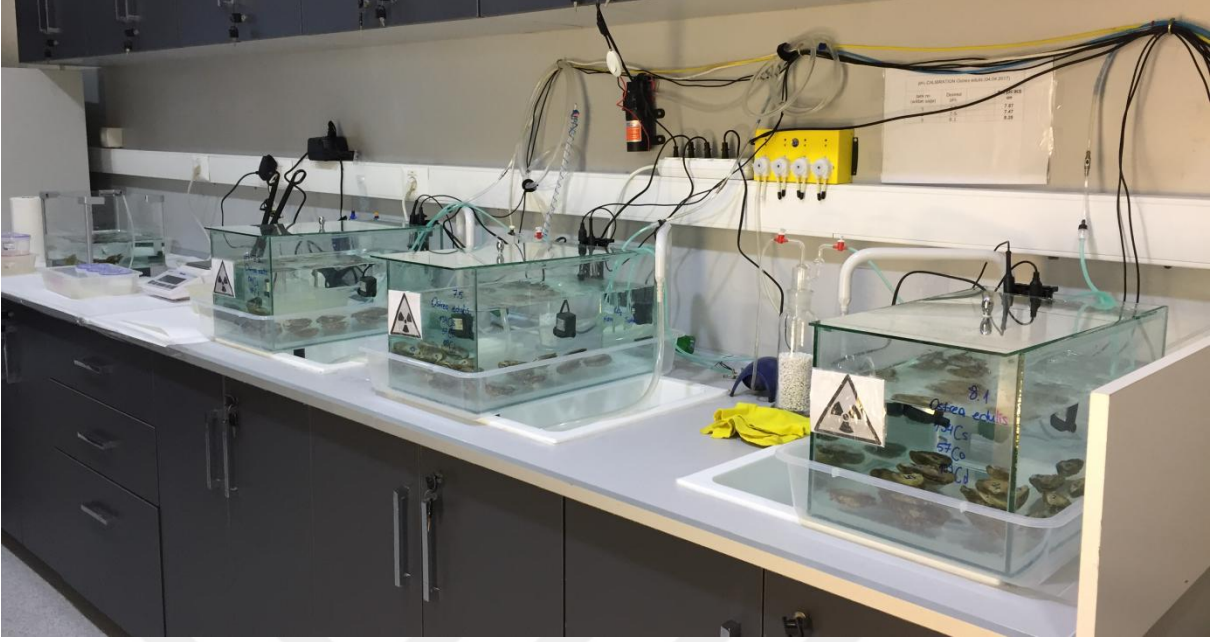
3.5.OKYANUS ASİTLENMESİNİN İSTİRİDYELERDE (*OSTREA EDULIS*) ¹³⁴CS, ⁵⁷CO VE ¹⁰⁹CD BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:

3.5.1. Alıştırma Periyodu

Yeniköy Balık Pazarı'ndan (Çanakkale Boğazı'ndan toplanmış) 36 adet istiridye *Ostrea edulis* (ing: European flat oyster) (Linnaeus, 1758) 01.03.2017 tarihinde satın alınmış ve Radyoekoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. İstiridyeler içerisinde 20 litre yapay deniz suyu bulunan akvaryumlar içerisine alınmıştır. Canlıların iki ay boyunca laboratuvar ortamına ve uygulanacak pH şartlarına uyum süreci devam etmiştir. İlk hafta laboratuvara adapte olabilmeleri için canlılara farklı pH değerleri uygulanmamış ardından kademeli olarak akvaryumlardaki deniz suyu pH değerleri azaltılarak canlıların deney için planlanmış olan pH değerlerine adaptasyonu sağlanmıştır. Deneyde kullanılmış olan deniz suyu, yapay olarak laboratuvarda hazırlanmıştır. Alıştırma periyodu boyunca akvaryumların suyu her gün değiştirilmiş ve canlılar iki günde bir *Isochrysis galbana* türü fitoplanktonla beslenmiştir. Alıştırma periyodu 3 ay süresince devam ettirilmiştir.



Şekil 3.12: Üç gruba (üç farklı pH uygulaması için) ayrılmış ve numaralandırılmış istiridyeler.

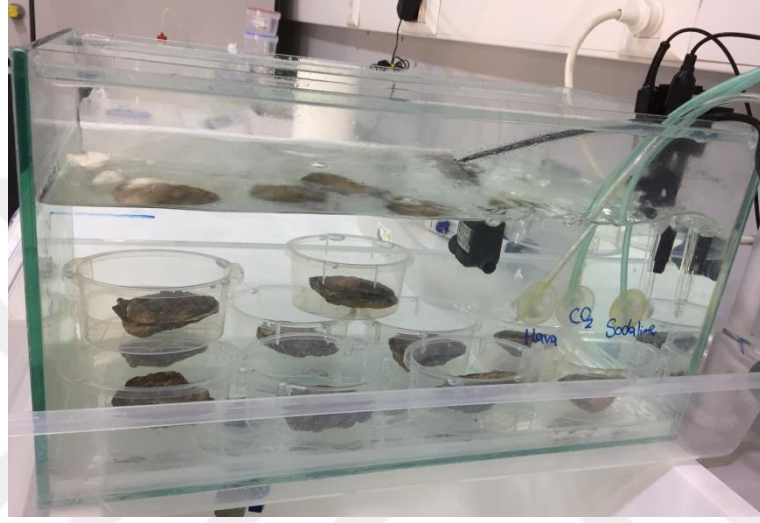


Şekil 3.13: Üç farklı pH’da istiridyelerde ^{134}Cs , ^{57}Co ve ^{109}Cd biyobirikim deneyi.



Şekil 3.14: *Isochrysis galbana* türü fitoplankton.

Alıştırma periyodunun ardından istiridyelerden 6 tanesi farklı bir akvaryuma alınmış, geri kalan istiridyeler üç akvaryuma bölünmüştür. Her akvaryumda 10 istiridye olacak şekilde ve istiridyelerin boy ve ağırlıkları yakın olacak biçimde ayrılmıştır. İstiridyelerin boyu ortalama $7,3 \pm 1,0$ cm ve ağırlığı ortalama $60,4 \pm 7,5$ g olarak kaydedilmiştir. Canlılar her akvaryum için ayrı ayrı numaralandırılmıştır. Her bir akvaryuma hava motoru yerleştirilerek oksijen sirkülasyonu sağlanmıştır.



Şekil 3.15: Akvaryumlara hava, karbon dioksit ve sodalime verilmesi.

3.5.2. Alım Deneyi

İstiridyelerin bulunduğu akvaryumların içerisine her su değişimi işleminden sonra suda çözülmüş olarak $150 \mu\text{l}$ $^{134}\text{CsCl}$ (0,1M HCl içerisinde CsCl olarak ^{134}Cs $T_{b_{1/2}} = 2,06$ yıl), $80 \mu\text{l}$ $^{57}\text{CoCl}$ (0,1M HCl içerisinde CoCl_2 olarak ^{57}Cs $T_{b_{1/2}} = 272$ gün) ve $10 \mu\text{l}$ $^{109}\text{CdCl}$ (0,1M HCl içerisinde CdCl_2 olarak ^{109}Cd $T_{b_{1/2}} = 462$ gün) ilave edilmiş ve her bir radyoaktif maddenin sudaki aktivitesinin $\sim 1000 \text{ Bq l}^{-1}$ olması amaçlanmıştır. Alım periyodu boyunca akvaryum hava motorları devamlı olarak çalıştırılmış akvaryumların her yerinde radyoaktivitenin aynı olması sağlanmıştır. Canlıların beslenmesi sırasında, canlılar beslenme kaplarına alınmış, içerisinde radyoaktif madde olmayan ve akvaryumlardaki pH değerlerinin ayarlanmış olduğu yapay suyu içerisinde beslenmiştir. Akvaryumlardaki deniz suyunun değiştirilmesi ve akvaryumlardaki deniz sularına istenilen pH değerlerinin ayarlanması sırasında canlılar beslenmiştir. Bu süreç yaklaşık olarak 30 dakika devam etmiştir. Akvaryumlardaki deniz

suyunun değiştirilmesinden ve istiridyelerin beslenmesinden önce canlılar gama spektrometresinde sayıma alınmıştır. Akvaryumlardaki suyun değişiminden önce her akvaryumdan 150 ml deniz suyu alınmış, bu suların ölçümü gama spektrometresinde yapılmıştır. Canlıların beslenmesinin ardından temizlenmiş olan akvaryumlardaki deniz suyuna, her değişimden sonra belirlenmiş olan aktivitelere radyonüklidler ilave edilmiştir. Radyonüklid deney suyunda iyice karışmasının ardından yine her akvaryumdan 150 ml deniz suyu alınmış ve sayımı yapılmıştır. Bu şekilde 3 tür sayım yapılmıştır: istiridyelerin sayımı, su değişiminden önce alınan su örneğinin sayımı, su değişiminden sonra alınan su örneğinin sayımı.

İlk sayım birikim deneyine başladıktan 24 saat sonra yapılmıştır. Sayım günlerinde öncelikle radyonüklidin bozunmasını ve cihazın hassasiyetini kontrol etmek amacıyla hazırlanan içerisindeki ^{134}Cs , ^{57}Co ve ^{109}Cd aktivite değerleri bilinen standart solüsyon ölçülmüştür. Sayım geometrisinin ölçülen her örnek ve standart için eş olması gerekmektedir. Bu amaçla disekte edilmiş olan bir istiridyenin yumuşak dokusu ve kabuk dokusu ayrılmış ve kabuk dokusuna aktivitesi bilinen radyoaktif maddeler eklenerek sayımı yapılmıştır. İstiridyelerin, akvaryumlardan alınan deniz suyu örneklerinin ve hazırlanmış olan standartların sayım süresi, sayımların hata oranının % 5'in altına düşene kadar devam ettirilmiştir.

Her bir örneğin sayımı yapılmadan önce, içerisinde temiz deniz suyu bulunan beher içerisine alınmış, bu beherde yıkanmış, ardından kurutulularak sayım kabına alınmış ve ağırlığı tartılmıştır. Her bir istiridye tek tek canlı olarak yaklaşık 10 dakika sayılmış, sayımdan sonra ait olduğu akvaryumlara yerleştirilmiştir. Alım deneyi bu şekilde 21 gün sürmüş, bu sürede 12 gün sayım yapılmıştır. 21 gün sonunda atılım deneyine geçilmiştir.



Şekil 3.16: Canlıların sayım kabına alınması ve sayımı.



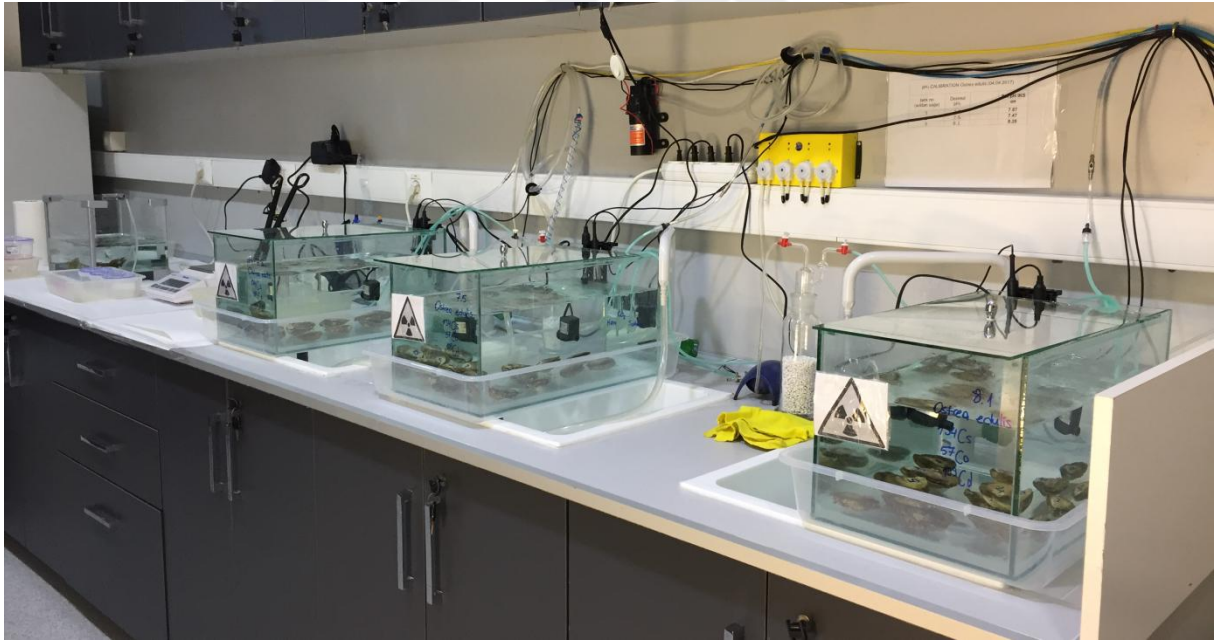
Şekil 3.17: Yüksek Saflıkta Germanyum (HPGe) dedektörlü gama spektrometresi.

3.5.3. Atılım Deneyi

Alım kinetiği incelenmiş olan istiridyelerde deney atılım kinetiğinin çalışılmasıyla devam edilmiştir. 21 günlük alım deneyinin ardından, akvaryumlar iyice temizlenerek radyoaktif

maddelerden arındırılmaya çalışılmıştır. Ardından üç akvaryuma da 20 litrelik yapay deniz suyu ilave edilmiş, pH seviyeleri alım deneyindeki pH değerlerine indirilmiştir. Alım deneyine benzer şekilde akvaryumlara CO₂, hava ve sodalime verilmeye devam edilmiştir. İstiridyeler akvaryumlara yerleştirilmiş ve alım deneyinde olduğu gibi atılım deneyinde de sayımlara aynı şekilde devam edilmiştir. Farklı olarak radyoizleyiciler eklenmemiştir. Atılım deneyinde her üç akvaryuma da 2 tane radyoışaretlenmemiş istiridyeye yerleştirilmiştir. Böylece radyoışaretlenmiş olan istiridyelerden (alım deneyinde kullanılmış olan istiridyeler) suya karışan radyoaktif madde aktivitesi ölçülerek düzeltme yapılabilmektedir.

Akvaryumlarda bulunan deniz suyu her gün değiştirilmiştir. Alım deneyinde olduğu gibi canlılar iki günde bir 30 dakika süreyle fitoplankton ile beslenmiştir. İstiridyeler beslenmeye alınmadan önce, canlıların bulunduğu akvaryumların pH değerine uygun olarak beslenme suyunun pH değeri de ayarlanmıştır.



Şekil 3.18: Üç farklı pH'da istiridyelerde (*Ostrea edulis*) ¹³⁴Cs, ⁵⁷Co ve ¹⁰⁹Cd atılım deneyi.

Alım deneyinde numaralandırılmış olan istiridyelerin sayımına devam edilmiştir. Kontrol grubunu oluşturan (radyoışaretlenmemiş) istiridyelerin de ölçümü yapılmıştır. Akvaryumdan çıkartılan istiridyeye sayıma alınmadan hemen önce içerisinde temiz deniz suyu bulunan beher içerisindeki sudan geçirilmiş (zayıf olarak bağlanmış radyonüklidlerin uzaklaştırılması için)

ardından kurulanmıştır. Daha sonrasında sayım kabına alınan istiridyeye tartılmış ve sayım için dedektöre yerleştirilmiştir. Yaklaşık olarak 15 dakikalık sayımın ardından, istiridyeler buldukları akvaryuma geri bırakılmıştır. Sayım işleminin bitmesinin ardından istiridyeler 30 dakikalık beslenmeye alınmıştır. İstiridyelerin farklı kaplara alınarak beslenmesi sırasında; yapay deniz suyu hazırlanması, akvaryumların temizliğinin yapılması, hazırlanmış olan deniz suyunun akvaryumlara yerleştirilmesi, deniz suyu pH değerlerinin ayarlanması işlemleri yapılmıştır.

Sayım geometrisinin ölçülen her örnek ve standart için eş olması gerekmektedir. Bu amaçla disekte edilmiş olan bir istiridyenin yumuşak dokusu ve kabuk dokusu ayrılmış ve kabuk dokusuna aktivitesi bilinen radyoaktif maddeler eklenerek sayımı yapılmıştır. İstiridyelerin, akvaryumlardan alınan deniz suyu örneklerinin ve hazırlanmış olan standartların sayım süresi, sayımların hata oranının % 5'in altına düşene kadar devam ettirilmiştir.

3.5.4. Doku Bazında Radyonüklid Dağılımının İncelenmesi

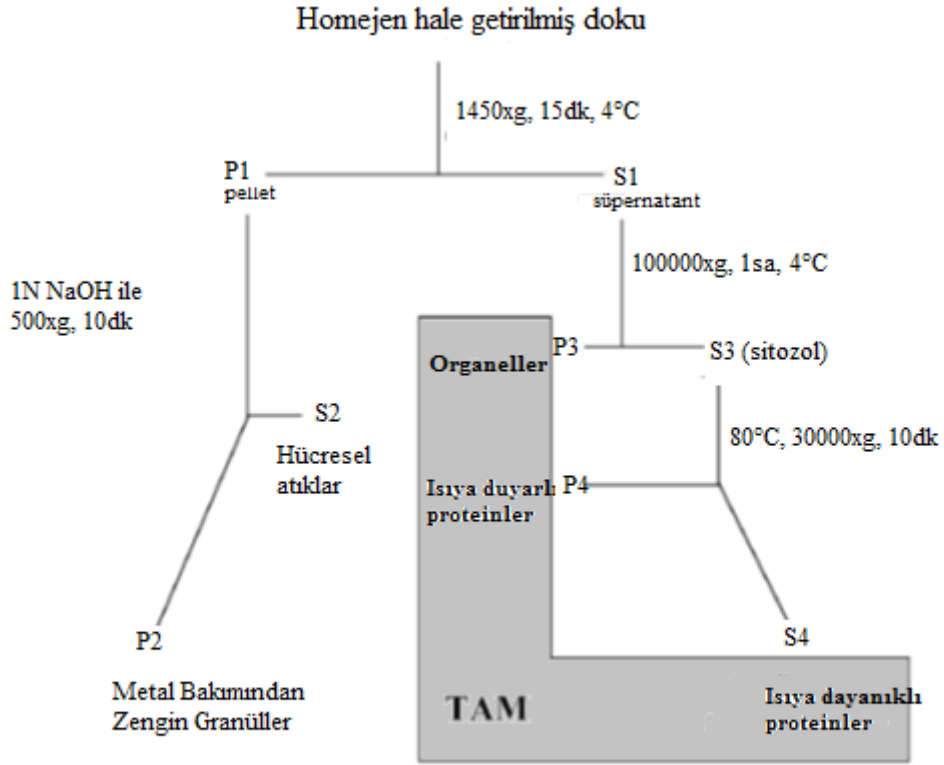
Atılım deneyinin sonlandırılmasının ardından her akvaryumdan alınan 4'er tane istiridyede radyonüklidlerin dokulara dağılımı incelenmiştir. Her bir istiridyeye; yaklaşıtrıcı kaslar, solungaç, manto, sindirim bezi, alt kapak ve üst kapak olmak üzere 6 kısma ayrılmıştır. Her canlı için disekte edilmiş kısımlar farklı sayım kaplarına alınmış ve üzerlerine 50 ml 2M HNO₃ eklenmiş ve HPGe dedektörlü gama spektrometresinde ölçüme alınmıştır.

3.5.5. ¹³⁴Cs, ⁵⁷Co ve ¹⁰⁹Cd Radyonüklidlerinin Hücre İçi Dağılımlarının Araştırılması:

İstiridyelerde atılım deneyinin bitmesinin ardından akvaryumlardan altışar tane istiridyeye alınarak -80 °C'ye konulmuş ve hücre içi radyonüklid dağılımı deneyine kadar muhafaza edilmiştir. Analiz günü donmuş olan istiridyeler çözdürülmüş, kumpas ile tekrar boyları ölçülmüş, ardından disekte edilmiştir. Her bireyin toplam yumuşak dokusu tartılmıştır.

İstiridyeye hücreleri bir dizi santrifüj ve ultrasantrifüj işlemi ile hücre altı bölümlerine ayrılmıştır. İstiridyelerin yumuşak dokuları, WiseTis (HD-15D) doku homojenizatörü ile 30 saniye orta hızda (600-800 rpm) 20 mM Tris buffer solüsyonu (doku ile buffer oranı ~1:10 olacak şekilde) ile homojenize edilmiştir. Homojen hale getirilmiş olan dokular, 15 ml santrifüj tüplerine alınmıştır. Önce, 1450xg, 4 °C'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Oluşan

pellet kısmı (P1) doku parçalarını ve diğer hücre kalıntıları (örneğin, membranlar, MRG (metal bakımından zengin granüller)) içermektedir. Süpernatant (S1) kısmının içeriğini ise, sitosol oluşturmaktadır. P1 üzerine yaklaşık 10ml 1N Sodyum hidroksil (NaOH) eklenmiş ve 5000xg'de 10 dakika santrifüj edilmiştir (Silverman ve diğ., 1983). Santrifüj sonrası oluşan pellet kısmı (P2) metal bakımından zengin granülleri (MRG), süpernatant (S2) kısmı ise, hücre kalıntıları içermektedir. S2 dokularda çözünmüş olan metal konsantrasyonunu ifade etmektedir (Wallace ve diğ., 1998). Çeşitli boyutlardaki MRG, membran sınırlı olabilir ve çeşitli organellerde yer alabilir, kullanılmış olan yöntem topluluklar halinde bulunan metallerin tespit edilmesi için en etkili yoldur (Wallace ve diğ., 2003). S1 100 000 x g, 4 °C'de 1 saat ultrasantrifüje (BECKMAN COULTER) alınmıştır. Oluşan pellet (P3) çeşitli organelleri (mitokondri, çekirdek, golgi gibi), süpernatant (S3) sitosol içermektedir. S3, 80 °C'de sıcak su içeren kap içerisine konularak yarım saat bekletilmiştir, böylece içerisindeki proteinlerin denatüre olması (yapısının bozulması) sağlanmıştır. Ardından S3, 30000xg de 10 dakika santrifüj edilmiştir (Bebianno ve Langston, 1992a,b). Oluşan pellet (P4), ısıya duyarlı proteinleri (enzimleri) içerirken, süpernatant (S4) ısıya dirençli proteinleri (MT ve MT benzeri proteinler) içermektedir.

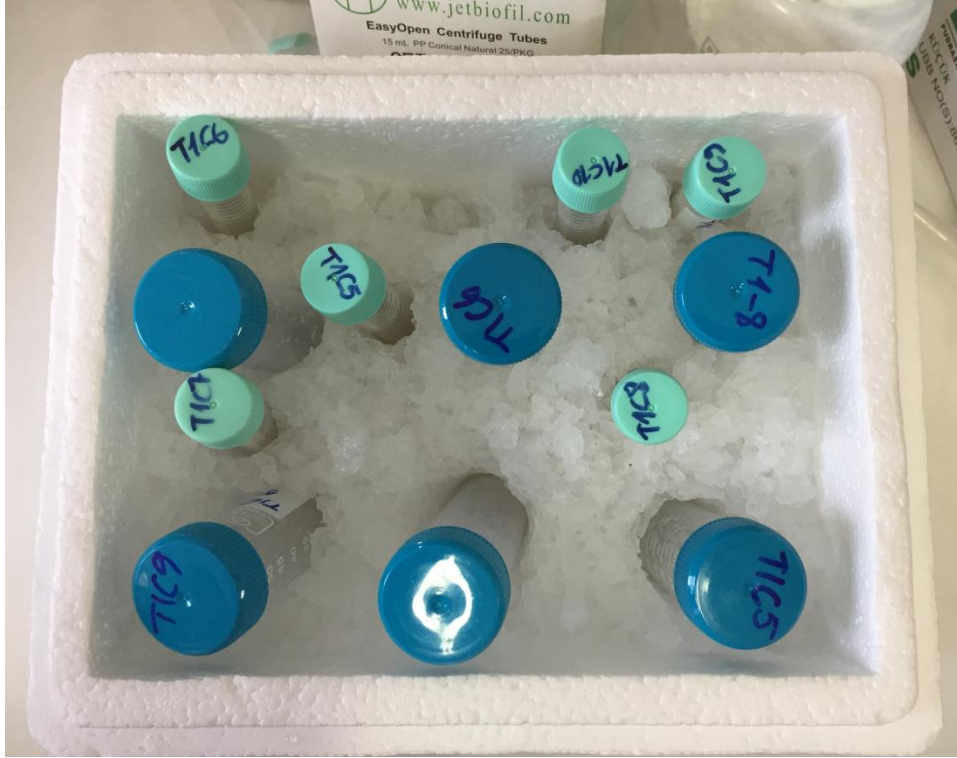


Şekil 3.19: İstiridyeye yumuşak dokularında subsellular dağılım prosedürü.

Sonuç olarak istiridyeye yumuşak doku hücreleri 5 kısma ayrılmıştır. Bu hücre altı kısımlar: 1- hüresel atıklar (debris), 2- metal bakımından zengin granüller (MRG), 3- organeller, 4- metalotiyonin benzeri proteinler (MTLP), 5- ısıya duyarlı proteinler (HSP). Bu şekilde her akvaryumdan 6 istiridyeye ait 5'er hücre altı örnek (toplam 30 örnek) yüksek saflıkta germanyum (HPGe) dedektörlü gama spektrometresinde ^{134}Cs , ^{57}Co ve ^{109}Cd radyonüklidlerinin aktiviteleri ölçülmüştür.



Şekil 3.20: $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'den çıkarılan istiridyelerin yumuşak doku ve kabuk olarak ayrılması, yumuşak dokuların homojen hale getirilmesi.



Şekil 3.21: Homojen hale gelen yumuşak dokuların buz içerisinde bekletilmesi.



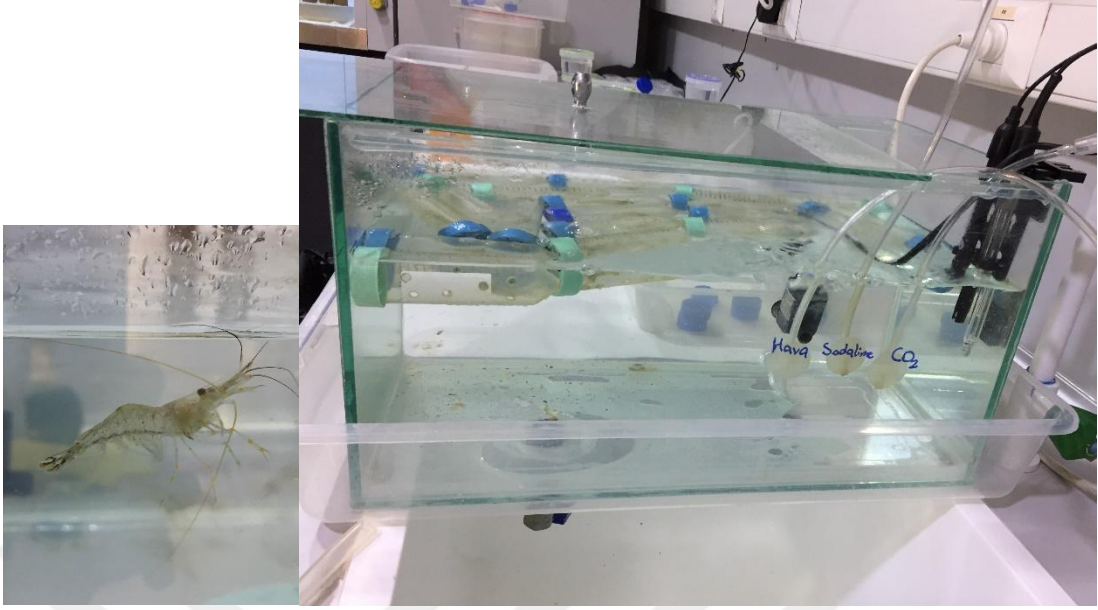
Şekil 3.22: Proteinlerin sıcaklıkla denatüre edilmesi.



Şekil 3.23: Santrifüj işleminde kullanılan soğutmalı santrifüj ve ultrasantrifüj

**3.6.OKYANUS ASİTLENMESİNİN KARİDESLERDE (PALAEMON
ADSPERSUS) ^{110M}AG BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI:**

25.10.2017 tarihinde Yeşilköy balıkçı barınağında toplanan karidesler İstanbul Üniversitesi, Radyoekoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Karideslerin alınmış olduğu bölgedeki deniz suyu bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri şu şekildedir: pH: 8,49, tuzluluk: 22,3 psu, sıcaklık: 18,5 °C, çözünmüş oksijen: 6,03 mg^l⁻¹, iletkenlik: 35,4 mScm⁻¹. Kıyıda deniz tabanı taranarak yaklaşık olarak 70 adet karides toplanmıştır. Birbirine yakın boy (4,1±1,2 cm) ve ağırlıkta (1,6±0,8 g) olan karidesler seçilmiştir. Laboratuvara getirilen karidesler 3 farklı pH değerinin uygulandığı cam akvaryumların her birine 22 adet olacak şekilde yerleştirilmiştir. Bir haftalık laboratuvar adaptasyonu periyodunun ardından, 7,8 ve 7,5 pH değerlerinin uygulandığı akvaryumlarda IKS sistemini ile pH değerleri ayarlanmıştır. Karidesler su geçişine olanak sağlayacak şekilde delikler açılmış olan 50 ml falkon tüplerinin içerisine alınmıştır. Böylece canlıların numaralandırılması yapılmış, sayımı yapılacak olan canlıların belirlenmesi ve karıştırılmaması sağlanmıştır. Ayrıca karideslerde, kanibalizm olayının yaşanması da bu şekilde engellenmiştir. Alıştırma periyodu sırasında karideslerde gözlenen dış iskelet değişimleri de kayıt altına alınmıştır.



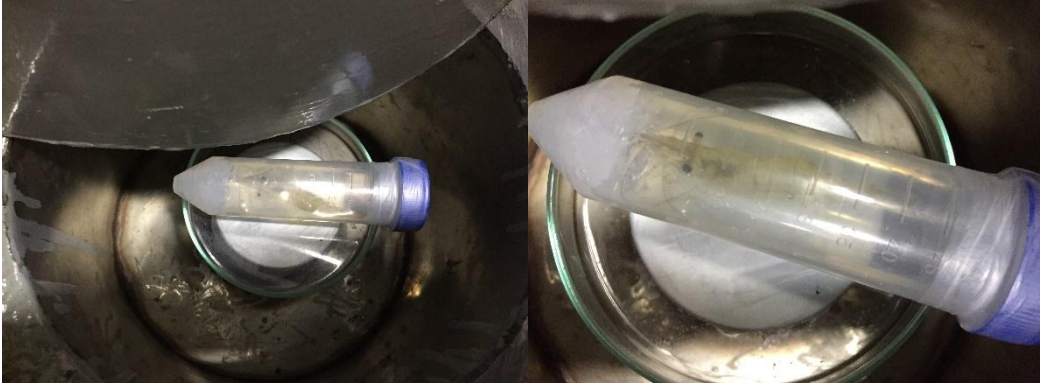
Şekil 3.24: Deney düzeneği.

3.6.1. Alım Deneyi

40 günlük alıştırma periyodunun ardından (laboratuvar adaptasyonu + pH adaptasyonu) karideslerde Ag-110m biyobirikim deneyine başlanmıştır. Karideslerin bulunduğu cam akvaryumlardaki deniz suyu içerisine 15 μl çözünmüş $^{110\text{m}}\text{Ag}$ (0,1M HNO_3 içerisinde AgNO_3 olarak $^{110\text{m}}\text{Ag}$ $T_{b_{1/2}} = 250$ gün) ilave edilmiş, akvaryumlardaki deniz suyu $^{110\text{m}}\text{Ag}$ aktivitesi 1500 Bq l^{-1} olacak şekilde ayarlanmıştır. İlk hafta her gün akvaryumlardaki deniz suyu değişimi yapılmış, her deniz suyu değişiminin ardından akvaryumlara yine aynı miktarda (15 μl) $^{110\text{m}}\text{Ag}$ eklenmiştir.

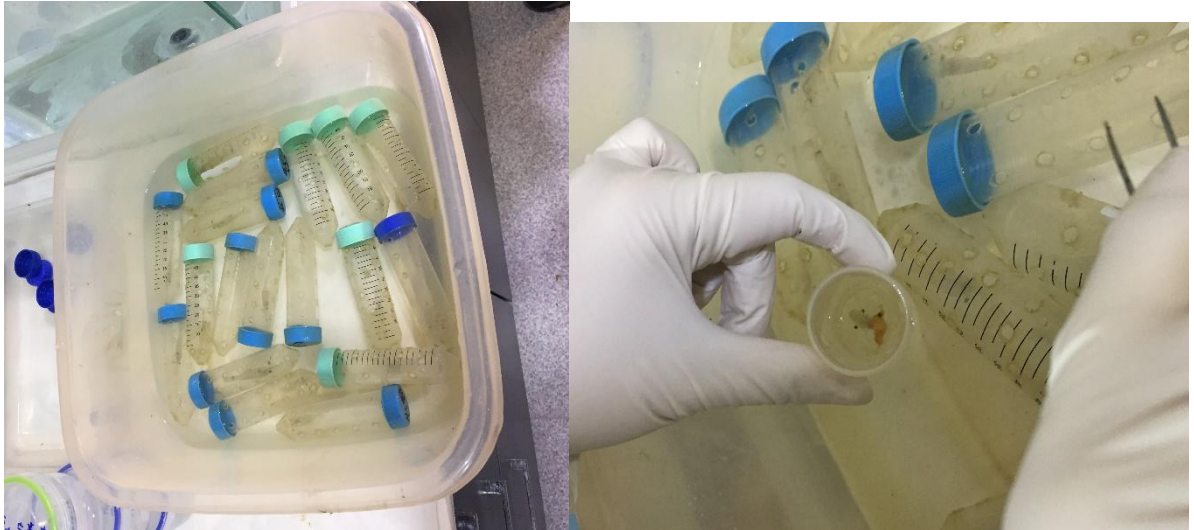
Besleme için karidesler iki günde bir ayrı plastik kaplara alınmıştır. Beslenme için önceden toplanmış olan *Mytilus galloprovincialis* türü midyelerin yumuşak dokuları kullanılmıştır. Dondurulmuş midye dokuları çözündürülmüş, ufak parçalar halinde ve her karides için eşit miktarda karideslerin bulunduğu falkon tüpler içerisine bırakılmıştır. Öncesinde karideslerin bulunduğu akvaryuma uygun olarak beslenmenin yapılacağı kaplardaki deniz suyu pH değerleri ayarlanmıştır. Beslenme kaplarına alınan karideslerin ağırlığıyla doğru orantılı olarak midye yumuşak dokusu falkon tüplerinin içerisine konulmuştur. Yarım saat süresince karidesler beslenmiştir. Bu sırada akvaryumlarda bulunan deniz suları boşaltılmış, akvaryumlar temizlenmiş, yeni hazırlanmış olan deniz suyu akvaryumlara konulmuş ve deniz suyuna Ag-110m ilave edilmiş ve pH değerleri ayarlanmıştır. Karidesler akvaryumlara

konulmadan önce kapların falkon tüplerinin içerisindeki besinler alınmış ve karidesler tüpler içerisinde akvaryumlara konulmuştur.



Şekil 3.25: Karideslerde ^{110m}Ag sayımı

14 gün boyunca karideslerde ^{110m}Ag radyonüklidinin biyobirikim deneyine devam edilmiştir. Ardından karideslerde bu radyonüklidin atılımı deneyine başlanmıştır. Alıştırma ve alım deneyi süresince karideslerde ölüm olayı meydana gelmemiştir.



Şekil 3.26: Karideslerin beslenmesi

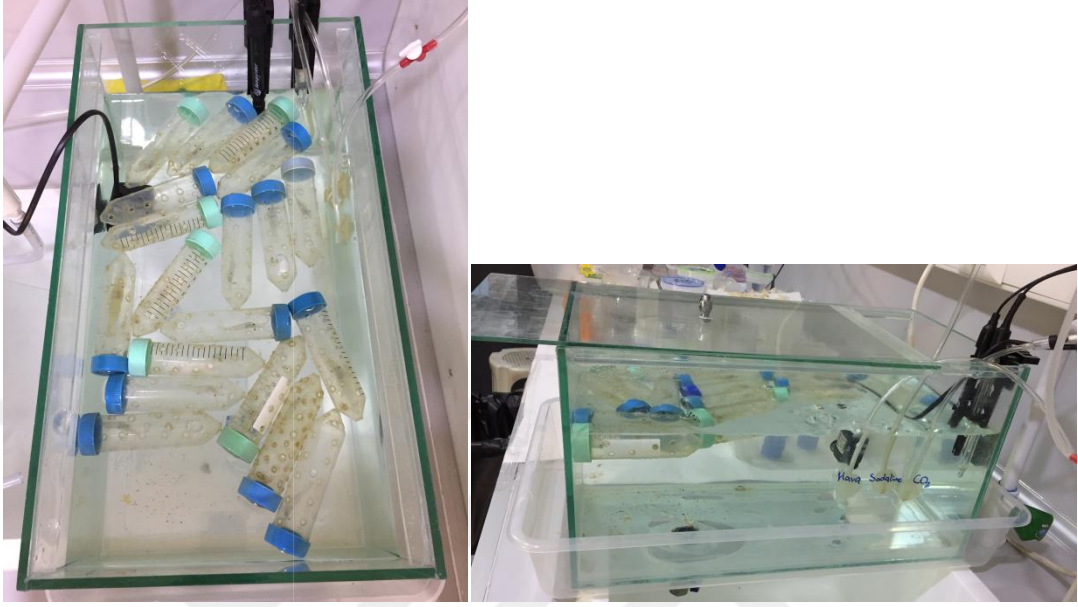


Şekil 3.27: Kabuk değiştirmiş olan karideslerin kabuk kalıntıları.

3.6.2. Atılım Deneyi

Karideslerde 14 gün ^{110m}Ag radyonüklidinin alım deneyinin hemen ardından, atılım deneyine başlanmıştır. Canlıların bulunduğu akvaryumlar ve canlıların içerisinde bulunduğu tüpler temizlenmiştir. Kapların temizlenmesinin ardından canlılar tekrar kendi kapları içerisine yerleştirilmiştir. Akvaryumların içerisine 15 litre deniz suyu ilave edilmiş ve ilk 2 hafta her gün değiştirilmiş, ardından iki günde bir değiştirilmiştir. Alıştırma periyodunda ve alım deneyinde olduğu gibi iki günde bir öncesinde düzenli olarak toplanan midye (*Mytilus galloprovincialis*) yumuşak dokusu ile karideslerin beslenmesine devam edilmiştir. Karidesler beslenme sırasında farklı akvaryumlar içerisine alınmış, öncesinde bulunduğu akvaryumun pH değerine uygun olarak beslenme kaplarında bulunan deniz suyu pH değeri ayarlanmıştır. Radyoaktif madde eklenmemiş temiz deniz suyunun akvaryumlara konulmasının ardından, karidesler belirlenmiş olan günlerde ölçümlerinin yapılması için tek tek ölçüm kaplarına alınmıştır. Atılım deneyi süresince 4 karides ölmüş, 38 karides kabuk değiştirmiştir. Alım ve atılım deneyinde karidesler buldukları numaralandırılmış falkon tüplerinden alınarak sayım için hazırlanmış sızdırmaz özellikte, içerisinde 25 mL temiz deniz suyu olan 50 mL falkon

tüplerine alınmıştır. Bu şekilde her bir karides 10'ar dakika tek tek sayılarak ait oldukları akvaryumlara geri konulmuştur.



Şekil 3.28: Karideslerin atılım deneyine alınması.

3.6.3. Karideslerde Ag-110m Doku Dağılımı

Atılım deneyinin ardından her akvaryumdan alınan 4'er karides kas ve geri kalan diğer kısımlar (dış iskelet, ekstremiteler ve iç organlar) olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Ayrılmış olan kısımlar tartılmış, ölçüm kaplarına alınmış ve üzerine 50 ml 2M HNO₃ ilave edilmiştir. Bu seyreltik asit ile homojenize edilen doku parçalarında daha önceki bölümlerde anlatıldığı şekilde ^{110m}Ag ölçümü yapılmıştır.

3.7.OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN SUYA ^{110M}AG, ¹⁰⁹CD VE ¹³⁴CS RADYONÜKLİDLERİNİN GEÇİŞ FAKTÖRÜNÜN (K_D) HESAPLANMASI:

Saros körfezi açıklarından dip kısmından toplanmış olan yaklaşık 15 kg sediment örneği Radyoekoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. Örneklerin yaş/kuru ağırlığı oranının tespit edilmesi için örnek LABCONCO Freezezone2,5 liyofilizatör ile kurutulmuştur. Tane boyu

analizi için 150 g sediment örneği yaş olarak tartılarak beher içerisine alınmış, üzerine distile su ilave edilerek karıştırılmış ve örnek içerisindeki tuzun çözünmesi sağlanmıştır. Bir gün bekletilerek partiküllerin dibe çökmesi sağlanmış ardından beher içerisindeki fazla su pipet yardımıyla alınmıştır. Beher içerisinde bulunan sediment örneği 50 °C’de etüve alınmış, kurutulmasının ardından kuru ağırlığı tespit edilmiş ve Retsch 6’lı elek sistemi kullanılarak tane boyu analizine alınmıştır. Sediment örneğinin tuzluluğu ölçülmüş, %23,4±0,3 olan tuzluluk değeri İstanbul deniz suyu değerlerine uygun olarak %19,5±0,4’e ayarlanmıştır.

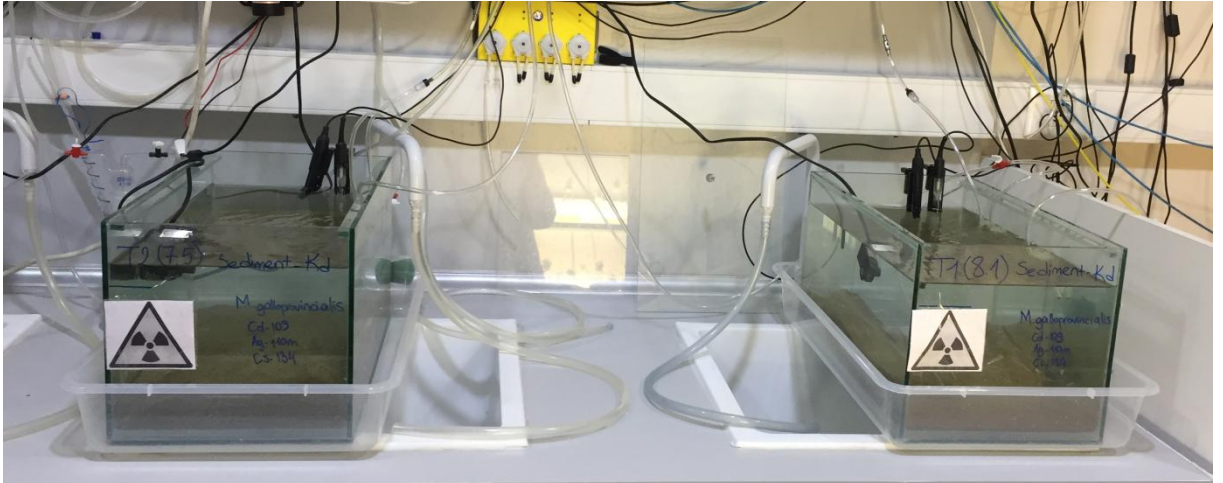
Sediment örneği plastik bir kap içerisine alınarak karıştırıcının üzerine yerleştirilmiştir. Sediment içerisine aktivitesi 1000 Bqkg⁻¹ olacak şekilde 150 µl ^{110m}Ag (0,1M HNO₃ içerisinde AgNO₃ olarak ^{110m}Ag T_{b,1/2}= 250 gün), 1000 Bq kg⁻¹ olacak şekilde 180 µl ¹⁰⁹Cd (0,1M HCl içerisinde CdCl₂ olarak ¹⁰⁹Cd T_{b,1/2}= 462 gün) ve 440 Bqkg⁻¹ olacak şekilde 1 ml ¹³⁴Cs (0,1M HCl içerisinde CsCl olarak ¹³⁴Cs T_{b,1/2}= 2,06 yıl) eklenmiştir. Öncelikle sediment örneği bir çubukla karıştırılmış, ardından karıştırıcıda1 hafta boyunca sediment içinde radyonüklidlerin homojen şekilde dağılması sağlanmıştır. Homojen hale gelmiş olan sediment, iki adet 25-l cam akvaryum içerisine yayılmış, bu işlem akvaryum dibinde 4 cm yüksekliğinde bir tabaka oluşturmuştur. Zayıf şekilde bağlı olan radyonüklidlerin sedimentten ayrılması için temiz deniz suyu ile birkaç defa yıkanmıştır (Danis ve diğ., 2003, 2005; Metian ve diğ., 2007). Ardından akvaryumlar içerisine radyoaktif madde içermeyen 15 l yapay deniz suyu (havalandırma sistemi, sıcaklık: 21,1±1,2 °C, tuzluluk: %19,5±0,4) ilave edilmiştir. Akvaryumlardan birinin günümüz denizlerinin sahip olduğu 8,1 pH değerine ayarlanmış, diğeri de yapılan çalışmalara göre düzenlenmiş olan senaryolara göre öngörülen 2300 yılı pH değeri 7,5’e (IPCC, 2003) ayarlanmıştır.

Her akvaryumdan yakın geometriye sahip üçer adet sediment örneği, üçer adet deniz suyu örneği alınarak gama ölçümüne alınmıştır. Sediment örnekleri akvaryum içerisinde 3 farklı bölgeden alınmış, ağırlığı tartılmış, sayım kabının her bölgesinde yüksekliğin yaklaşık olarak aynı olması sağlanmıştır. Akvaryum içerisinden alınan sediment örnek miktarı yaklaşık 50 g civarındadır. Benzer şekilde akvaryum içerisinden 3 farklı bölgeden deniz suyu örneği alınmış, tartılmış ve sayım kaplarına alınan örneklerin yaklaşık olarak benzer değerler olması sağlanmıştır. Ölçüm için hazırlanmış olan deniz suyu örnekleri yaklaşık 50 g civarındadır. Alınan sediment ve deniz suyu örneklerinin sayım kabı içerisindeki yüksekliğinin benzer

olmasına dikkat edilmiştir. Ölçümlerin süresi, hata oranı % 5'in altına düşecek şekilde ayarlanmıştır.



Şekil 3.29: Sedimentte tane boyu analizi.



Şekil 3.30: Günümüz şartlarında ve okyanus asitlenmesi şartlarında sedimentten suya radyonüklid geçişinin araştırılması.

Deniz ortamına salınan radyonüklidler ve deniz suyu kolonunda radyoaktif bozunma sonucu oluşan radyonüklidler, kimyasal özelliklerine göre su ve katı fazlar (askıda partikül madde ve alt sediment) arasında dağılmaktadır. İki faz arasındaki radyonüklid dengesinin modellenmesi için kullanılan bir parametre olan K_d değeri ile saptanmaktadır (IAEA, 2004). Ayırma katsayısı (K_d), bir radyonüklid için;

$$K_d = \frac{\text{Sedimentte bulunan radyonüklid aktivitesi } \left(\frac{Bq}{kg}\right)}{\text{Suda bulunan radyonüklid aktivitesi } \left(\frac{Bq}{kg}\right)} \quad (3.1)$$

olarak tanımlanır (IAEA, 2004). Radyonüklidlerin su ve sediment arasındaki dağılımı, radyonüklidlerin çevresel durumunda ve dolayısıyla bunların deniz organizmalarında birikmesinde önemli rol oynamaktadır. Örneğin, plütonyumun K_d değeri 1×10^5 'dir. Bir kez denize bırakıldığında, su kolonundan hızla atılır ve sedimentte birikir, trityum ($K_d = 1$) ve sezyum ($K_d = 4 \times 10^3$) deniz suyunda daha fazla çözünür ve su kolonunda çok daha uzun süre kalır. Çalışmalar bazı bentik organizmaların bazı radyonüklidleri sediment porları (genellikle düşük konsantrasyonda kirletici bulunur) arasında bulunan gözenek suyundan daha konsantre halde bulundurabildiklerini, bazı organizmaların ise organik maddeyi tekrar elde etmek için sedimenti vücut içine aldığını, bağırsaklarında radyonüklidlerin bağırsak geçişi sırasında radyonüklidin desorpsiyonunu arttıran asit ortamı yarattığını göstermiştir (Vangenechten ve diğ., 1983; Garnier-Laplace ve diğ., 1992). Süspansiyon şeklinde beslenen bazı bentik organizmalar, solungaçları vasıtasıyla aldıkları deniz suyundan sediment ve organik parçacıkları mukus katmanları üzerinde toplar, böylece bu yol ile askıya alınmış parçacıklarda radyonüklidler biriktirir (Fowler ve Carvalho, 1985).

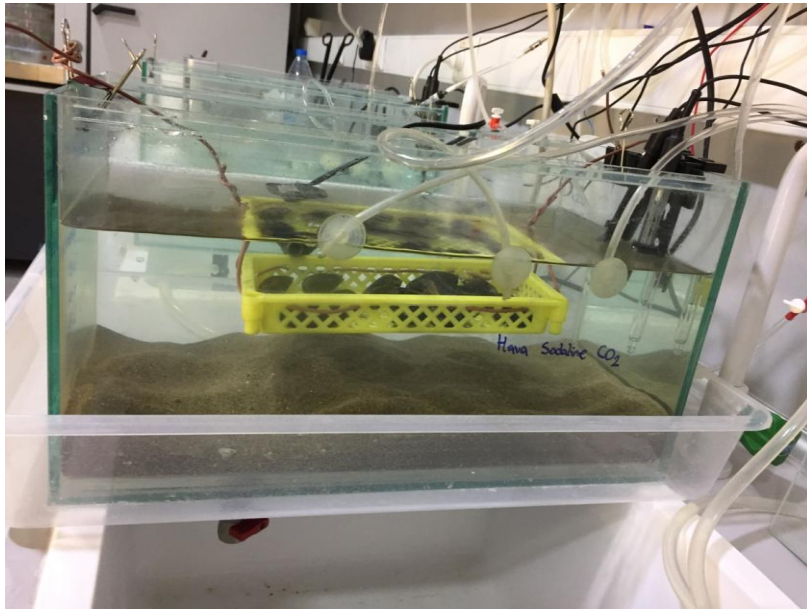
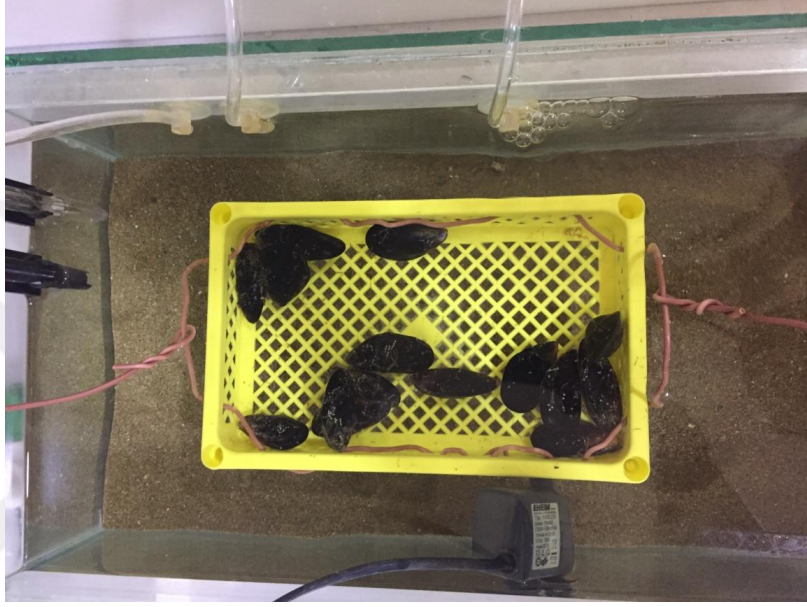
Çok sayıda canlı için yaşam ortamı sağlayan sediment (içinde veya üzerinde) için, özellikle yüzey sediment katmanları, sediment partiküllerine bağlanmış olan radyonüklidlerin, deniz biyotasına erişimini kolaylaştırır ve partikül alımı, radyonüklid biyobirikimi için bir yoldur. Fukushima nükleer kazasından sonra, Japonya kıyılarından gelen dip balıklarında ^{137}Cs ile ilgili yapılan birçok çalışma, sezyumun çökeltilere (sediment) katkısı nedeniyle deniz suyundan beklenenden daha fazla sezyum biriktiğini göstermiştir (Tateda ve diğ., 2013; Takata ve diğ., 2016).

3.8. OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN KARA MİDYEYE ^{110m}Ag, ¹⁰⁹Cd VE ¹³⁴Cs RADYONÜKLİDLERİNİN TRANSFER FAKTÖRÜNÜN (TF) HESAPLANMASI:

Ocak, 2018 tarihinde Sarayburnu sahilinden toplanan kara midyeler (*Mytilus galloprovincialis*) Radyoekoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. Midyelerin toplandığı bölgede deniz suyu parametreleri (9 °C sıcaklık, ‰19 tuzluluk, 8,39 pH) çok fonksiyonlu dijital ölçüm cihazı (HANNA) ile ölçülmüştür. Örneklerin üzerinde bulunan fauna temizlenmiş, örneklerin boy ve ağırlıkları ölçülmüştür. Benzer boyda (5,2±1,4 cm) ve ağırlıkta (16,1±3,4 g) olan 20 midye içerisinde 15-1 yapay deniz suyu bulunan 25-1 cam akvaryumlara alınmıştır. Midyeler, 3 hafta alıştırma periyoduna alınmış, bu süre boyunca iki günde bir midyeler *Isochrysis galbana* türü fitoplanktonla (akvaryumdaki hücre yoğunluğu 5x10⁴ hücre/ml olacak şekilde) beslenmiştir. Öncesinde içerisine konulan deniz suyunun pH değeri ayarlanmış olan kaplara alınan midyeler yarım saat süre ile beslenmiştir. Midyelerin beslenmesi sırasında akvaryumlar temizlenmiş, deniz suyu pH değeri ayarlanmıştır. Alıştırma periyodunun ilk 3 gününden sonra midyelerin bulunduğu akvaryumlardaki deniz suyu pH değerleri 8,1 ve 7,5 olarak ayarlanmıştır.

Akvaryumlara, canlılar için hava motoru, uygun pH şartlarının sağlanabilmesi için de CO₂ gazını baloncuklar şeklinde veren IKS sistemi ve kireç taşı içeren hava bağlantısı sağlanmıştır. Alıştırma periyodunun ardından midyeler dip kısmında bölüm 3.6'da anlatıldığı gibi ^{110m}Ag, ¹⁰⁹Cd ve ¹³⁴Cs ile radyoışaretlenmiş sediment bulunan akvaryumlara alınmıştır. Doğal yaşam ortamında *M. galloprovincialis* türü midyeler, sert bir substrat üzerine bisus adı verilen iplikçikleri ile tutunarak yaşamaktadır (Brown, 1952). Bu nedenle, akvaryumların içerisine sedimentin 15 cm üstünde suda kalacak şekilde askılar kurulmuş ve midyeler bu askının üzerine yerleştirilmiştir. Midyeler 7 gün boyunca akvaryumların içerisine radyoışaretlenmiş sedimentten radyonüklidlere maruz bırakılmış, 7. günün sonunda canlılar, önce temiz deniz suyu bulunan bir kap içerisine alınmış, ardından kurulanmış, tartılmış ve kabuk ve yumuşak doku (sindirim bezi, solungaç, gonad, manto, yakınlaştırıcı kas ve kalan yumuşak dokular) olmak üzere iki kısma disekte edilmiştir. Ardından kabuk ve yumuşak doku örnekleri sayım kaplarının içerisine alınmıştır. Yumuşak doku örneği bulunan kapların içerisine 50 ml 2M HNO₃ ilave edilmiş ve ölçüm için hazırlanmıştır. Midyelerin akvaryumlardan alınmasından önce ve sonra akvaryumlardan sediment ve deniz suyu

örnekleri alınmıştır. *M. galloprovincialis* türü midyelerin deniz ortamındaki kirleticilerin biriktirilmesinde indikatör tür olması (Topçuoğlu ve Van Dowen, 1997; Uğur ve diğ., 2002; Meli ve diğ., 2008) ve fazla miktarda su filtre edebilmesi (3-5 cm büyüklüğünde bir midyenin günde 30-40 l deniz suyu filtre edebilmesi) (Kılıç ve Çotuk, 2011) nedeniyle seçilmiştir.

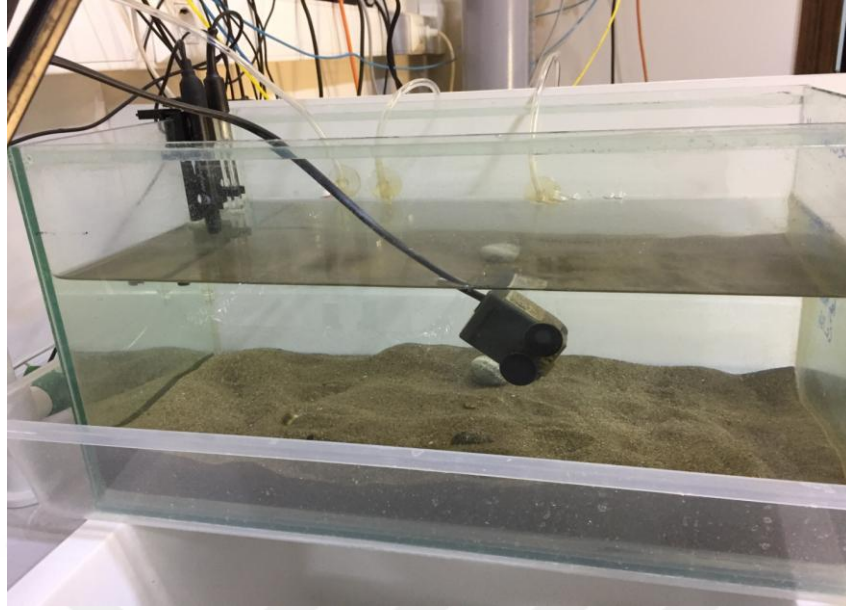


Şekil 3.31: Sedimentten midyeye (*Mytilus galloprovincialis*) radyonüklid geçişinin araştırılması.

3.9.OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN KUM MİDYESİNE ^{110m}AG, ¹⁰⁹CD VE ¹³⁴CS RADYONÜKLİDLERİNİN TRANSFER FAKTÖRÜNÜN (TF) HESAPLANMASI:

2018 yılı Şubat ayında Küçükçekmece sahil şeridinden toplandığı öğrenilen 12 adet kum midyesi (*Ruditapes philippinarum*) Yenikapı Balık Pazarı'ndan satın alınarak Radyoekoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. Benzer boy (4,1±1,1 cm) ve ağırlıkta (31,1±2,6 g) seçilmiş olan kum midyeleri iki günde bir *Isochrysis galbana* türü fitoplanktonla (5x10⁴ hücre/l yoğunlukta) beslenmiştir. İlk günün ardından kum midyelerinin bulunduğu akvaryumlardan birinin pH değeri 8,1, diğeri 7,5 olarak ayarlanmıştır. Kum midyeleri 2 hafta boyunca laboratuvar şartlarına adapte edilmiştir.

Alıştırma periyodunun ardından kum midyeleri, dip kısmında bölüm 3.6'da anlatıldığı gibi ^{110m}Ag, ¹⁰⁹Cd ve ¹³⁴Cs ile radyoişaretlenmiş ve ardından sediment tabakasının bulunduğu akvaryumların içerisine alınmıştır. *R. philippinarum* türü kum midyeleri sedimente gömülü olarak yaşamaktadır (Lee ve diğ., 1996). Kum midyeleri sediment yüzeyine bırakılmıştır. Kum midyelerinin sedimentten radyonükleri birikimi 7 gün boyunca devam etmiştir. 7. günün sonunda akvaryumlardan alınan kum midyeleri kabuk ve yumuşak doku (sindirim bezi, solungaç, gonad, manto, yakınlaştırıcı kas ve kalan yumuşak dokular) olarak disekte edilmiştir. Kabuk ve yumuşak doku örnekleri sayım kaplarının içerisine alınmıştır. Yumuşak doku örneği bulunan kapların içerisine 50 ml 2M HNO₃ ilave edilmiş ve ölçüm için hazırlanmıştır. Midyelerin akvaryumlardan alınmasından önce ve sonra akvaryumlardan sediment ve deniz suyu örnekleri alınmıştır.



Şekil 3.32: Sedimentten kum midyesine (*Ruditapes philippinarum*) radyonüklid geçişinin araştırılması. (Midyeler sedimentin içine gömüldükleri için görünmemektedir.)

3.10.OKYANUS ASİTLENMESİNİN FARKLI BÜYÜKLÜKTEKİ AKDENİZ MİDYELERİNDE (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*) GÜMÜŞ (AG-110M) VE KADMIYUM (CD-109) BİYOBİRİKİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:

3.10.1.Alıştırma Periyodu

Akdeniz midyesinde (*Mytilus galloprovincialis*) okyanus asitlenmesinin gümüş (Ag-110m) kadmiyum (Cd-109) biyobirikime etkilerinin araştırılması amacıyla, Tarabya sahil şeridinden toplanmış olan midyeler Radyoekoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Midyelerin alınmış oldukları bölgenin su parametreleri ölçülmüştür. Canlıların dış yüzeyinde bulunan epifauna temizlenmiş, boy ve ağırlıkları ölçülmüş ve canlılar alıştırma periyoduna alınmıştır. Boy olarak yaklaşık $5,0 \pm 0,6$ cm ve $2,5 \pm 1,1$ cm olan iki grup midye oluşturulmuştur. 3 farklı pH şartında (8,1: günümüz, 7,8: 2100 ve 7,5: 2300 yılı için öngörülen pH değerleri) midyelerde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd biyobirikiminin midyeler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Her 3 akvaryuma da 12 adet büyük boy ve 12 adet küçük boy midye yerleştirilmiştir. Aynı zamanda atılım

deneyinde kontrol grubu oluşturmak amacıyla, her iki gruptan da 10 adet midye farklı bir akvaryumda beslenmiştir.

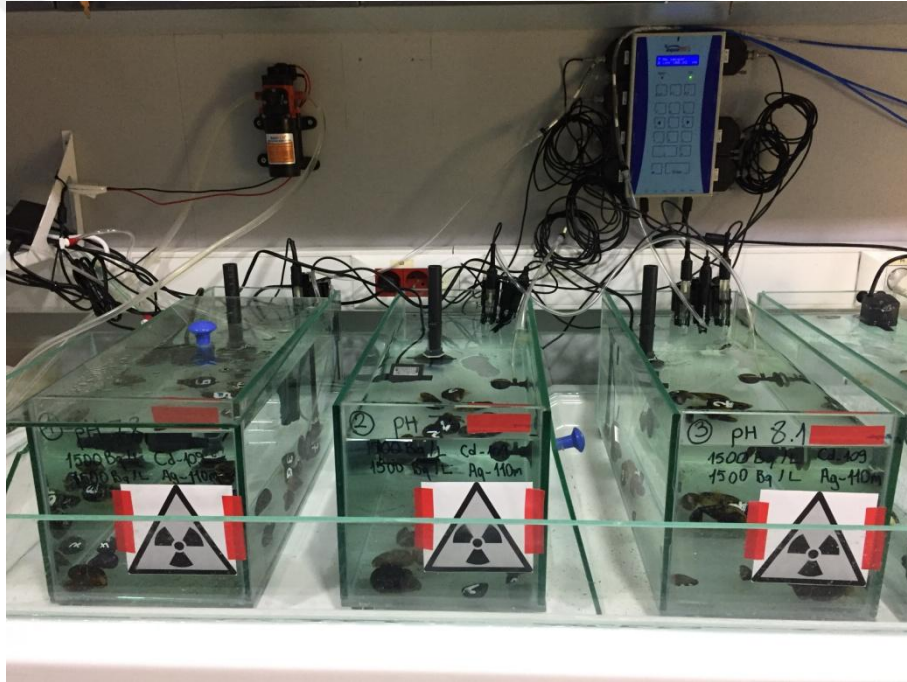
Laboratuvar şartlarına uyum sağlaması amacıyla midyeler 1 hafta boyunca, toplanmış oldukları bölgenin su parametrelerine uygun olarak, Yenikapı bölgesinden alınmış olan deniz suyunun filtre edilmiş olduğu akvaryumlar içerisine alınmıştır. İlk haftanın ardından midyeler buldukları akvaryumların pH şartlarına kademeli olarak indirilmiştir. Midyelerin 3 hafta boyunca akvaryumların pH şartlarına uyum sağlaması sağlanmıştır. Alıştırma periyodunda midyeler, iki günde bir *Isochrysis galbana* türü fitoplanktonla yaklaşık 30 dakika süreyle beslenmiştir. Alıştırma süresi boyunca, 1 adet midye ölmüştür.

Akvaryumlardaki deniz suyu alkanite değerleri ölçülmüştür (Gran, 1952). Ayrıca haftalık olarak, akvaryumlardaki pH değerleri ve A_T değerleri tespit edilmiş ve düzenlemesi yapılmıştır.

3.10.2. Alım Deneyi

Alıştırma periyodunun ardından midyelerde Ag-110m ve Cd-109 radyonüklidlerinin alım deneyine başlanmıştır. Akvaryum içerisine yerleştirilmiş olan 15 litre deniz suyu, öncesinde 0,45 μ por çaplı filtrelerle süzölmüştür. Ardından her 3 akvaryuma da Ag-110m ve Cd-109 eklenmiştir. Bu amaçla, 15 litre deniz suyu içerisine 150 μ l ^{110m}Ag ve 15 μ l ^{109}Cd (^{110m}Ag için 0,1M HNO₃ içerisinde AgNO₃ olarak ^{110m}Ag $T_{b_{1/2}} = 250$ gün; ^{109}Cd için 0,1M HCl içerisinde CdCl₂ olarak ^{109}Cd $T_{b_{1/2}} = 461,9$ gün) ilave edilmiş, akvaryumlardaki hava motorları yardımıyla radyonüklidlerin deniz suyu içerisinde iyice karışması sağlanmıştır. Akvaryumlardaki pH değerlerinin ayarlanabilmesi için de, CO₂ gazını baloncuklar şeklinde akvaryumlara veren IKS sistemi ve kireç taşı içeren hava sistemi bağlantısı kurulmuştur. Alım deneyi süresince akvaryumlardaki deniz suyu ilk hafta her gün, 2. hafta 6 defa, 3. hafta 5 defa değiştirilmiştir. Akvaryumlardaki deniz suyunun her değişiminin ardından tekrar radyoaktif maddeler belirlenmiş olan miktarda verilmiştir. Akvaryumlardaki deniz suyunun değişiminden önce ve akvaryumlardaki deniz suyuna radyoaktif maddelerin verilmesinin ardından yaklaşık olarak 150 g deniz suyu örneği alınarak ölçülmüştür. Beslenemnin yapılacağı kaplara alınan midyelere temiz deniz suyu ilave edilmiş ve akvaryumların pH değerlerine uygun olarak, pH değerleri ayarlanmıştır. Ardından *Isochrysis galbana* türü fitoplanktonla (yaklaşık 5×10^4 hücre/ml) yaklaşık yarım saat süresince beslenmiştir. Beslenme

sırasında, akvaryumlar yıkanarak artık maddelerden uzaklaştırılmıştır. Beslenmenin ardından, midyeler tekrar akvaryumlara alınmıştır. Alım deneyi boyunca, midyeler belirlenmiş olan tarihlere uygun olarak ölçüme alınmıştır. Midyelerin ölçümünde, öncelikle canlılar temiz deniz suyundan geçirilmiş, kurulanmış ve ölçüm kabına alınarak tartılmıştır. Ölçümlerin ardından midyelerin beslenmesi ve akvaryumların temizlenmesi yapılmıştır. Alım deneyine 21 gün süresince devam ettirilmiştir. Alım deneyinin bitimiyle her akvaryumdan, 5 adet büyük boy 5 adet küçük boy midye disekte edilmiştir. Küçük boy midyeler, yumuşak doku ve kabuk olarak ayrılırken, büyük boy midyeler, kabuk, manto, solungaç, yakınlaştırıcı kaslar, sindirim bezi ve kalan yumuşak dokular olmak üzere ayrılmıştır. Kabuk haricindeki dokular üzerine içerisine 50 ml 2M HNO₃ ilave edilmiş ve ölçüm kaplarına alınmış, tartılmış ve ölçüm için hazırlanmıştır.

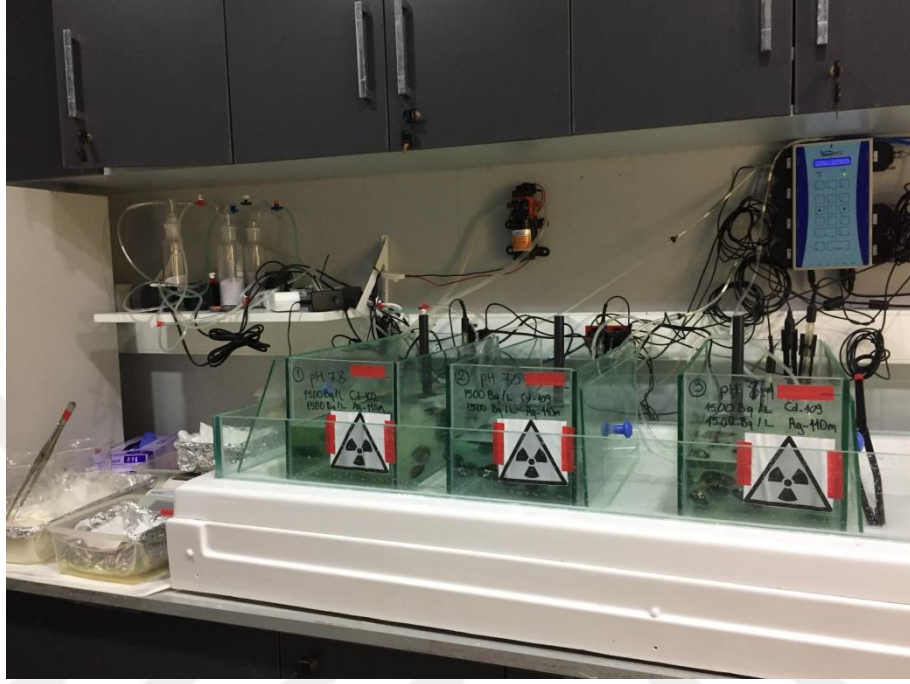


Şekil 3.33: Deney düzeneği.

3.10.3. Atılım Deneyi

Alım deneyinin bitiminden sonra, atılım deneyiyle devam edilmiştir. Atılım deneyi için akvaryumlar iyice temizlenmiş ve kirleticilerin ortamdaki uzaklaştırılması sağlanmıştır. Deniz suyunun filtre edilmesinin ardından, akvaryumlara alınmış ve pH değerleri ayarlanmıştır. Akvaryumlara midyeler yerleştirilmiştir. Akvaryumlarda deniz suyu ilk hafta her gün

değiştirilmiş, ardından iki günde bir değiştirilmeye devam edilmiştir. Atılım deneyi süresince, belirlenmiş olan günlerde midyelerin ölçümüne devam edilmiştir. Atılım deneyine 35 gün boyunca devam edilmiştir.



Şekil 3.34: Atılım deneyi.

3.10.4.Doku Dağılımı

Midyeler alım deneyinin ardından disekte edildiği şekilde atılım deneyinin sonunda da disekte edilmiştir. Küçük boy midyeler yumuşak doku ve kabuk olmak üzere ayrılmıştır. Büyük boy midyeler de kabuk, manto, solungaç, yakınlıştırıcı kaslar, sindirim bezi ve kalan yumuşak dokular olmak üzere ayrılmıştır. Ölçüm kaplarına alınan dokular tartılmış ve üzerine 50 ml 2M HNO₃ ilave edilmiştir. Bu şekilde homojenize edilen dokulardaki ^{110m}Ag ve ¹⁰⁹Cd aktiviteleri daha önceki bölümlerde anlatıldığı gibi ölçülmüştür.

3.10.5.Okyanus Asitlenmesinin Akdeniz Midyesinde (*Mytilus galloprovincialis*) Filtrasyon Oranı, Hücre ve DNA Bazında Toksikolojik Etkileri

3.10.5.1.Filtrasyon Oranı

Filtrasyon hızı, süspansiyon halinde beslenen bivalvlerin biyoenerjetik durumunu belirleyen çalışmaların temel bir parametresidir. Filtrasyon oranı 3 farklı pH değerinde tespit edilmesi için akvaryumlardaki deniz suyu temizlenmiş, ardından midyelerin beslenmesi için 5×10^4 hücre ml^{-1} olacak şekilde plankton ilave edilmiştir. Akvaryumlarda *Isochrysis* aff. *galbana* türü plankton kültürünün karışması için 2-3 dakika beklenmiş ardından, ilk konsantrasyonun belirlenmesi için her akvaryumdan 3 seri deniz suyu örneği alınmıştır. 1 saat midyelerin beslenmesi için beklenmiş ardından yine her akvaryumdan 3 seri deniz suyu örneği alınmıştır. İlk andaki ve 1 saat sonra alınmış olan örnekler bekletilmeden ışık mikroskobu altında Thoma lamında sayılmıştır. Filtrasyon oranının tespit edilmesi için, iki hafta boyunca 4 defa bu işlem uygulanmıştır. Elde edilen verilerle filtrasyon oranı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\text{Filtrasyon oranı} = \frac{V}{(nxt) \times \log\left(\frac{C_0}{C_{60}}\right)} \quad (3.2)$$

V: örnek hacmi (l); n: akvaryumdaki midye sayısı; t: zaman; C_0 : suda başlangıçtaki plankton konsantrasyonu; C_{60} : suda 1 saat beslenmeden sonraki plankton konsantrasyonu.

3.10.5.2. İmmünomodülasyon Testleri

Her gruptan 4 midyenin posterior yakınlıştırıcı kasından, 0,2 ml Alseve medyumunu (27mM $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 115mM D-glucose; 336mM NaCl; 9mM EDTA, pH:7,0) içeren steril 21G uçlu şiringalar kullanılarak 1:1 oranında hemolenf çekilmiştir. Midyelerden alınmış olan hemolenf örnekleri aynı pH değerleri ortak havuzda olacak şekilde bir araya getirilmiş ve deneyler süresince tüpler buz üzerinde bekletilmiştir. İmmünomodülasyon gerekli olan örnek miktarının sağlanabilmesi için hemolenfler ortak havuzda toplanmıştır.

Hemosit Yaşayabilirliği

Hemosit yaşayabilirliği, tripan mavisi ile muamele edilen hücrelerin belirli bir süre inkübasyonu sonrasında ölü ve canlı hücrelerin birbirlerine oranı şeklinde ifade edilmektedir (Bianchi ve diğ., 2019). Hemosit yaşayabilirliği için her deney grubu için hazırlanmış olan ortak havuzdan 100 µl hemolenf örneği alınmış, +4 °C'de 500g hızda 20 dakika protein ve hümorale yapıların uzaklaştırılması amacıyla santrifüj edilmiştir. Üst kısımda kalan süpernatant dikkatli bir şekilde alındıktan sonra üzerine aynı miktar Alseve solüsyonu ve 50 µl %0,2'lik tripan mavisi ilave edilmiş ardından vorteksle karıştırılmıştır. +4 °C'de 5 dakika inkübasyona bırakılmış, ışık mikroskobu altında Thoma lamıyla canlı ve ölü hemosit sayımı yapılmıştır. Canlı hemosit hücreleri şeffaf olarak görünürken, ölü hücreler mavi renkte gözlenmiştir. Canlı ve ölü hücrelerin sayımı her akvaryum için 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Elde edilen veriler yaşayan hücrelerin toplam hücrelerin sayısı oranı şeklinde yüzde (%) ile ifade edilmiştir (Bianchi ve diğ., 2019).

Lizozomal Membran Stabilizasyonu

Nötral kırmızı alım deneyi (Neutral Red Uptake Assay) toksikoloji çalışmalarında sıklıkla uygulanmaktadır. Çalışmalarda farklı koşullar arasında lizozomal membran stabilitesini ve hücrelerin pinositotik aktivite hızının değerlendirilmesinde ve farkın belirlenmesinde uygulanmaktadır (Matozzo ve diğ., 2012). Nötral kırmızısı hemosit hücreleri için toksik özelliğe sahiptir ve negatif yüklü hücre membranına katyonik özelliğinden dolayı kolay tutunma özelliğindedir. Hemositlerin bu boya ile muamelesi sonrasında lizozomlar nötral kırmızıyı hücre içine almaktadır. Hemositlerin buz üstünde nötral kırmızı ile inkübasyonu sırasında, sağlıklı olmayan hemosit hücrelerinin lizozom membran yapısı boyanın toksik özelliğinden dolayı bozulmaktadır. Nötral kırmızının hücre sitozolüne sızması sonucu hücre patlamaktadır. Çevresel etkilerin canlı hücreleri üzerindeki olumsuz etkileri hemositlerde strese neden olmakta ve hücrelerin membran stabilizasyonu daha hassas hale gelmektedir. Sağlıklı hücrelerle kıyaslandığında, bu hücrelerde daha yüksek oranda nötral kırmızı alınması meydana gelmektedir. Hücre dışındaki kısımlarda yer alan nötral kırmızı ve patlayan hücreler santrifüj aşamasında uzaklaştırılmaktadır.

Lizozom membran stabilizasyonu deneyi Bianchi ve diğ., (2019) tarafından uygulanan yöntemin uyarlanmasıyla yapılmıştır. Çalışma solüsyonunun hazırlanması için; 28 mg nötral kırmızı 1ml DMSO (dimetil sülfoksit) ile karıştırıldıktan sonra fizyolojik tuzlu su ile 500 kat seyreltilmiştir. Daha önce hazırlanmış olan hemolenf havuzundan 3 tekrarlı olmak üzere 300 µl örnek ve 150 µl çalışma solüsyonu karıştırılmıştır. Hücre süspansiyonu karıştırılmış ve buz üzerinde 1 saat bekletilmiştir. 1 saat sonunda örnekler 800 g 10 °C’de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üst kısımdaki süpernatant dikkatli şekilde alınmış, örnekler 1 ml Alseve solüsyonu ile yıkanmış ve pellet kısmına ekstraksiyon tamponu (distile suda %1 asetik asit, %50 etanol) ilave edilerek pelletin çözünmesi sağlanmıştır. Örnekler ağızları kapalı olarak oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiş, süre sonunda 150 µl süpernatant düz dipli 96-well plateelere alınmıştır. 550 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Biotek µQuant™) örneklerin absorpsiyon okuması yapılmıştır. Veriler, µg protein başına düşen optik yoğunluk (OD_{550nm}/µg protein) şeklinde hesaplanarak ifade edilmiştir (Bardford, 1976). Kör okumaları için hemosit hücreleri içeren örnek yerine DMSO ilave edilmiş ve tüm süreç aynı şekilde uygulandıktan sonra kuyularda aynı şekilde okuma yapılmıştır.

3.10.5.3. Dolaşımdaki hücre dışı nükleik asit değerlendirilmesi (ccf-DNA, ccf-RNA, ccf-miRNA)

Dolaşımdaki hücre dışı nükleik asitler, hücre dışında plazmada veya diğer vücut ve doku sıvılarında serbest halde bulunan nükleik asitleri ifade etmektedir. Dolaşımdaki hücre dışı nükleik asitlerin dolaşım sistemindeki varlığı ilk defa 1948 yılında Mandel ve Metais tarafından ortaya konulmuştur. Sonrasında 1970’li yıllarda kanserli hastaların dolaşım sisteminde varlığı vurgulanmış ve kanserli hastalarda dolaşımdaki hücre dışı nükleik asitlerin bulunma oranında artış olduğu belirtilmiştir (Leon ve diğ., 1977). Bu konuda yapılan sonraki çalışmalarda, dolaşımdaki hücre dışı nükleik asit sayısının sadece kanser hastalarında değil aynı zamanda, felç, diyabet ve dolaşım sistemindeki bozuklukları içeren hastalıklarla bağlantılı olabileceği düşünülmüş ve bu bağlamdaki çalışmalara ağırlık verilmiştir (Schwarzenbach ve diğ., 2011; Guay & Regazzi, 2013). Son dönemlerde, dolaşımdaki hücre dışı nükleik asit yoğunluğunun, hastalıkların tanısının değerlendirilmesinde etkili olabileceği ve tedaviye yönelik olarak belirteç olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir (Schwarzenbach ve diğ., 2011).

Dolaşımdaki hücre dışı MikroRNA (miRNA) miktarının saptanabilmesi için her midye örneğinin posterior yaklaşırtıcı kasından (her akvaryumdan 3 birey seçilmiş, toplam 3 akvaryumdan 15 birey seçilmiştir) 150 µl hemolenf sıvısı alınarak buz üzerine yerleştirilmiştir. Örnekler, 1000xg'de 10 dakika 4°C'de santrifüj edilmiştir. Üst kısımdaki süpernatant farklı, 16000xg 10 dakika 4°C'de santrifüj edilmiştir. Tekrar süpernatant kısmı DNase free tüplere alınmıştır.

Midyelerden hemolenf sıvısı herhangi bir medyum olmadan çekilerek dolaşımdaki toplam miRNA miktarı değerlendirilmiştir. Analiz işlemi Çağlar ve Çayır (2018) tarafından yapılan çalışmaya göre yapılmıştır. Her akvaryumdan 3 hayvandan ayrı ayrı olmak üzere hemolenf sıvısı steril 21G uçlu şırıngalar yardımıyla çekilmiş; çekilen sıvı DNase-free ependorflara konularak santrifüje alınmıştır. 2 aşamalı santrifüjün ardından (İlk olarak 3000g 4°C 'de 10 dk. boyunca örnekler santrifüjlenir ve süpernatant alınarak 16000g 4°C'de 10dk boyunca tekrar santrifüj edilmiştir. Son olarak süpernatant DNase-free ependorflara aktarılır.). Örnekler analiz zamanına kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir. Tüplerdeki total miRNA içeriği Quant-iT™ DNA assay kit (Quant-iT™ microRNA Assay Kit) ve Qubit florometre (Invitrogen, Carlsbad, CA) ile saptanmıştır. Örneklerdeki hücre-serbest total miRNA miktarı, önceden hazırlanan miRNA standart eğrisine göre değerlendirilmiştir. Örnekler 2 tekrar halinde analiz edilmiş olup, ortalamaları alınmıştır.

3.11. VERİ ANALİZİ, MODELLEME VE İSTATİSTİK

Bazı canlılar kirleticileri vücutlarında çevrelerinden daha fazla miktarlarda biriktirebilmektedirler. Bu durumda canlıların kullanılması kirletici düzeyinin saptanması bakımından son derece önemlidir. Sucul organizmaların kirleticileri biriktirme oranının tespit edilmesi için konsantrasyon faktörü terimi (ing: Concentration Factor) kullanılmaktadır (Pentreath, 1973, 1981). Sucul bir canlının bütün vücudundaki aktivite konsantrasyonunun ($Bq\ kg^{-1}$, yaş ağırlık), deniz suyundaki aktivite konsantrasyonuna oranı olarak tanımlanan konsantrasyon faktörü, sabit bir değer olmayıp birçok parametreye göre değişiklik göstermektedir (Vives i Battle ve diğ., 2009). Organizma bulunduğu ortamdan kirleticileri biriktirdiği süre içerisinde aynı zamanda metabolik faaliyetlerine devam ettiği için bu kirleticinin atılımını da gerçekleştirmektedir. Eğer canlıda birikim olayı atılım olayından daha

fazla miktarda gerçekleşiyorsa bu olaya, biyobirikim denir. Organizmadan uzaklaşan kirletici miktarı, organizmaya geçen miktardan daha fazla ise bu durumda biyoatılım olayından bahsedilir. Organizmaya giren madde miktarının uzaklaşan madde miktarına eşit olduğu durum ise denge durumudur ve konsantrasyon faktörü denge durumunda hesaplanmaktadır. Biyotadaki değişim hızı ve radyonüklidlerin birikimini tespit etmede kullanılan parametrelerden biri de biyolojik yarı-ömürdür (Vives i Batlle ve diğ., 2007).

$$CF = \frac{\text{Organizmada bulunan radyonüklid aktivitesi Bq/g}}{\text{Suda bulunan radyonüklid aktivitesi Bq/g}} \quad (3.2)$$

CF : Konsantrasyon faktörü

Deney süresince organizmalarda ve deney suyunda elde edilen ölçüm sonuçları kullanılarak her sayım günü için konsantrasyon faktörü değerleri hesaplanmıştır. Radyonüklid alımının zamana bağlı olarak incelendiği (biyokinetik) deneylerinde zaman-konsantrasyon faktörü ilişkisi regresyon analizi ile belirlenmiştir. En küçük kareler yöntemi ile regresyon analizi yapılmıştır. Radyonüklid (metal) alım eğrileri çift değişkenli asimptotik ekspanansiyel doyma denkleminde uygun gerçekleşmiştir. Denklemi şu şekildedir.

$$CF_t = CF_{ss}(1 - e^{-k_e t}) \quad (3.3)$$

CF_t t zamanındaki konsantrasyon faktörü (gün), CF_{ss} ($CF_{ss}=k_u/k_e$) denge durumundaki konsantrasyon faktörü; k_e ve k_u sırasıyla biyolojik atılım ve alım oranı sabitleri (Whicker ve Schultz, 1982).

Biyotatılım deneyinde, başlangıç anında aktivite değeri %100 olarak kabul edilmiştir. Ardından atılımın devam ettiği günlerde organizmada ne kadar radyonüklid kaldığı ilk günlük değer üzerinden kalan % değeri olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Relatif sayım} = \frac{\text{Örneğin verdiği net sayım}}{\text{Standardın verdiği net sayım}} \times 100 \quad (3.4)$$

Atılım deneyi süresince organizmalarda elde edilen ölçüm sonuçları her sayım günü için % kalan aktivite (ilk aktivitenin yüzdesi) değerleri hesaplanmıştır. Radyonüklid atılımının zamana bağlı olarak incelendiği (atılım biyokinetiği) deneylerinde zaman-canlıda kalan

aktivite ilişkisi regresyon analizi ile belirlenmiştir. En küçük kareler yöntemi ile regresyon analizi yapılmıştır. Canlıdan radyonüklid (metal) atılımı eğrileri tek veya çift tabakalı eksponansiyel atılım denkleminde uygun gerçekleşmiştir. Denklemi şu şekildedir:

Tek fazlı atılım

$$A_t = A_0 e^{-k_e t} \quad (3.5)$$

A_t : t zamanında canlıda kalan aktivite

A_0 : atılımın başlangıcında (t=0) canlıda bulunan aktivite

k_e : atılım sabiti (gün⁻¹)

Canlılarda radyonüklidlerin biyolojik yarı-ömürünün hesaplanması için;

$$T_{b1/2} = \frac{\ln 2}{k_e} \quad (3.6)$$

İki fazlı atılım

$$A_t = A_{0s} e^{-k_{es} t} + A_{0l} e^{-k_{el} t} \quad (3.7)$$

k_e atılım oranı sabiti (d⁻¹), A_t ve A_0 sırasıyla t ve 0 zamanındaki kalan aktivite (%) değerleri; 's' ve 'l' sırasıyla kısa ve uzun ömürlü üssel bileşenleri temsil eder. Biyolojik yarı ömür ($T_{b1/2s}$ ve $T_{b1/2l}$), $T_{b1/2} = \ln 2/k_e$ formülü ile atılım oranı sabitinden hesaplanabilir (sırasıyla k_{es} ve k_{el}) (Whicker ve Schultz, 1982).

Regresyon analizleri R studio ve Statistica® 5.2.1 istatistik programları ile yapılmıştır. Atılım ve alım model parametreleri (P değerleri ile birlikte) ve R^2 değerleri bulunmuştur. Gruplar için model belirlenip alım ve atılım model parametreleri bulunduktan sonra söz konusu model her canlının alım (t'ye karşılık CF) veya atılım (t'ye karşılık % kalan aktivite) değerlerine uygulanarak her canlı için alım-atılım parametre değerleri tek tek bulunmuştur. Aşağıda belirtilen istatistik karşılaştırmalarda her canlı için bulunan bu değerler kullanılmıştır. Karşılaştırma istatistik testleri R Studio, IBM SPSS ve Statistica® 5.2.1 istatistik programları ile yapılmıştır.

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk's normal dağılım testi ve Levene varyansların homojenliği testi ile belirlenmiştir. Normal dağılıma uygunluk sağlanıyorsa alım ve atılım model parametreleri arasında uygulanan pH değerleri bakımından fark olup olmadığı varyans analizi “tek yönlü Anova (F test)” ile belirlenmiştir. Üç grup arasında önemli fark bulunduğu ($p < 0,05$) hangi gruplar arasında fark olduğunu anlamak için ikili Post-Hoc testi “Tukey HSD” kullanılmıştır.

Parametrik test varsayımları sağlanmadığında (organizma sayısının düşük olması veya normal dağılım testlerine uymama) nonparametrik bir test olan Kruskal–Wallis testi kullanılmıştır. Üç grup arasında önemli fark bulunduğu ($p < 0,05$) hangi gruplar arasında fark olduğunu anlamak için ikili Post-Hoc testi “Dunn” kullanılmıştır. Karşılaştırılacak grup sayısı iki olduğunda (iki pH uygulanan deneyler) diğer bir nonparametrik test olan Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışılan türlerin, maruziyet ortamlarının ve kullanılan radyonüklidlerin çeşitliliği nedeniyle bu bölümde deney sonuçları tek tek alt bölümler halinde verilmiştir.

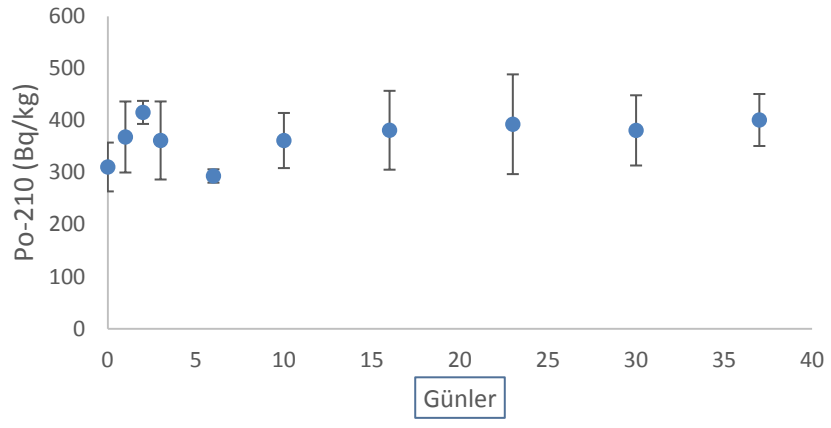
4.1.OKYANUS ASİTLENMESİNİN MANİLA KUM MİDYESİNDE (*RUDITAPES PHILIPPINARUM*) ²¹⁰PO RADYONÜKLİDİNİN ATILIMINA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:

Atılım deneyi süresince midyelerde ölüm olayı gözlenmemiştir. Midyelerin ilk alındığı gün yumuşak dokularında doğal olarak bulunan ²¹⁰Po aktivitesi ölçülmüş ve 310,7 Bq kg⁻¹ olarak bulunmuştur. Bu değer bu deney için t₀ değeri olarak esas alınmıştır. Sonrasında belirlenmiş olan pH değerlerine maruz bırakılan canlılarda ²¹⁰Po aktivite değişiminin 1,2,3,6,10,16,23,30 ve 37. günlerdeki verileri tablo 4.1 ve şekil 4.1’de verilmiştir. Deniz suyu pH 8,1, 7,8 ve 7,5 olan akvaryumlardaki kum midyelerinin son gün aktivite konsantrasyonları sırasıyla 400,9, 462,1 ve 420,2 olarak bulunmuştur. T₀ değerleri 39 boyunca ölçülen değerler ve son gün değerleri ile karşılaştırıldığında midyelerde ²¹⁰Po atılımı olmadığı görülmektedir. Farklı pH şartlarında kum midyesi yumuşak dokusunda ²¹⁰Po aktivitesinde fark gözlenmemiştir (Kruskal Wallis testi, p>0,05).

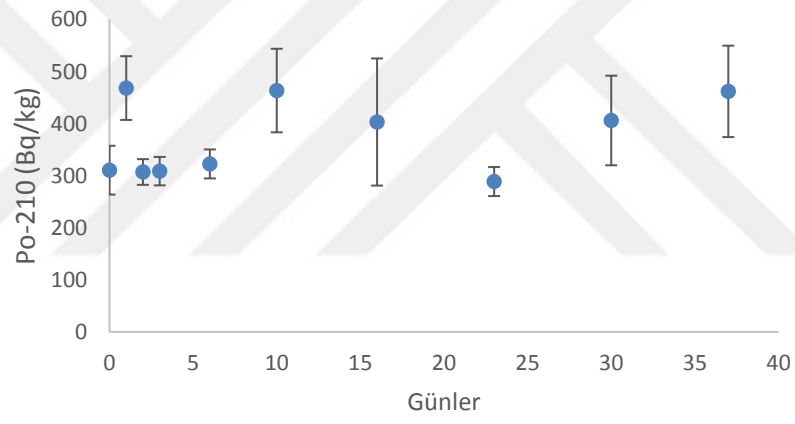
Tablo 4.1: Manila kum midyesinde (*Ruditapes philippinarum*) doğal olarak bulunan ²¹⁰Po’nun farklı pH değerlerine (8,1, 7,8, 7,5) sahip deniz suyunda biyokinetiği.

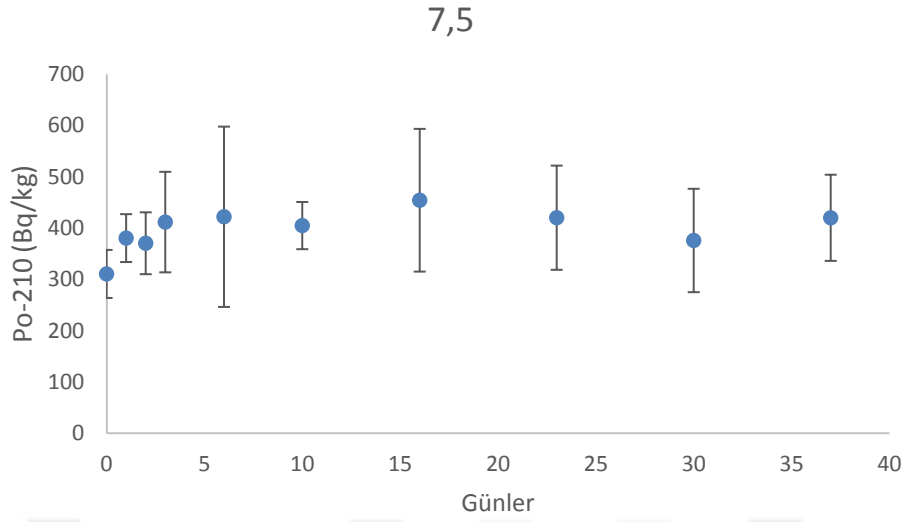
Zaman (gün)	²¹⁰ Po değerleri (Bq kg ⁻¹)		
	8,1	7,8	7,5
0	310,7± 46,9	310,7± 46,9	310,7± 46,9
1	368,4 ± 68,2	468,4 ± 61,2	380,6 ± 46,7
2	415,5 ± 22,3	307,2 ± 24,7	370,5 ± 60,3
3	361,6 ± 74,9	308,8 ± 27,3	411,8 ± 98,1
6	293,4 ± 12,8	322,7 ± 27,8	422,2 ± 175,9
10	361,6 ± 52,9	463,7 ± 80,3	404,9 ± 46,0
16	381,2 ± 75,7	403,2 ± 122,2	454,4 ± 139,2
23	392,9 ± 95,9	288,8 ± 27,9	420,4 ± 101,6
30	380,9 ± 67,4	406,2 ± 86,1	376,0 ± 100,3
37	400,9 ± 49,9	462,1 ± 87,8	420,2 ± 84,1

8,1



7,8





Şekil 4.1: Manila kum midyesinde (*Ruditapes philippinarum*) farklı pH değerlerinde (8,1, 7,8, 7,5) ²¹⁰Po biyokinetiği

4.2.OKYANUS ASİTLENMESİNİN İSTİRİDYELERDE (*OSTREA EDULIS*) ¹³⁴CS, ⁵⁷CO VE ¹⁰⁹CD BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:

İstiridyeler laboratuvar ortamına uyum sağlamaları için 2 hafta alıştırmaya periyoduna alınmış, ardından belirlenmiş olan pH şartlarına 9 hafta süresince uyum sağlaması sağlanmıştır. Bu alıştırmaya periyodu ve deney süresince ölüm olayı gözlenmemiştir. Üç akvaryum için de deney suyu, deney pH değerleri ve karbonat kimyası değerleri Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2: Deniz suyu pH ve karbonat kimyası değerleri.

Deney periyodu	pH	pH _T	A _T (μmol kg ⁻¹)	pCO ₂ (μatm)	CO ₃ ²⁻ (μmol kg ⁻¹)	HCO ₃ ⁻ (μmol kg ⁻¹)	C _T	Ω _{arg}	Ω _{cal}
Alım	7,5	7,49±0,06	1936±11	1519	33,6	1854	1945	0,54	0,87
	7,8	7,78±0,05	1963±9	760	63,9	1808	1901	1,02	1,65
	8,1	8,09±0,04	1894±11	332	116,3	1611	1740	1,86	3,00
Atılım	7,5	7,46±0,05	1976±13	1667	32,1	1898	1993	0,51	0,82
	7,8	7,75±0,06	2094±13	874	64,1	1941	2038	1,02	1,65
	8,1	8,05±0,06	1935±11	377	110	1669	1793	1,75	2,83

A_T: toplam alkalinite, pCO₂: kısmi CO₂ basıncı, CO₃²⁻ ve HCO₃⁻: karbonat ve bikarbonat konsantrasyonları, C_T: total inorganik karbon, Ω_{arg}: aragonit doyma durumu ve Ω_{cal}: kalsit doyma durumu

Normokapni ($pCO_2 = 350 \mu atm$), azaltılmış hiperkapni ($pCO_2 = 800 \mu atm$) ve hiperkapni ($pCO_2 = 1600 \mu atm$) 'deki kısmi CO₂ basınç değerleri sırasıyla total pH değerlerinin $8,07 \pm 0,05$, $7,78 \pm 0,05$, $7,47 \pm 0,06$ şeklinde gerçekleşmesine neden olmuştur. Bu total pH seviyelerine inilmesi için gereken pCO₂ değerleri diğer birçok çalışmaya göre daha düşük olmuştur. Bunun nedeni tuzluluğun dolayısıyla asiditeyi tamponlaştırıcı kimyasalların bu çalışmada diğer çalışmalara göre daha düşük olmasıdır. Bu durum, kıyı sularının, açık okyanus sularından farklı şekilde karbonat kimyasındaki küçük bir değişikliğin reaksiyonların meydana gelme hızındaki değişiklikten kaynaklanmaktadır.

4.2.1. Alım Deneyi

İstiridyelerin tüm vücudundaki ¹⁰⁹Cd, ⁵⁷Co ve ¹³⁴Cs birikim kinetikleri şekil 4.2 ve tablo 4.3'de verilmiştir. Tüm radyoizleyicilerin alım kinetikleri üstel (eksponansiyel) model ile ifade edilmiştir. Cd-109 alımı, 21 günlük alım periyodu süresinde denge durumuna ulaşmamıştır. Co-57 radyonüklidi CF_{ss} değerleri yaklaşık 400 değerine ulaşmış, bu radyonüklidin ¹⁰⁹Cd ve ¹³⁴Cs ile kıyaslandığında, istiridyeler tarafından çok daha efektif şekilde alındığı görülmüştür. Kobaltın alım kinetiği parametreleri farklı pH'a sahip deney grupları arasında anlamlı farklılık göstermemiştir (Tek yönlü ANOVA; p> 0,05).

Cs-134 radyonüklidi CF_{ss} değeri, tüm deney grupları içinde en yüksek 1,68 değerine ulaşmıştır. Sezyumun alım ve atılım oranı sabitleri (k_u ve k_e değerleri) üç pH koşulu (8,1, 7,8

ve 7,5) arasında önemli ölçüde farklılık sergilemiştir (Tek yönlü ANOVA; $p < 0,05$) ve en yüksek değerler, en düşük pH'da (7,5) olduğu durumda görülmüştür. Bu durumdan farklı olarak, CF_{ss} değeri pH açısından değişiklik göstermemiştir (Kruskal-Wallis testi; $p > 0,05$).

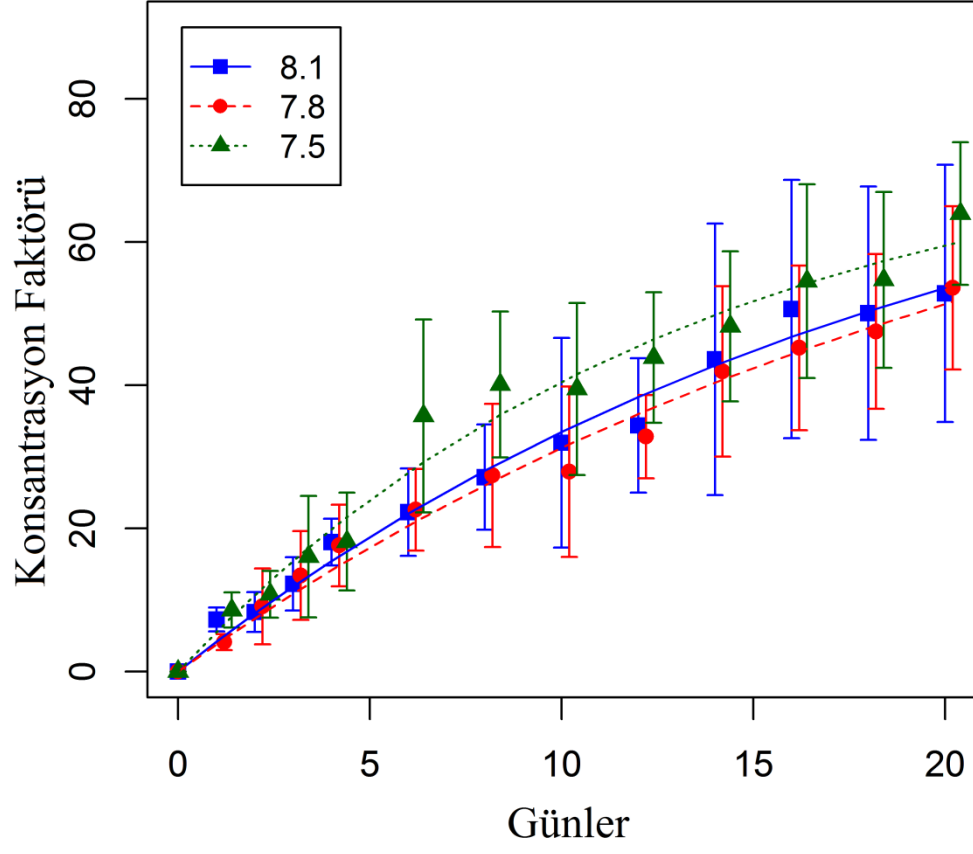
Tablo 4.3: İstiridyelerde (*Ostrea edulis*) ^{109}Cd , ^{57}Co , ^{134}Cs radyoizleyicilerinin alım kinetiği parametreleri.

Metal	pH	$k_u \pm SH$	$k_e \pm SH$	CF_{ss}	R^2	$CF_{20} \pm SS$
^{109}Cd	8,1	4,26±0,49***	0,051±0,017*	84,1	70,2	52,8±18,0
	7,8	4,04±0,38***	0,049±0,014***	82,2	79,8	53,6±11,4
	7,5	6,34±0,55***	0,089±0,015***	71,6	80,5	64,0±10,0
^{57}Co	8,1	23,47±1,62***	0,059±0,011***	393	87,6	279±59
	7,8	24,64±1,71***	0,057±0,011***	428	87,6	305±46
	7,5	29,41±2,10***	0,074±0,011***	395	86,3	322±69
^{134}Cs	8,1	0,68±0,07***	0,43±0,05***	1,57	79,9	1,73±0,22
	7,8	0,71±0,10***	0,43±0,07***	1,64	66,1	1,80±0,37
	7,5	1,02±0,14***	0,60±0,09***	1,68	74,9	1,84±1,27

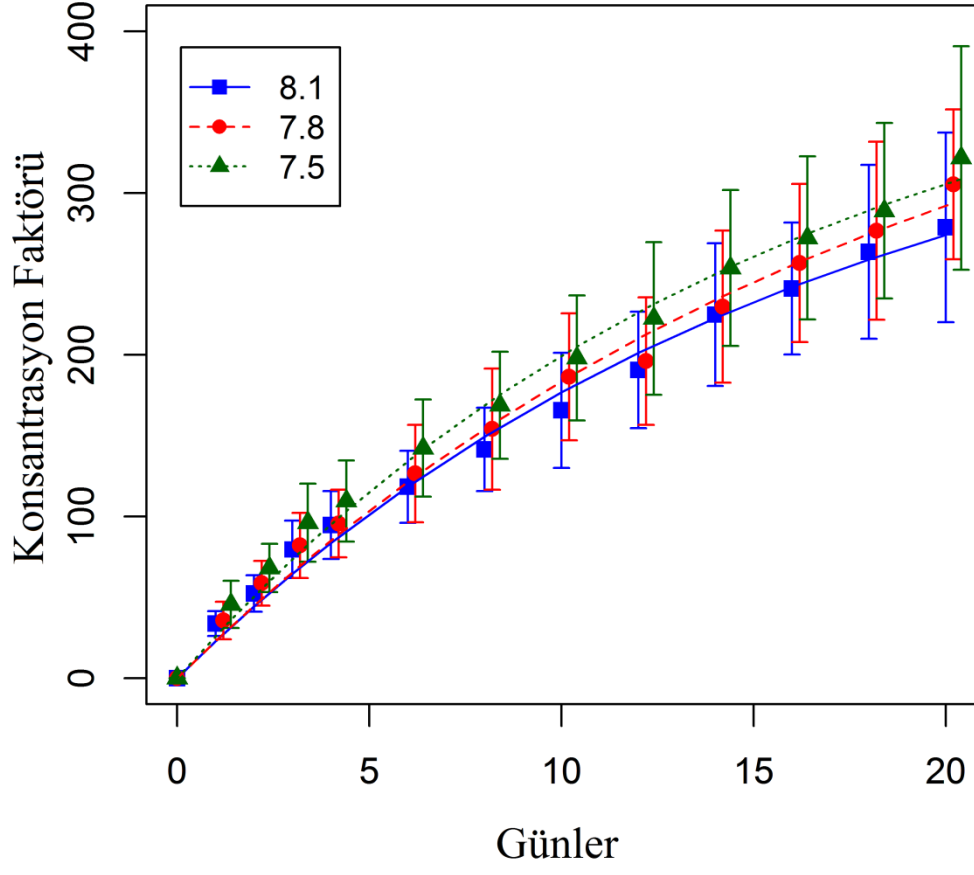
p: < 0,0001 (***), < 0,001 (**), < 0,01 (*).

k_u : alım sabiti, k_e : atılım sabiti, CF_{ss} : denge durumundaki konsantrasyon faktörü, SH: standart hata, SS: standart sapma, R^2 : belirleme katsayısı

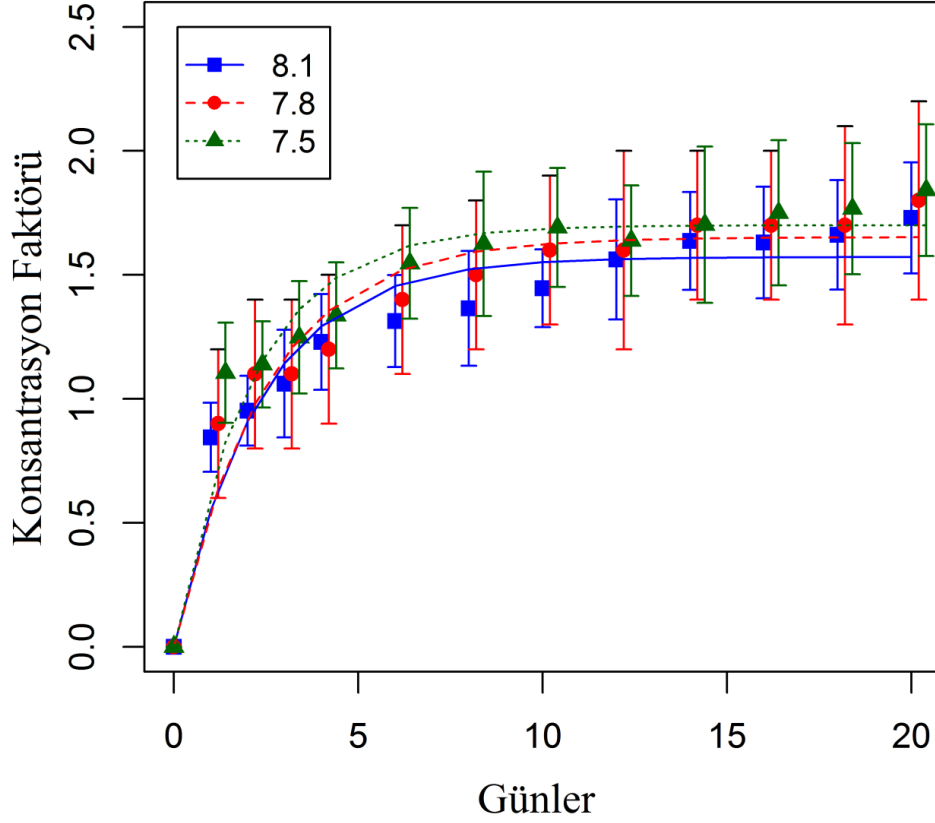
Cd-109



Co-57



Cs-134



Şekil 4.2: *Ostrea edulis*. 21 günlük alım deneyinin sonucu verileri.

4.2.2. Atılım Deneyi

Alım deneyinin sonunda istiridyeler radyoşaretli olmayan deniz suyuna aktarılmış ve atılım deneyine 39 gün boyunca devam edilmiştir. Cs-134'ün tüm vücuttaki atılım kinetiği en iyi şekilde iki bileşenli üstel model ile ifade edilmiştir (Şekil 4.3, tablo 4.4). Kontrol (pH = 8,1) koşulları altında ^{109}Cd ve ^{57}Co için atılım kinetiği parametreleri belirlenememiştir.

39 günlük atılım periyodunun sonunda kadmiyumun yaklaşık yarısının istiridye dokularından elimine edildiği görülmektedir. Kadmiyumun çoğu (~% 70), tüm deney gruplarında yavaş atılım fazında elimine edilmiştir. En yüksek atılım oranı sabitleri en düşük pH koşulunda (7,5) görülmüştür. Deney sonunda istiridyelerde kalan aktiviteleri, araştırılmış olan farklı pH değeri

koşullarda karşılaştırılmış ve kadmiyum için önemli bir fark bulunmamıştır (Kruskal wallis testi; $p > 0,05$).

pH 8,1, 7,8 ve 7,5 koşulları altında 39 günlük atılım deneyinin ardından istiridye dokularında kalan Co-57 yüzdesi sırasıyla % 83,6, % 64,0 ve % 58,2 olarak bulunmuştur. Kalan yüzde aktivite değerleri karşılaştırıldığında, deney grupları arasında farklılık gözlenmiştir ($n = 10$, Tek Yönlü ANOVA; $p = 3,02 \times 10^{-9}$). pH = 8,1 ve pH = 7,8 (Post-hoc Tukey HSD; $p < 0,01$) ve pH = 8,1 ve pH = 7,5 (Post-hoc Tukey HSD; $p < 0,01$) arasında anlamlı farklar vardır.

Sezyumun çoğu, atılım fazı boyunca araştırılan tüm şartlarda istiridye dokularından büyük oranda elimine edilmiştir. A_{0s} ve A_{0l} değerleri pH koşulları arasında anlamlı farklılık göstermiştir (sırasıyla One way ANOVA; $p = 0,0017$ ve $0,0033$). Kontrol koşulunda hızlı atılım fazında (A_{0s}) elimine edilen Cs aktivitesi yüzdesi, asitlendirilmiş şartlardan daha düşükken (Post hoc Tukey HSD; $p < 0,05$), uzun atılım fazında (A_{0l}) elimine edilen Cs aktivitesi yüzdesi, asitlenmiş şartlardan daha yüksek bulunmuştur (Post hoc test, Tukey HSD; $p < 0,01$).

Tablo 4.4: 21 günlük alım deneyinin ardından, 39 gün boyunca atılım deneyine devam edilmiş olan istiridyelerde ^{109}Cd , ^{57}Co , ^{134}Cs radyoizleyicilerinin atılım kinetiği parametreleri.

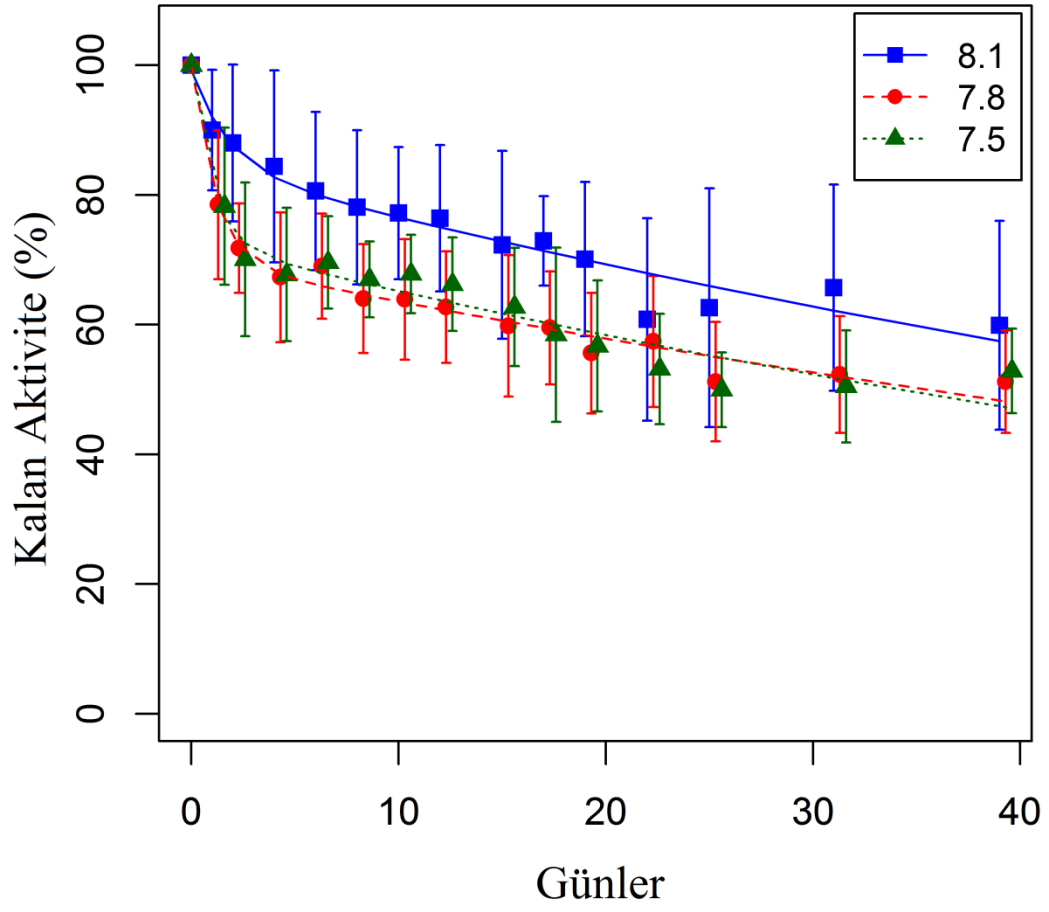
Metal	pH	$A_{0s} \pm \text{SE}$ (%)	k_{es}	$T_{bs1/2} \pm \text{SE}$ (gün)	$A_{0l} \pm \text{SE}$ (%)	k_{el}	$T_{bl1/2} \pm \text{SE}$ (gün)	R^2
^{109}Cd	8,1	-	-	-	-	-	-	-
	7,8	30,0 \pm 3,3***	1,15 \pm 0,32**	0,60 \pm 0,16	69,9 \pm 1,9***	0,0096 \pm 0,0015***	72 \pm 11	66,2
	7,5	27,8 \pm 3,3***	1,55 \pm 0,49**	0,45 \pm 0,14	72,3 \pm 1,8***	0,0110 \pm 0,0014***	63 \pm 8	65,7
^{57}Co	8,1	-	-	-	-	-	-	-
	7,8	16,9 \pm 3,7***	2,1 \pm 1,7*	0,33 \pm 0,27	83,2 \pm 1,9***	0,0069 \pm 0,0012***	100 \pm 17	40,6
	7,5	13,2 \pm 2,3***	2,0 \pm 1,7*	0,34 \pm 0,28	86,8 \pm 1,3***	0,0108 \pm 0,0008***	64 \pm 5	75,1
^{134}Cs	8,1	54,5 \pm 2,8***	0,9 \pm 0,1***	0,74 \pm 0,09	44,9 \pm 2,3***	0,044 \pm 0,003***	16 \pm 1	94,2
	7,8	65,8 \pm 2,3***	1,1 \pm 0,1***	0,61 \pm 0,05	34,0 \pm 1,8***	0,044 \pm 0,004***	16 \pm 1	95,3
	7,5	64,7 \pm 2,5***	1,2 \pm 0,1***	0,58 \pm 0,05	35,0 \pm 1,9***	0,043 \pm 0,004***	16 \pm 2	94,5

p: < 0,0001 (***), < 0,001 (**), < 0,01 (*), > 0,1 (°)

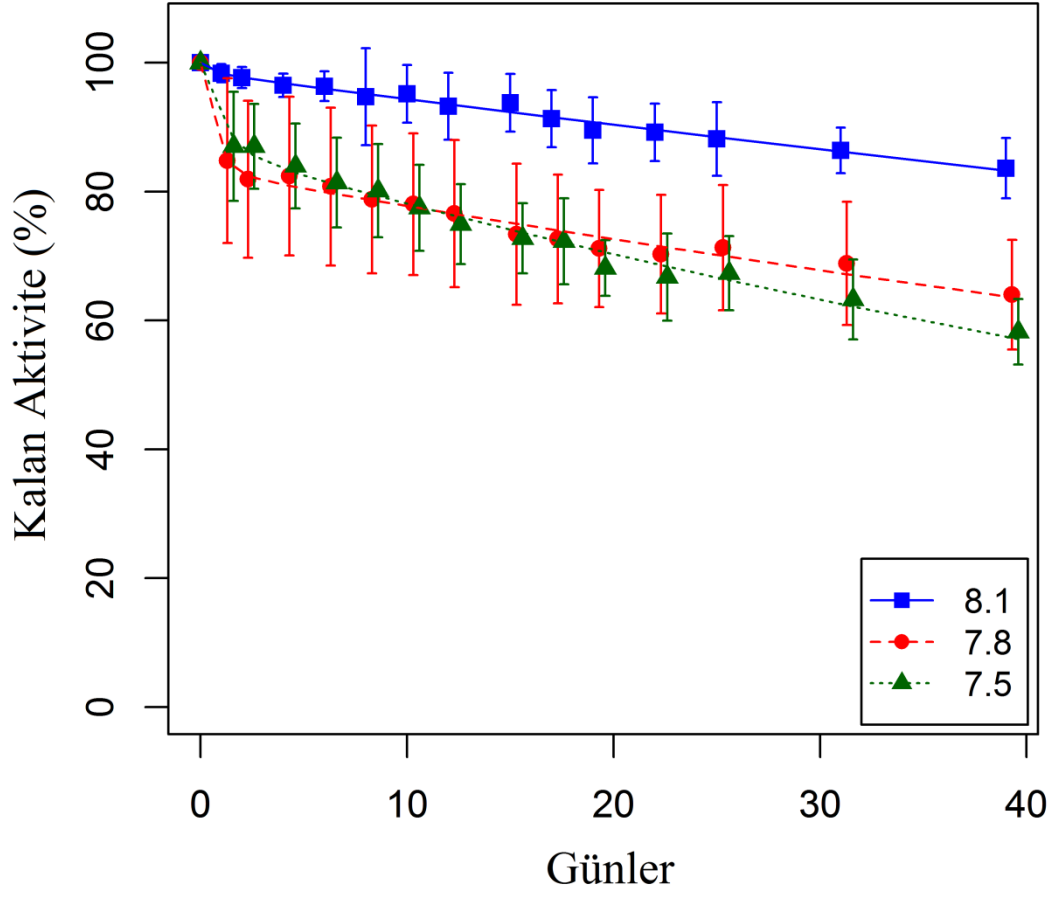
-: belirlenemedi

A_{0s} ve A_{0l} : sırasıyla hızlı ve yavaş atılım verilerinin yüzde kalan aktivite değerleri, k_{es} ve k_{el} : : sırasıyla hızlı ve yavaş atılım hızı sabitleri, $T_{bs1/2}$ ve $T_{bl1/2}$ hızlı ve yavaş atılım bileşenlerindeki biyolojik yarı-ömür, R^2 : belirleme katsayısı.

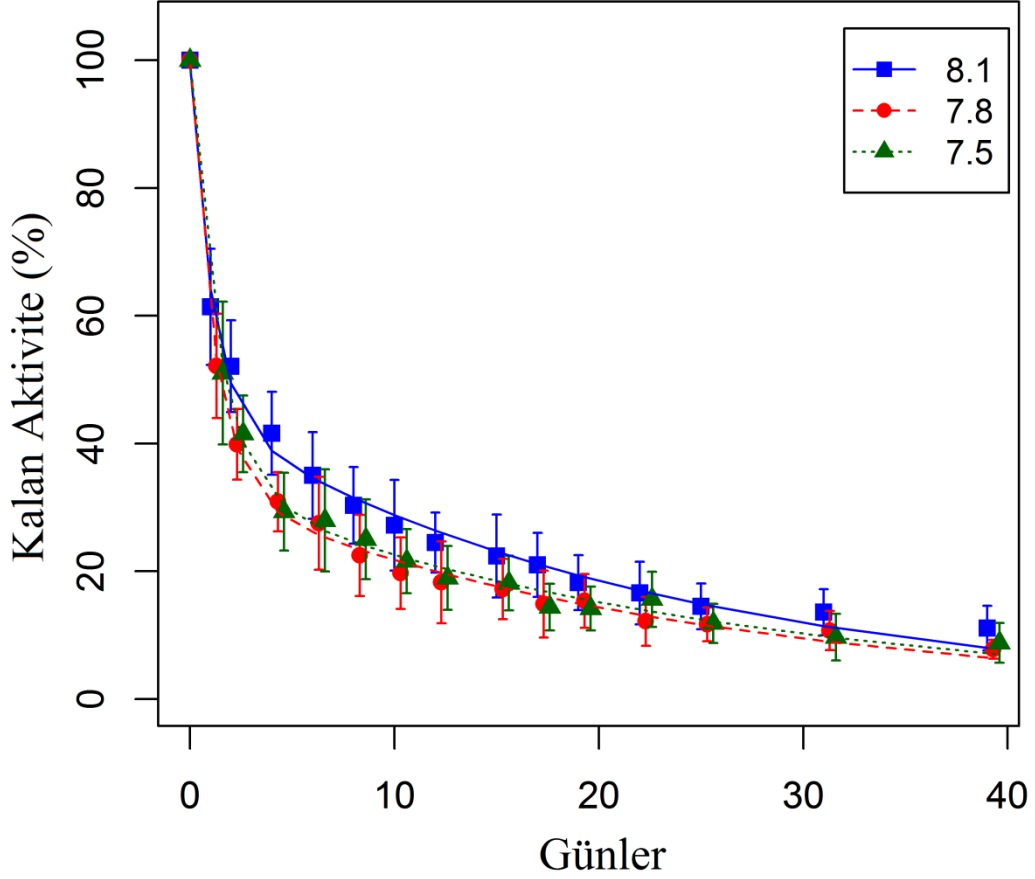
Cd-109



Co-57



Cs-134



Şekil 4.3: 39 günlük atılım deneyi sonrasında farklı pH değerlerinde radyoizleyici verileri.

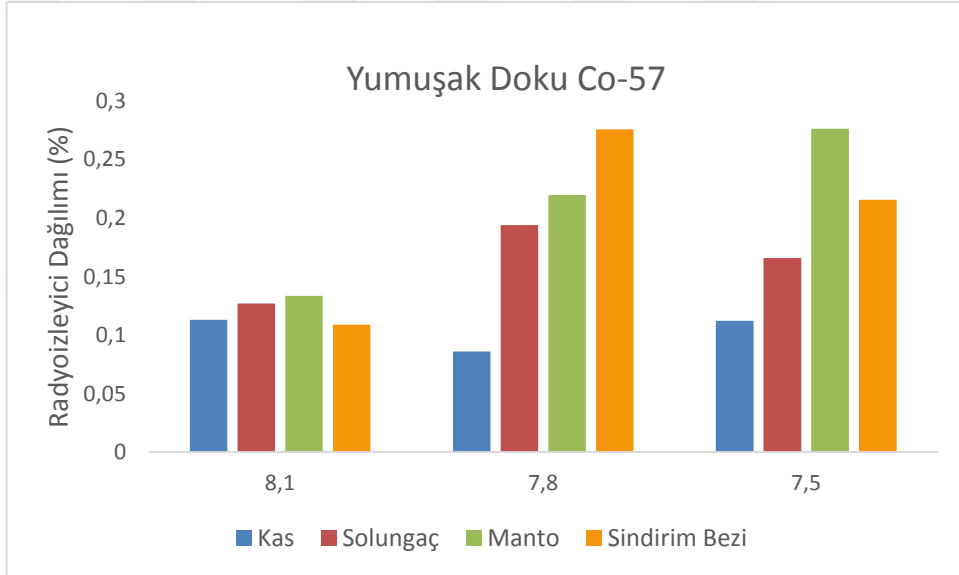
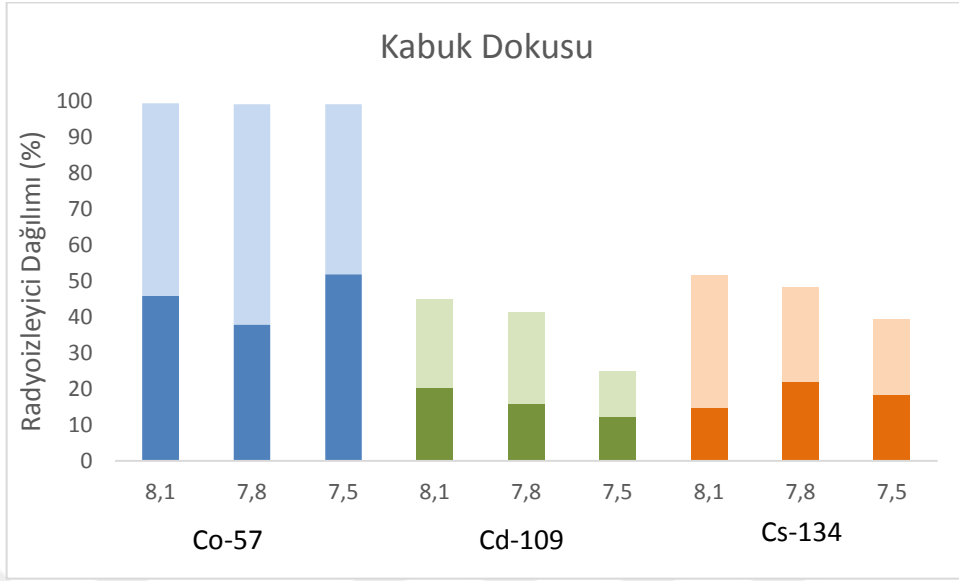
4.2.3. Radyoizleyicilerin Doku dağılımı

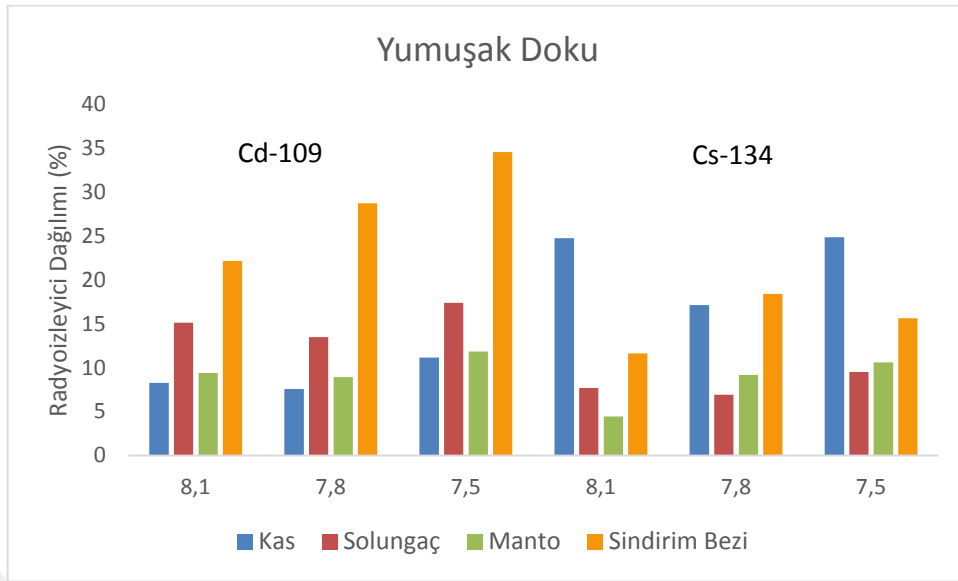
Atılım deneyinin ardından radyoizleyicilerin istiridye dokularındaki dağılımı incelenmiştir. Tüm yumuşak dokularda (kas, solungaç, manto, kalan yumuşak kısımlar) ve kabukta (üst ve alt olmak üzere) radyoizleyici yüzdeleri tespit edilmiştir. Veriler şekil 4.4'te verilmiştir. Co-57, %99'dan daha fazla oranda kabukta birikirken, yaklaşık %1 oranda yumuşak dokularda homojen şekilde dağılım göstermiştir. Kabukta ve kalan yumuşak dokular kısmında, yani hepatopankreas ve sindirim bezinde ^{109}Cd 'un daha yüksek aktivitede birikim gösterdiği bulunmuştur. Cs-134, disekte edilmiş olan kısımlarda, kabuk> kas> kalan yumuşak dokular> solungaç=manto şeklinde dağılım göstermiştir. Bu sıralama, aktivite konsantrasyonu (Bqg^{-1})

bakımından kıyaslandığında kas> kalan yumuşak kısımlar> manto> solungaç> kabuk olarak değişmiştir. Kadmiyum yumuşak dokularda düşük pH değerinin etkisinin incelendiği grupta (pH= 7,5) %75 oranında birikirken, kontrol pH değerinin (pH=8,1) incelendiği grupta yumuşak dokularda %55 oranında birikim göstermiştir. Benzer şekilde, Cs-134 pH=7,5 değerinde yumuşak dokularda %61 oranında tutulurken, kontrol grubunda %48 oranında tutulmuştur. Ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir (Mann-Whitney U Testi; $p > 0,05$). İncelenmiş olan radyoizleyicilerin tüm dokulardaki dağılımı benzerdir (Kruskal wallis testi; $p > 0,05$).

Cd-109, ⁵⁷Co, ¹³⁴Cs radyoizleyicilerinin hücre içi dağılımı tablo 4.5 ve şekil 4.5'te gösterilmektedir. Metale duyarlı fraksiyonlarda (organeller + HSP) incelenen radyoizleyicilerin yüzdesi, pH değerlerinde tüm elementler için % 20'den düşük bulunmuştur. Seçilen elementlerin hücre içi dağılımı, pH açısından değişiklik göstermemiştir (Kruskal wallis testi; $p > 0,05$).

Cd-109'un büyük kısmı, hücresel atıklar kısmında birikmiştir. Kadmiyumun yaklaşık %15'i metallere duyarlı kısımlar olan organeller ve HSP kısımlarında birikim göstermiştir. Kadmiyumun hücre içi dağılımı, hücresel atıklar> MRG> MTLP> organeller> HSP şeklinde sıralanmıştır. Co-57, her pH durumunda metal bakımından zengin granüllerde verimli bir şekilde birikim göstermiştir. Cs-134 istridiyenin yumuşak dokularında, hücre içi MTLP kısmında verimli bir şekilde depolanmıştır. Sezyumun trofik transferi göz önüne alındığında, sezyumun çoğunun, tüm pH şartlarında kimyasal formunun canlı metabolizması için, metalotiyonine bağlı olma ve organellere ve enzimlere dâhil olabilecek şekilde uygun formda olduğu gözlenmiştir.

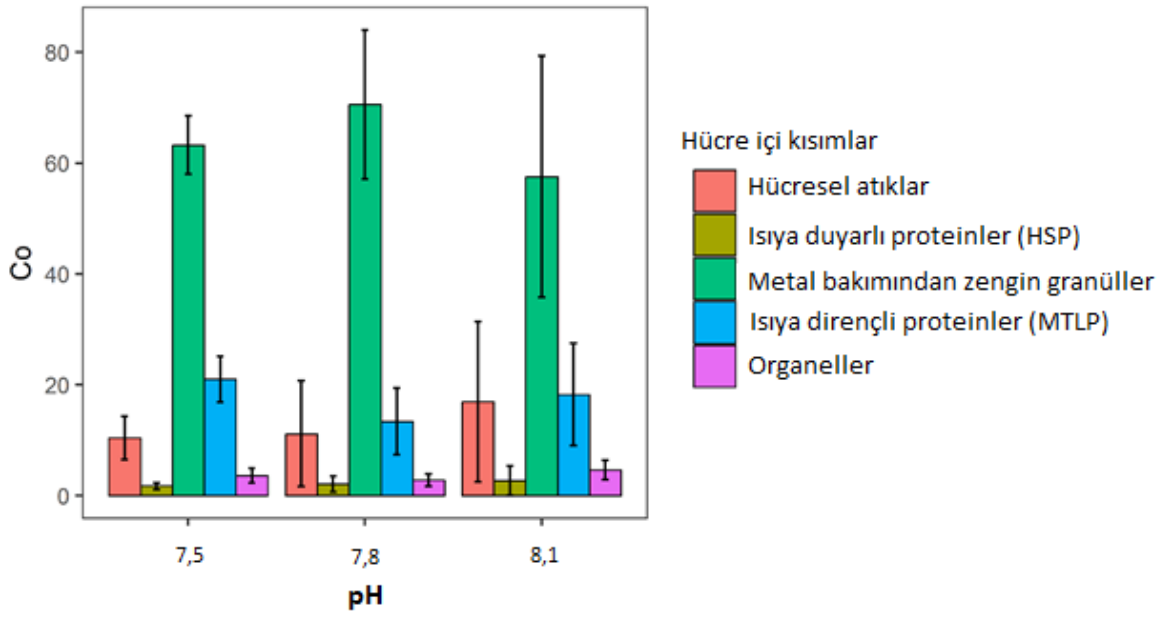
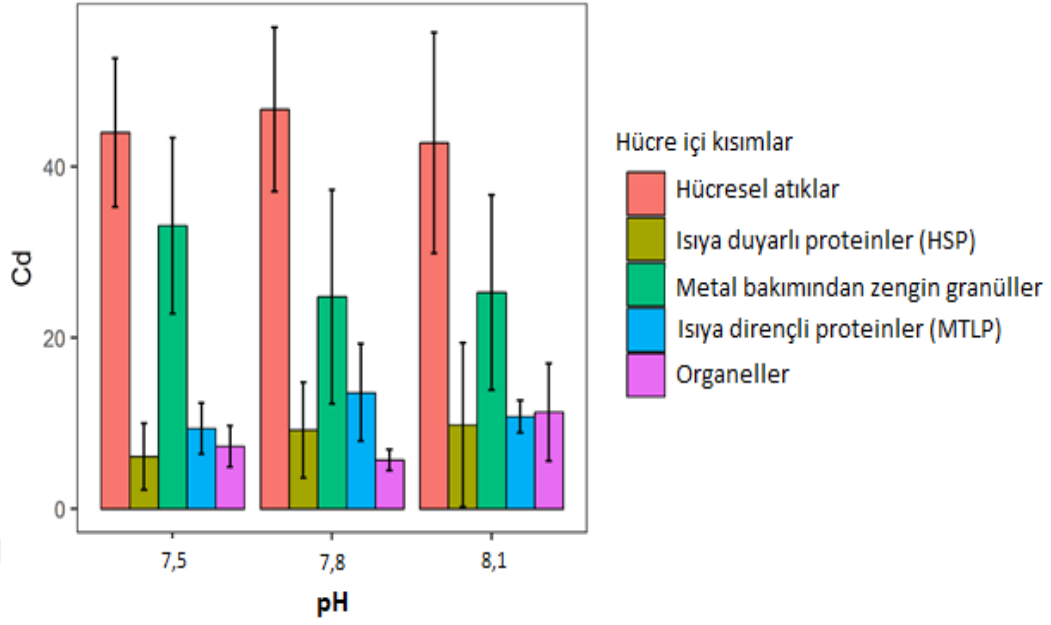


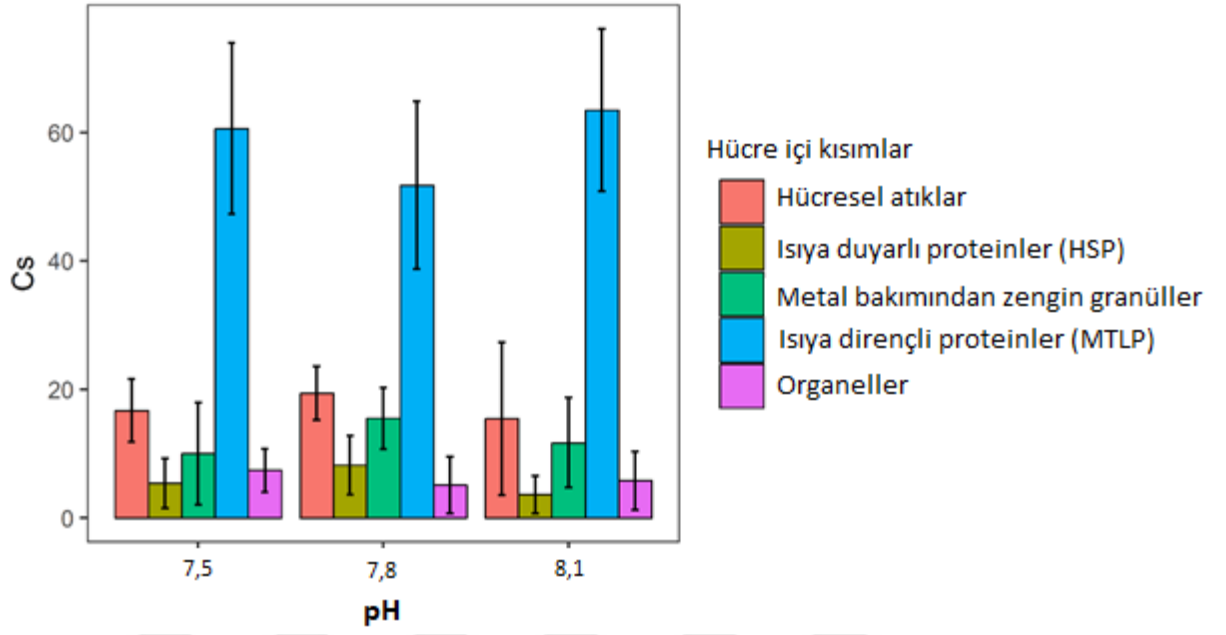


Şekil 4.4: Atılım deneyinin ardından farklı pH değerlerinde radyoizleyicilerin doku bazında dağılımı.

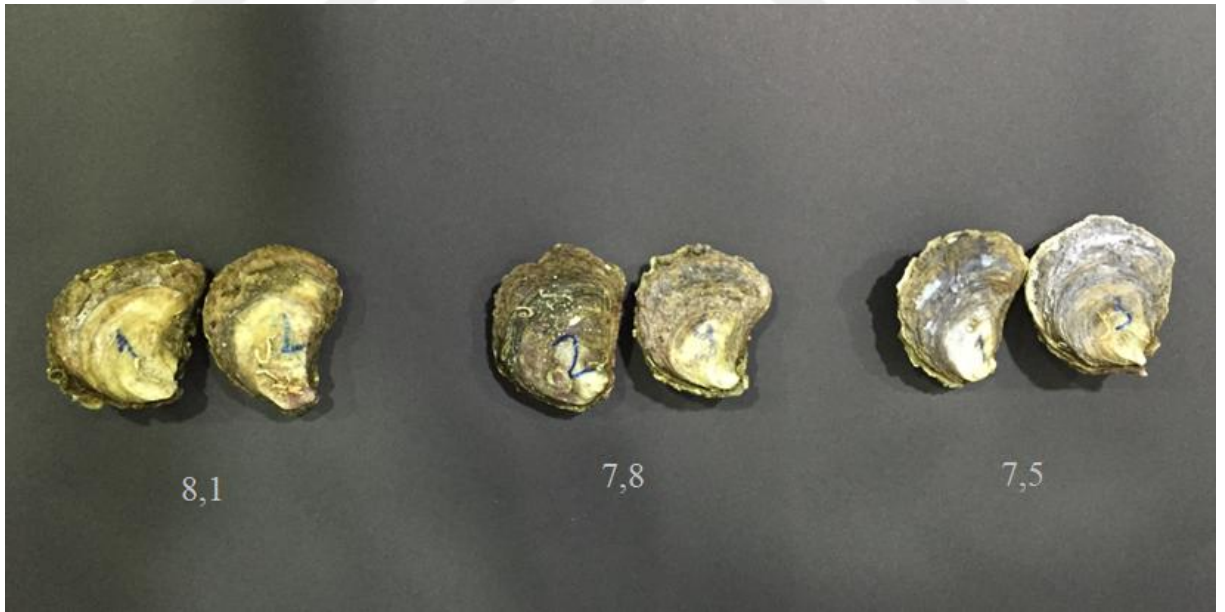
Tablo 4.5: Üç farklı pH koşulunda atılım deneyi sonunda ^{109}Cd , ^{57}Co , ^{134}Cs radyoizleyicilerinin doku dağılımı (%).

Metal	pH	Kas	Solungaç	Üst Kabuk	Alt Kabuk	Manto	Kalan Yumuşak Dokular	Yumuşak Doku toplamı	Kabuk toplamı
^{109}Cd	8,1	8,3±1,9	15,1±1,2	20,2±11,7	24,8±17,3	9,4±4,5	22,2±9,6	55,0±6,4	45,0±3,2
	7,8	7,6±4,0	13,5±7,5	15,9±6,1	25,4±9,4	8,9±1,1	28,7±5,7	58,7±9,7	41,3±6,7
	7,5	11,1±4,4	17,4±8,4	12,3±5,9	12,7±2,4	11,9±5,6	34,6±9,7	74,9±10,9	25,0±0,3
^{57}Co	8,1	0,11±0,05	0,13±0,06	46±10	53,6±10,1	0,13±0,06	0,11±0,06	99,5±5,4	0,5±0,1
	7,8	0,09±0,08	0,19±0,20	38±5	61,3±5,4	0,22±0,06	0,28±0,14	99,2±0,8	0,8±0,1
	7,5	0,11±0,05	0,17±0,08	52±5	47,3±4,7	0,28±0,18	0,22±0,06	99,2±0,8	0,8±0,1
^{134}Cs	8,1	24,8±13,4	7,7±5,4	14,7±9,9	36,7±20,1	4,5±4,6	11,7±4,8	47,6±8,9	52,4±15,6
	7,8	17,2±3,5	6,9±1,8	22,1±7,5	26,2±7,8	9,2±1,3	18,4±5,1	51,7±5,7	48,4±2,9
	7,5	24,9±10,3	9,5±4,9	18,4±8,0	21,0±5,3	10,6±2,0	15,6±3,8	60,6±7,0	39,4±1,9





Şekil 4.5: Atılım deneyinin ardından farklı pH değerlerinde radyoizleyicilerin hücre altı bölümlerde dağılımı.



Şekil 4.6: Asitlenmesinin artışı ile birlikte istiridye kabuğundaki koruyucu organik tabakada (periostrakum) meydana gelen değişim

4.3.OKYANUS ASİTLENMESİNİN BALTİK KARİDESİNDE (*PALAE MON ADSPERSUS*) ^{110M}AG BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:

Karidesler (*Palaemon adspersus*) 40 gün alıştıırma periyodu (karideslerin 7 gün laboratuvar ortamına, 31 gün uygulanan pH değerlerine alışması sağlanmıştır), 14 gün alım deneyi ve ardından 33 gün atılım deneyine alınmıştır. Karideslerde ^{110m}Ag biyokinetiği 87 gün boyunca üç farklı pH değerinde (8,1, 7,8 ve 7,5) incelenmiştir. 40 günlük alıştıırma periyodu boyunca karideslerde ölüm olayı gözlenmemiştir. Alıştıırma periyodunda pH 8,1 grubu akvaryumunda 5, pH 7,8 grubu akvaryumunda 7, pH 7,5 grubu akvaryumunda 7 adet karideste kabuk değişimi gözlenmiştir. Deney süresince her üç grup pH değeri için alkalinite değerleri haftalık olarak ölçülmüş ve Gran yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Akvaryumlara verilen CO₂ miktarına bağlı olarak bilgisayarda kaydedilen akvaryum pH değerleri ve alkalinite değerleri kullanılarak deniz suyu karbonat kimyasına ait diğer veriler de hesaplanmıştır. Akvaryum deniz suyundaki toplam alkalinite değerleri ve pH değerleri kullanılarak R Studio programı “seacarb” paketi ile deniz suyu karbonat kimyası değerleri hesaplanmıştır.

4.3.1. Alım Deneyi

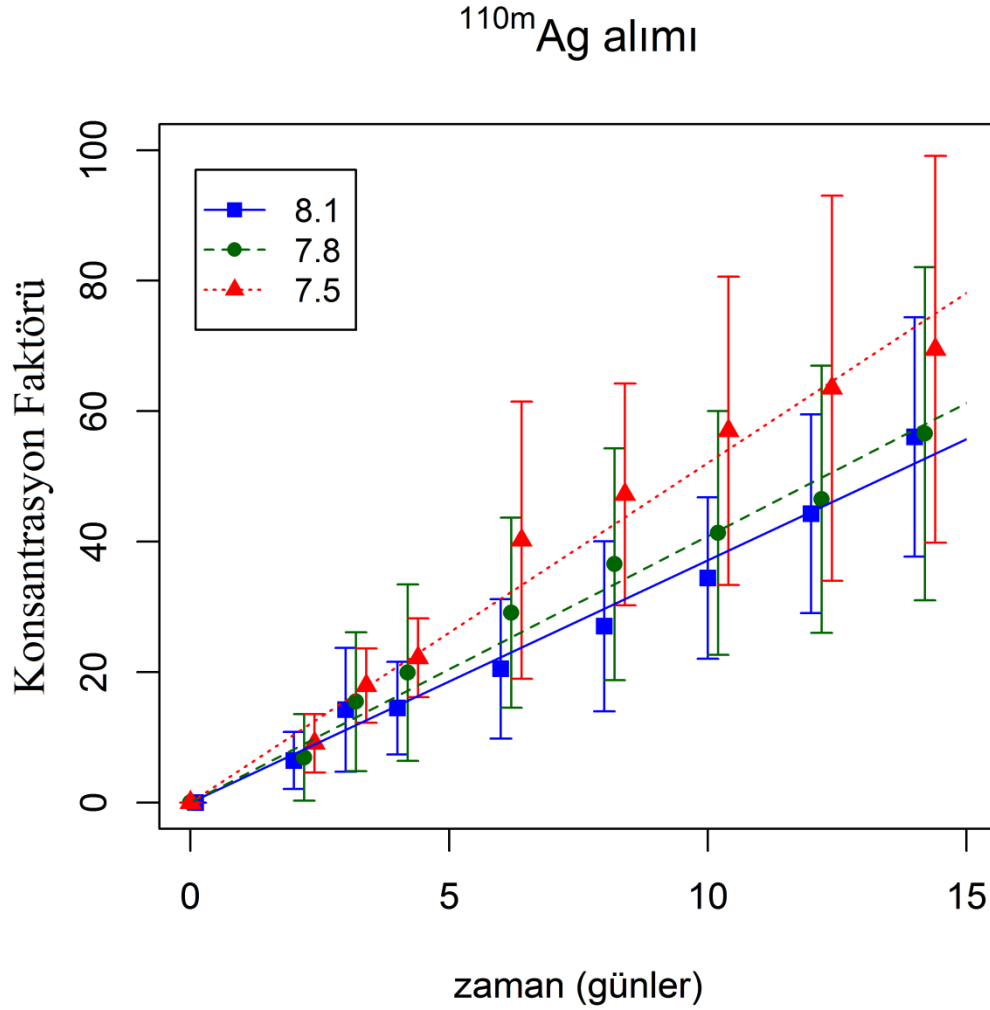
Karideslerde alım deneyi süresince kontrol grubu akvaryumunda 3, pH 7,8 akvaryumunda 10, pH 7,5 akvaryumunda 5 karideste kabuk değişimi gözlenmiştir. Alım deneyinde karideslerde ölüm olayı gözlenmemiştir. pH'a uyum, alım ve atılım periyotlarının toplamında (toplam 87 gün) kontrol grubu akvaryumunda 15, pH 7,8 akvaryumunda 26, pH 7,5 akvaryumunda 27 karideste kabuk değişimi gözlenmiştir. Karideslerde ^{110m}Ag alım biyokinetiği model parametreleri tablo 4.6'da ve şekil 4.7'da verilmiştir. Ag-110m karideslerde lineer birikim modeline göre birikim göstermiştir.

Tablo 4.6: Karideslerde (*Palaemon adspersus*) ^{110m}Ag alım kinetiği parametreleri.

pH	$k_u \pm SH$	$CF_{14gün} \pm SS$	R^2
8,1	3,7±0,1	56,0±18,4	0,84
7,8	4,2±0,2	56,5±25,5	0,75
7,5	5,4±0,2	69,5±29,7	0,79

p: < 0,0001 (***), < 0,001 (**), < 0,01 (*).

k_u : alım sabiti, SH: standart hata, R^2 : belirsizlik katsayısı.



Şekil 4.7: Karideslerde 14 gün alım deneyinin ardından üç farklı pH değerinin incelendiği gruplarda ^{110m}Ag birikimi.

Karideslerde CF değeri 14 günlük alım periyodu sonunda her üç deney grubunda da 50 değerinin üzerinde bulunmuş, 14 günlük alım deneyi süresince karideslerde ^{110m}Ag denge durumuna ulaşmamıştır. Karideslerde ^{110m}Ag alımı üç farklı pH şartına bağlı olarak incelendiğinde $CF_{14\text{gün}}$ 'in pH değeri 8,1, 7,8 ve 7,5 için sırasıyla 56,0, 56,5 ve 69,5 olduğu görülmektedir. $CF_{14\text{gün}}$ değerleri arasında anlamlı bir fark görülmemektedir (Kruskal Wallis testi; $p>0,05$). Alım sabiti k_u değerleri farklı pH değerleri kıyaslandığında kontrol grubu k_u değerinin 7,5 pH grubu k_u değerinden daha küçük olduğu gözlenmiştir (Kruskal Wallis testi; $p=0,049$, Bonferroni düzeltmesi, 8,1 ve 7,5 $p<0,05$).

Karideslerde ^{110}Ag alımı pH gruplarına göre karşılaştırıldığında gruplar arasında k_u değerleri bakımından fark olduğu sonucuna varılmıştır (Kruskal Wallis testi; $p < 0,05$). Buna karşın $\text{CF}_{14\text{gün}}$ değerleri arasında gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür (Kruskal Wallis testi; $p > 0,05$).

4.3.2. Atılım Deneyi

Atılım deneyi süresince karideslerde kabuk değişim olayı meydana gelmiştir. Kontrol grubu akvaryumunda 7, pH: 7,8 akvaryumunda 9, pH: 7,5'te 15 karideste kabuk değişimi meydana gelmiştir. Atılım deneyi süresince kontrol grubunda 2, pH: 7,8'de 1 karides ölmüştür, pH: 7,5'te ölüm olayı gözlenmemiştir. Karideslerde atılım biyokinetiği model parametreleri tablo 4.7'de ve şekil 4.8'de verilmiştir. Karideslerde $^{110\text{m}}\text{Ag}$ atılım değerlendirildiğinde uygulanan pH değerine bakılmaksızın $^{110\text{m}}\text{Ag}$ 'nin yaklaşık %45'lik kısmının 33 günlük atılım süresinde karides dokularından uzaklaştırıldığı görülmektedir. Tüm şartlarda $^{110\text{m}}\text{Ag}$ atılımının çift komponentli eksponansiyel atılım modeline göre gerçekleştiği görülmektedir. 33 günlük atılım deneyinde, gümüşün yaklaşık % 20'lik kısmı birinci atılım periyodu olan kısa atılım periyodunda atıldığı, geri kalan kısmın uzun atılım periyodunda atıldığı gözlenmiştir. Karideslerde atılım deneyi süresince kabuk değişiminin çok sayıda canlıda meydana gelmesi sonuçları etkilemiştir. Karideslerde üç farklı deney grubundaki son gün aktivite değerleri $\text{KA}_{33\text{GÜN}}$ (kalan aktivite 33 gün) arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlenmiştir (Kruskal Wallis testi, $p > 0,05$).

Yavaş atılım fazında kontrol grubu pH değerinde atılım yüzdesi (% 85) düşük pH değerindeki atılım yüzdesinden (% 77) büyük olmasına rağmen farklı pH grupları arasında fark gözlenmemiştir (Kruskal Wallis testi, $p > 0,05$). Benzer şekilde, hızlı atılım fazında düşük pH değerinde $^{110\text{m}}\text{Ag}$ 'nin karidesten elimine olma yüzdesi (% 27) kontrol grubundan daha yüksek (% 23) olmasına rağmen gruplar arasında fark gözlenmemiştir (Kruskal Wallis testi, $p > 0,05$).

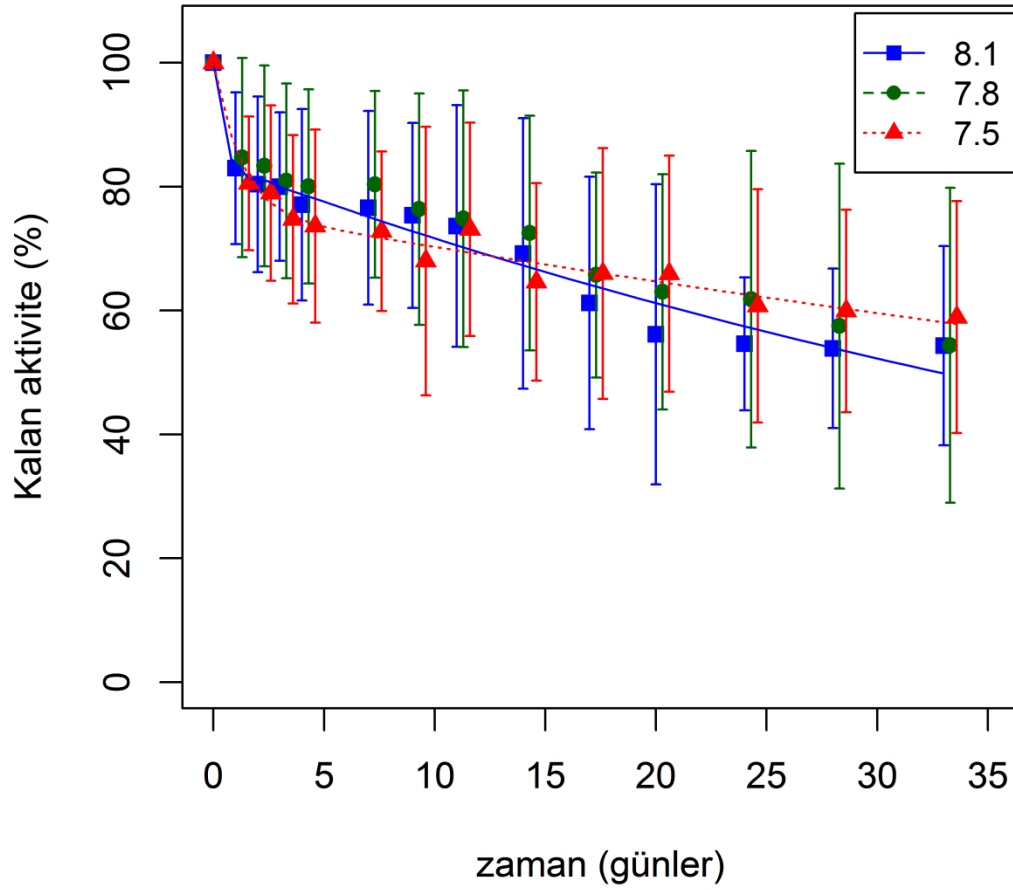
Tablo 4.7: 33 gün boyunca atılım deneyine devam edilmiş olan karideslerde ^{110m}Ag atılım kinetiği parametreleri.

pH	$A_{0s} \pm \text{SE}$ (%)	k_{es}	$T_{bs1/2} \pm \text{SE}$ (g)	$A_{0l} \pm \text{SE}$ (%)	k_{el}	$T_{bl1/2} \pm \text{SE}$ (g)	R^2
8,1	$23,6 \pm 11,95^*$	$4,12 \pm 1,31^*$	$0,17 \pm 0,01$	$84,7 \pm 1,8^{***}$	$0,0166 \pm 0,0021^{***}$	42 ± 7	0,84
7,8	$24,7 \pm 12,4^*$	$2,21 \pm 1,02^*$	$0,31 \pm 0,04$	$83,9 \pm 1,7^{***}$	$0,0123 \pm 0,0014^{***}$	56 ± 4	0,76
7,5	$27,3 \pm 3,0^{***}$	$1,59 \pm 0,48^{**}$	$0,44 \pm 0,02$	$76,6 \pm 1,3^{***}$	$0,0086 \pm 0,0011^{***}$	81 ± 6	0,87

p: < 0,0001 (***), < 0,001 (**), < 0,01 (*), > 0,1 (°)

A_{0s} ve A_{0l} : sırasıyla hızlı ve yavaş atılım verilerinin yüzde kalan aktivite değerleri, k_{es} ve k_{el} : sırasıyla hızlı ve yavaş atılım hızı sabitleri, $T_{bs1/2}$ ve $T_{bl1/2}$ hızlı ve yavaş atılım bileşenlerindeki biyolojik yarı-ömür, R^2 : belirsizlik katsayısı.

Ag-110m atılımı



Şekil 4.8: *Palaemon adspersus*. Karidede 33 günlük atılım deneyi sonrasında farklı pH değerlerinde ^{110m}Ag verileri.

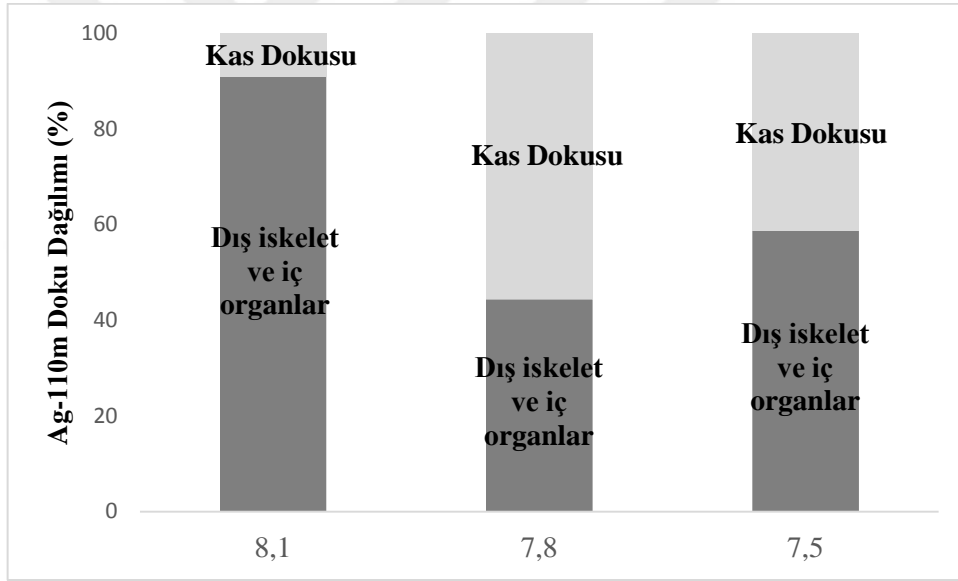
4.3.3. Ag-110m Doku Dağılımı

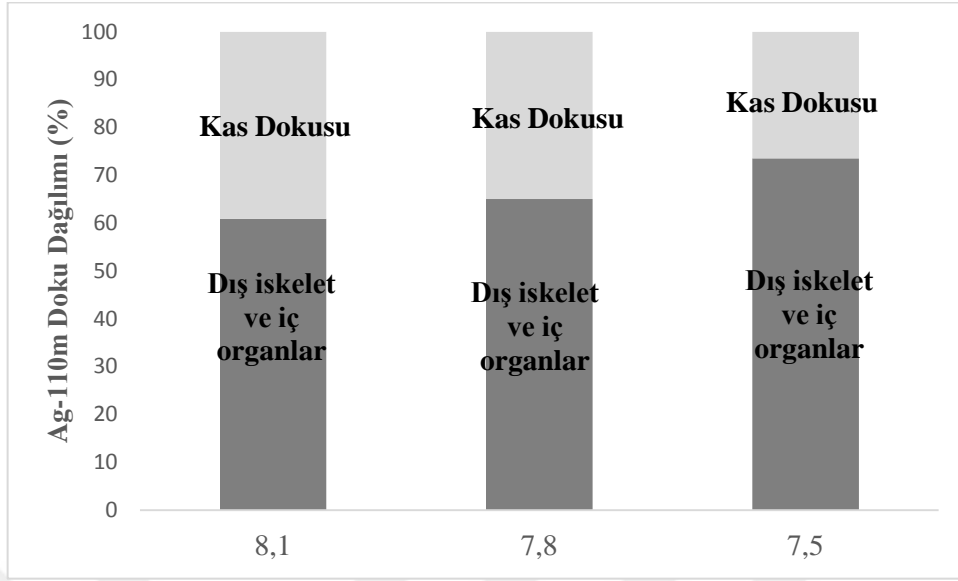
Karideslerde alım ve atılım deneyleri ardından disekte edilen karideslerde ^{110m}Ag doku dağılımı yüzde değerleri sırasıyla tablo 4.8, şekil 4.9 ve şekil 4.10'da verilmiştir. Karidesler kas ve geri kalan dokular (dış iskelet, ekstremiteler, iç organlar) olmak üzere ayrılmıştır. Alım deneyinin ardından dokulardaki gümüş birikimi incelendiğinde, kontrol grubu pH değerinde gümüşün yaklaşık % 91'lik kısmının dış iskelette tutulduğu, kas kısmında ise yaklaşık % 9 gümüş biriktiği gözlenirken, 7,8 ve 7,5 pH değerlerinde kas dokusunda gümüş birikimi sırasıyla yaklaşık % 44 ve % 59, geri kalan dokular kısmında ise % 56 ve % 41 olarak gözlemlenmiştir. Birim ağırlıktaki ^{110m}Ag karşılaştırıldığında kontrol pH değerinde kas dokusu dışındaki dokularda (% 82) daha iyi olduğu, 7,8 pH değerinde kas dokusunda (% 60) birikimin daha iyi olduğu, 7,5 pH değerinde ise, kas dokusu ve geri kalan dokulardaki (sırasıyla % 47 ve % 53) dağılımın birbirine yakın olduğu görülmektedir. Kas dokusundaki ^{110m}Ag 'ün alım deneyi sonunda biyoakümülyasyon yüzdesi kıyaslandığında, farklı pH değerleri arasında fark olduğu (Kruskal-Wallis testi, $p<0,05$) 7,8 pH değerinde kas dokusunda ^{110m}Ag 'ün biyobirikiminin 8,1 pH değerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Bonferroni düzeltmesi, $p<0,05$). Dış iskelet ve iç organlar kısmında ise, kas dokusunun tam aksine, 8,1 pH değerinde kas dokusunda ^{110m}Ag 'ün biyobirikiminin 7,8 pH değerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Bonferroni düzeltmesi, $p<0,05$).

Atılım deneyinin sonunda disekte edilen canlılarda 8,1, 7,8 ve 7,5 pH değerlerine sahip akvaryumlardaki karideslerin kas kısmında gümüş birikiminin sırasıyla % 32, % 28 ve % 21 olduğu, geri kalan dokularda ise gümüş birikiminin sırasıyla % 68, % 72 ve % 79 olduğu gözlemlenmiştir. Birim ağırlıktaki ^{110m}Ag karşılaştırıldığında ise kas dokusu dışındaki dokularda her üç grupta da birikimin daha iyi olduğu görülmektedir. Ag-110m biyobirikiminin atılım deneyi sonunda disekte edilen karideslerin dış iskelet ve iç organlar ve kas dokuları arasında farklı pH değerleri arasında fark olmadığı bulunmuştur (Kruskal-Wallis testi, $p>0,05$).

Tablo 4.8: Karideslerde ^{110m}Ag doku dağılımı (%)

Deney	pH	Dış iskelet + İç organlar	Kas dokusu
Alım	8,1	91,0 ± 3,8	9,0 ± 3,8
	7,8	44,4 ± 9,4	55,6 ± 9,4
	7,5	58,7 ± 5,7	41,3 ± 5,7
Atılım	8,1	67,9 ± 7,5	32,1 ± 7,5
	7,8	71,9 ± 6,3	28,1 ± 6,3
	7,5	79,3 ± 8,5	20,7 ± 8,5

**Şekil 4.9:** Karideslerde alım deneyi sonunda ^{110m}Ag doku dağılımı (%)



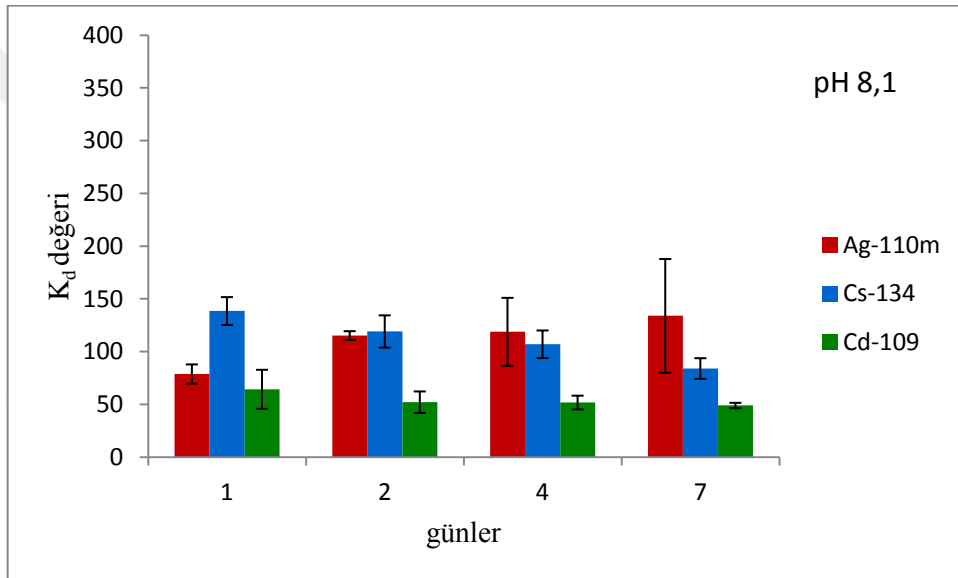
Şekil 4.10: Karideslerde atılım deneyi sonunda ^{110m}Ag doku dağılımı (%)

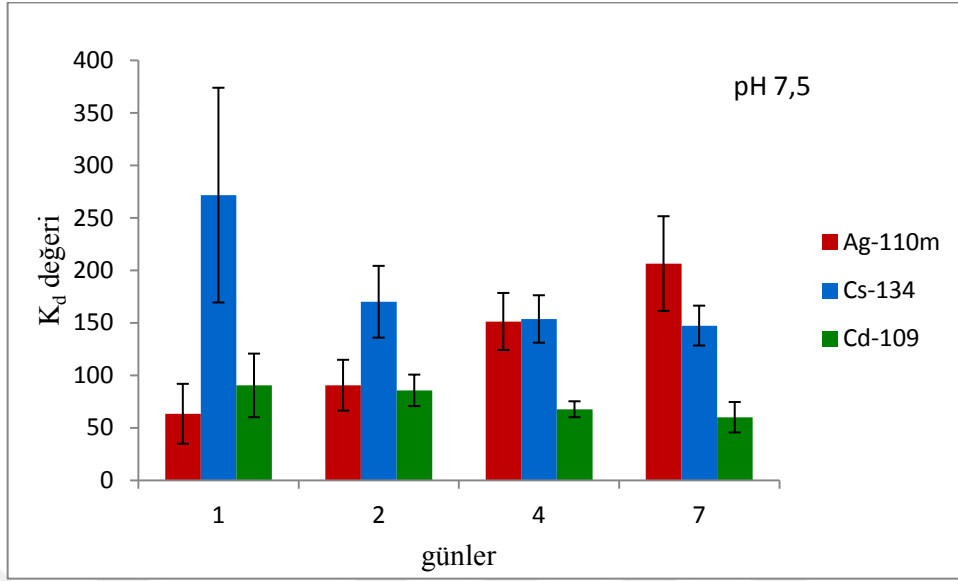
4.4.OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN SUYA ^{110M}AG , ^{109}CD VE ^{134}CS RADYONÜKLİDLERİNİN GEÇİŞ FAKTÖRÜNÜN (K_D) HESAPLANMASI:

İki pH şartında (8,1 ve 7,5) sedimentten suya element geçiş faktörü (K_d) değerleri tablo 4.9 ve şekil 4.11’de verilmiştir. İki pH ortamında da radyonüklidlerin benzer davranışlar gösterdiği tespit edilmiştir. Bir haftalık süreçte sedimentten suya radyonüklid geçişinin ^{110m}Ag zamanla giderek artma eğilimi gösterirken, ^{109}Cd ve ^{134}Cs az da olsa zamanla azalma göstermiştir. Gümüş için K_d değeri iki pH uygulaması arasında fark gözlenmemiştir (Mann-Whitney U testi, $p>0,05$). Benzer şekilde kadmiyum için her iki pH değeri arasında anlamlı bir fark bulunmazken (Mann-Whitney U testi, $p=0,057$), sezyum için düşük pH değerine sahip akvaryumdaki aktivite değerinin (Bq g^{-1}) kontrol grubu akvaryumdaki aktivite değerinden (Bq g^{-1}) anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Mann-Whitney U testi, $p<0,05$). Deneyde kullanılmış olan sedimentte tane boyu analizi yapılmış, sedimentin % 1,1 kısmını çakıl, % 98,9 kısmını kum oluşturmaktadır. Ayrıca sedimenti kuru/ yaş oranı ölçülmüş ve 1,2 olarak bulunmuştur.

Tablo 4.9: 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs için K_d (dağılım katsayısı) değerleri.

Gün	^{110m}Ag		^{109}Cd		^{134}Cs	
	8,1	7,5	8,1	7,5	8,1	7,5
1	78,9±9,1	63,4±28,5	64,4±18,5	90,4±30,3	138,6±13,2	271,7±102,3
2	115,3±24,2	90,6±24,2	52,2±10,2	85,7±15,0	119,2±15,3	170,1±34,2
4	118,9±32,2	151,3±27,2	51,9±6,5	67,7±7,6	107,1±13,1	153,7±22,6
7	134,0±53,9	206,5±45,1	49,0±2,6	60,1±14,5	84,1±9,8	147,4±19,0
Ortalama	111,8±23,4	128,0±64,0	54,4±6,8	76,0±14,4	112,3±22,8	185,7±58,1





Şekil 4.11: 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs için K_d değerleri.

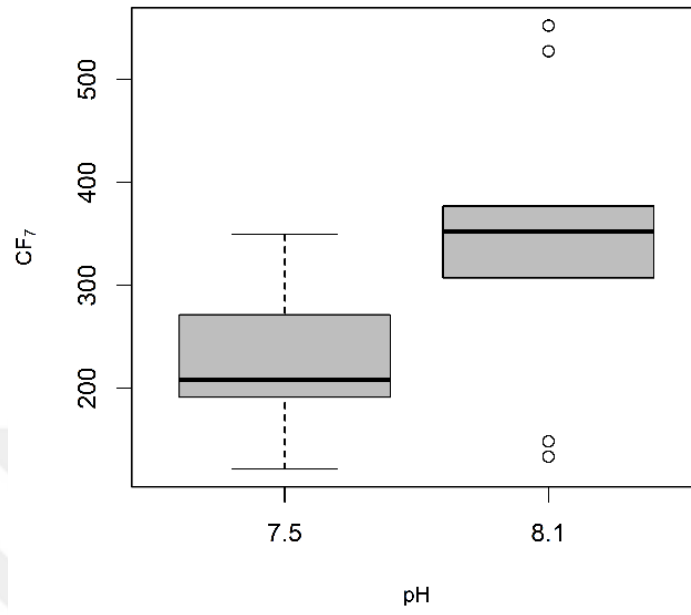
4.5.OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN KARA MİDYEYE (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*) ^{110M}Ag , ^{109}CD VE ^{134}CS RADYONÜKLİDLERİNİN KONSANTRASYON FAKTÖRÜNÜN HESAPLANMASI:

8,1 ve 7,5 pH şartları altında kara midye yumuşak dokusunda ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin konsantrasyon faktörü değerleri tablo 4.10 ve şekil 4.12’de verilmiştir. Midye yumuşak dokularındaki konsantrasyon faktörü değerlerinde ^{110m}Ag için 8,1 pH değerine sahip akvaryumda yaşayan midyelerdeki konsantrasyon faktörü değerinin 7,5 pH değerindeki midyelerin konsantrasyon faktörü değerinden daha yüksek olduğu ve bu iki pH grubu arasındaki konsantrasyon faktörü değerleri arasında anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir (Mann-Whitney U testi, $p < 0,05$). Farklı pH değerleri arasında ^{109}Cd için midye yumuşak dokularındaki aktivite değerleri (Bq g^{-1}) kıyaslandığında 8,1 ve 7,5 pH değerleri arasında sayısal farkın neredeyse olmadığı gözlenmiş ve istatistiksel olarak fark bulunamamıştır (Mann-Whitney U testi, $p > 0,05$). Cs-134 için düşük pH değerindeki (7,5) midye yumuşak dokularındaki aktivite değerleri (Bq g^{-1}) kontrol grubundan 2 kat yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Mann-Whitney U testi, $p = 0,052$).

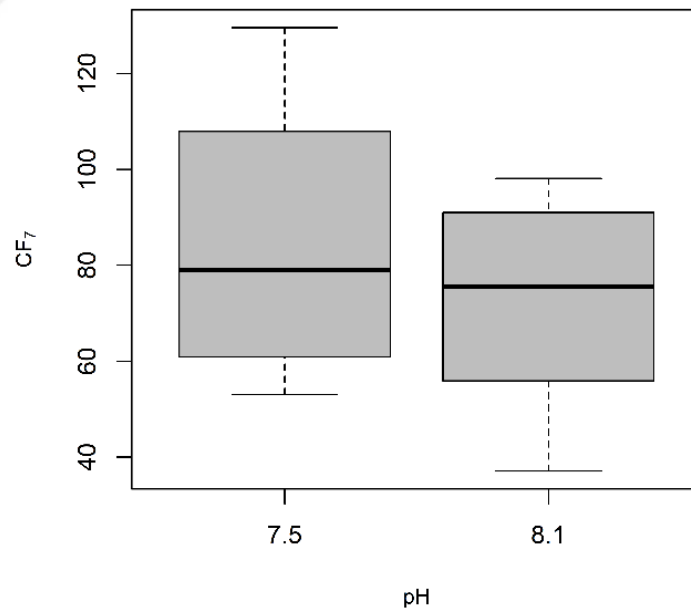
Tablo 4.10: *Mytilus galloprovincialis*. Midye yumuşak dokusunda 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin konsantrasyon faktörü değerleri.

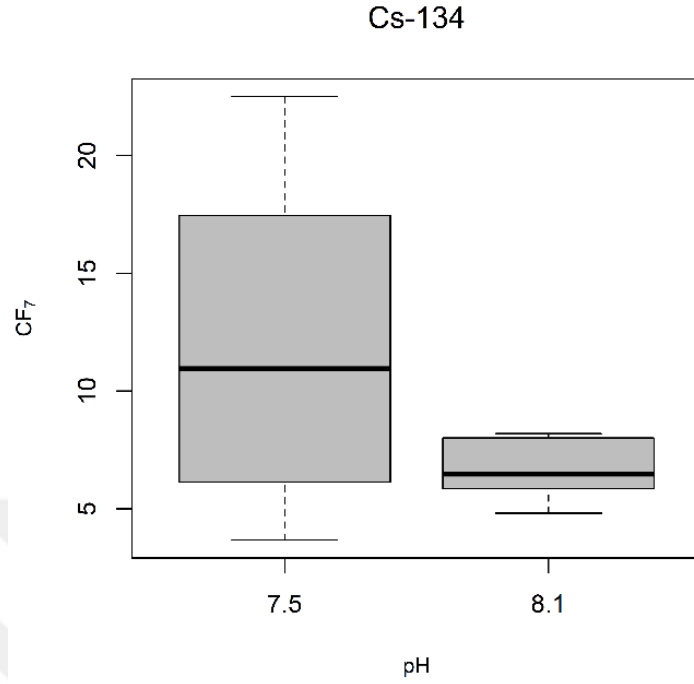
Midye No	8,1			pH 7,5		
	Ag-110m	Cd-109	Cs-134	Ag-110m	Cd-109	Cs-134
1	318	69,4	7,80	194	60,8	6,15
2	359	91,0	5,85	163	54,0	13,29
3	527	81,6	4,89	271	110,4	5,46
4	377	97,6	6,02	121	53,1	3,67
5	133	46,0	8,19	191	69,5	22,51
6	307	82,9	4,81	205	88,5	17,44
7	553	98,1	8,01	298	95,0	20,68
8	374	66,1	6,75	270	107,9	17,46
9	148	37,0	6,20	212	64,7	8,63
10	346	55,9	8,02	349	129,6	8,56
Ortalama	344±135	72,6±21,4	6,7±1,3	228±68	83,4±26,8	12,4±6,8

Ag-110m



Cd-109

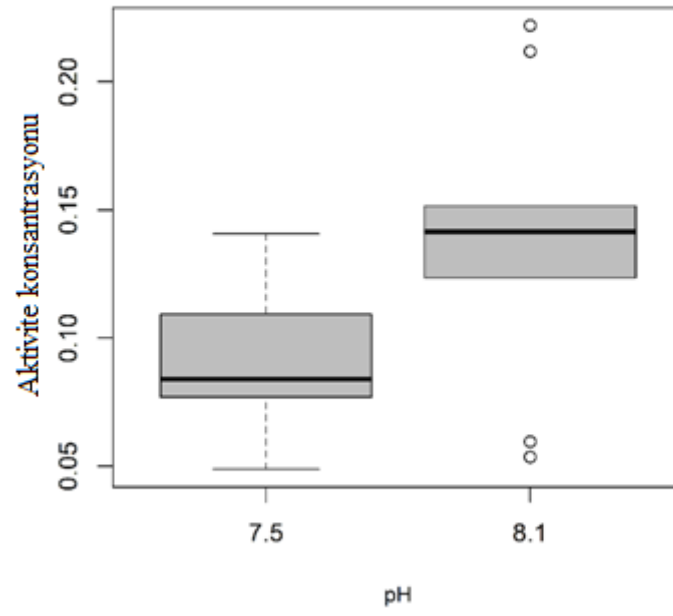




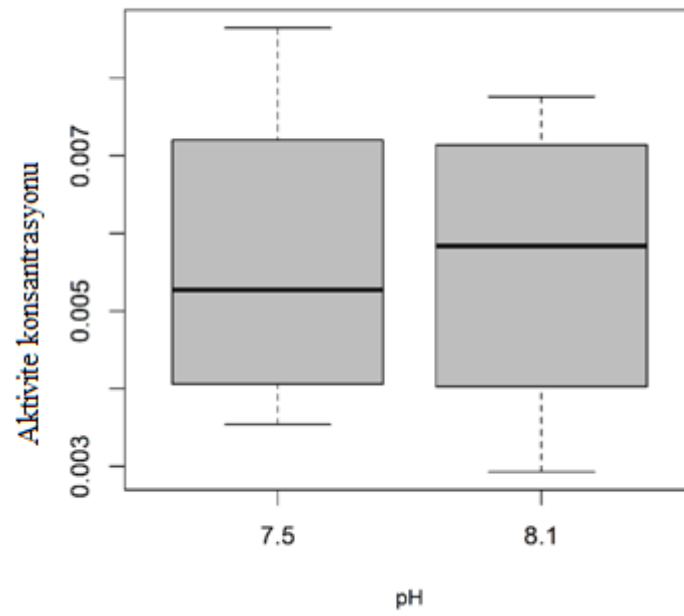
Şekil 4.12: *Mytilus galloprovincialis*. 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin konsantrasyon faktörü değerleri.

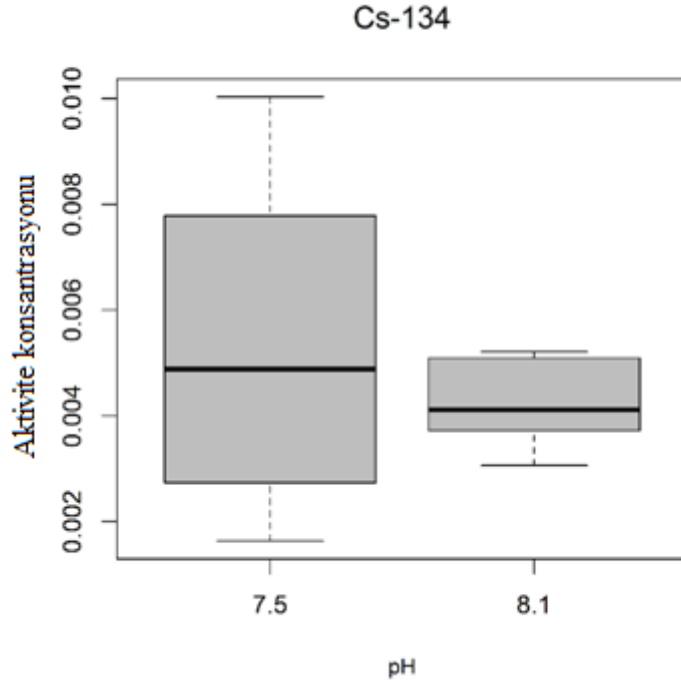
8,1 ve 7,5 pH şartları altında kara midye (*Mytilus galloprovincialis*) yumuşak dokusunda ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin aktivite konsantrasyon değerleri şekil 4.13'te verilmiştir. Midye yumuşak dokularındaki aktivite konsantrasyonları kıyaslandığında; ^{110m}Ag için 8,1 pH değerindeki midyelerde 7,5 pH değerindeki midyelerden anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (Mann-Whitney U testi, $p < 0,05$). Cd-109 ve ^{134}Cs için midye yumuşak dokularındaki aktivite konsantrasyonları pH grupları arasında fark göstermemiştir (Mann-Whitney U testi, $p > 0,05$).

Ag-110m



Cd-109





Şekil 4.13: *Mytilus galloprovincialis*. 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag, ¹⁰⁹Cd ve ¹³⁴Cs radyonüklidlerinin aktivite konsantrasyonu (Bq g⁻¹).

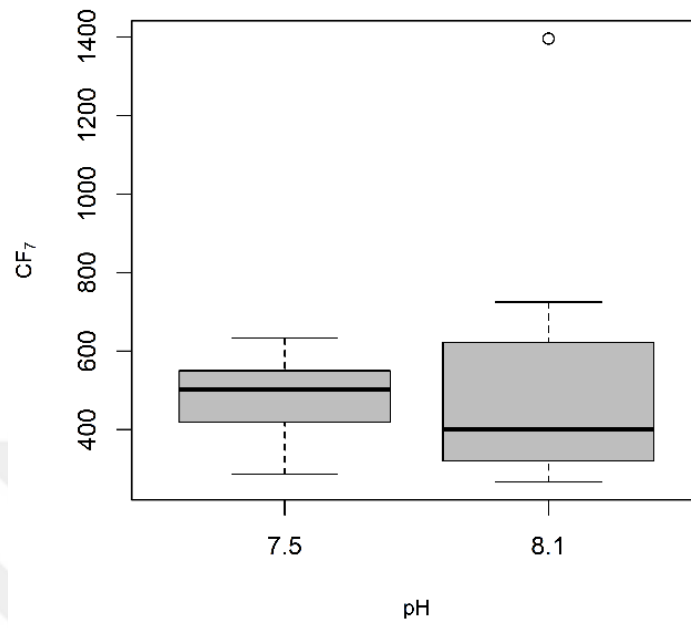
4.6.OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN KUM MİDYESİNE ^{110M}AG, ¹⁰⁹CD VE ¹³⁴CS RADYONÜKLİDLERİNİN KONSANTRASYON FAKTÖRÜ VE TRANSFER FAKTÖRÜNÜN (TF) HESAPLANMASI:

Kum midyesi yumuşak dokusunda ^{110m}Ag, ¹⁰⁹Cd ve ¹³⁴Cs radyonüklidlerinin konsantrasyon faktörü değerleri tablo 4.11 ve şekil 4.14'te verilmiştir. Kum midyesi yumuşak doku konsantrasyon faktörü değerlerinde ^{110m}Ag için anlamlı fark gözlenmemiştir (Mann-Whitney U testi, p>0,05). Cd-109 için 7,5 pH değerindeki midyelerin yumuşak dokularındaki aktivite konsantrasyonu (Bq g⁻¹) 8,1 pH değerine sahip akvaryumlardaki midyelerin yumuşak dokularındaki aktivite konsantrasyonundan (Bq g⁻¹) anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (Mann-Whitney U testi, p<0,05). Benzer şekilde, ¹³⁴Cs için düşük pH değerindeki midyelerin yumuşak dokularındaki aktivite konsantrasyonu (Bq g⁻¹) kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Mann-Whitney U testi, p<0,05).

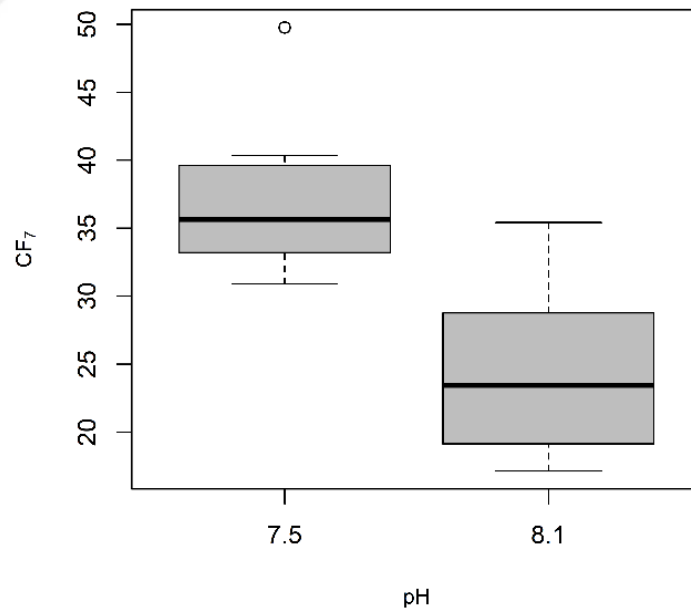
Tablo 4.11: *Ruditapes philippinarum*. 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin kum midyesi yumuşak dokusundaki konsantrasyon faktörü değerleri.

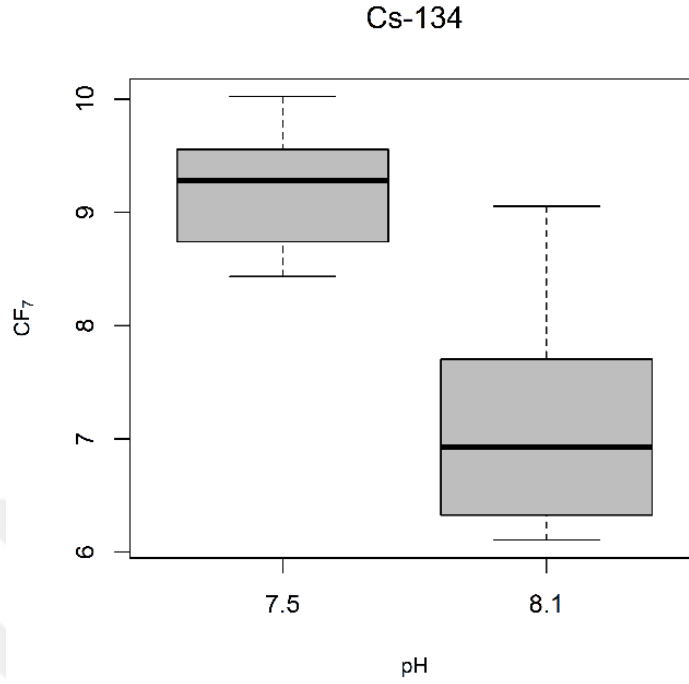
Midye No	8,1			7,5		
	Ag-110m	Cd-109	Cs-134	Ag-110m	Cd-109	Cs-134
1	1396	35,4	7,83	347	33,1	10,02
2	336	17,1	7,39	583	49,8	9,59
3	725	20,6	6,46	509	33,3	8,43
4	303	17,7	7,58	490	40,3	9,52
5	519	32,1	6,28	495	34,1	9,05
6	266	23,1	9,05	633	38,9	9,53
7	432	25,4	6,37	516	37,2	9,01
8	371	23,8	6,11	286	30,9	8,47
Ortalama	544±374	24,4±6,5	7,13±1,01	482±115	37,2±6,0	9,20±0,56

Ag-100m



Cd-109

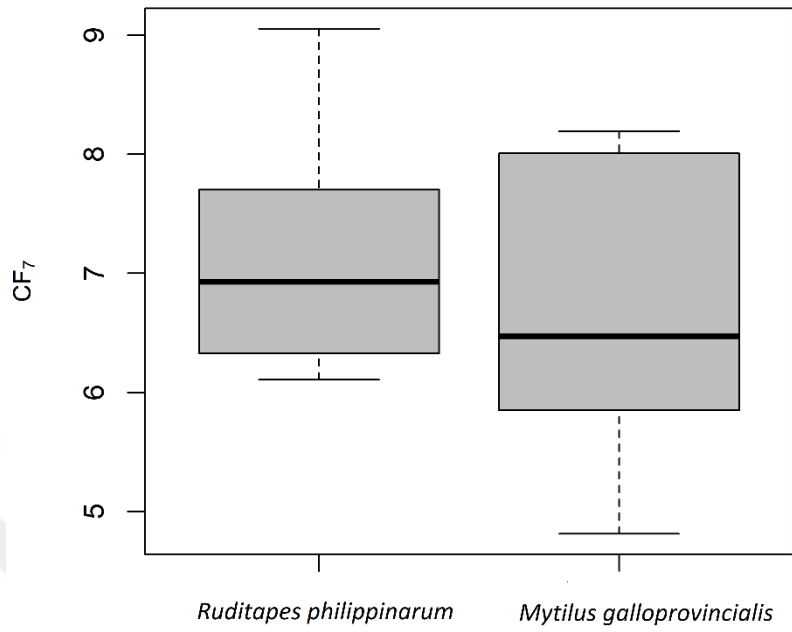




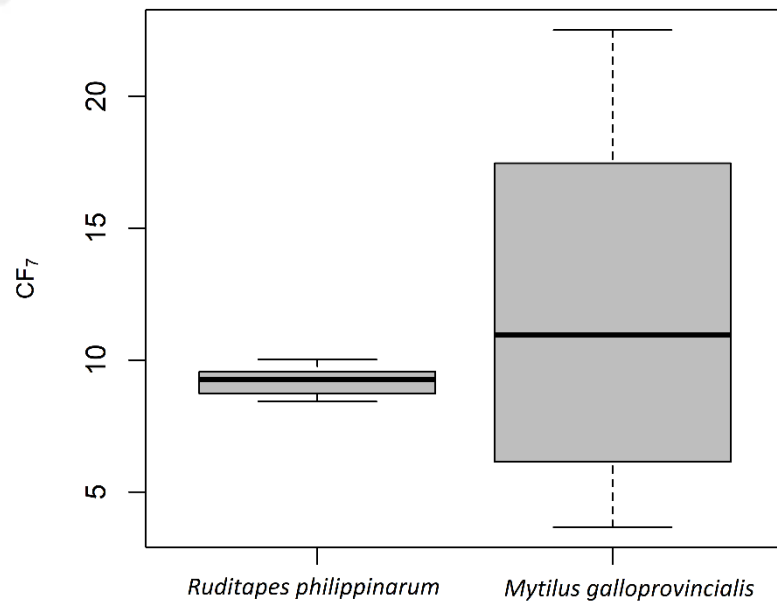
Şekil 4.14: *Ruditapes philippinarum*. 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin kum midyesi yumuşak dokusundaki konsantrasyon faktörü değerleri.

Akdeniz midyesi (*Mytilus galloprovincialis*) ve Manila kum midyesi (*Ruditapes philippinarum*) yumuşak doku konsantrasyon faktörü değerleri kıyaslandığında; ^{134}Cs için hem 8,1 pH değerinde hem de 7,5 pH değerinde iki midye türü arasında fark olmadığı gözlenmiştir (Mann-Whitney U testi, $p>0,05$) ^{110m}Ag için 8,1 pH değerinde iki midye türü arasında fark olmadığı (Mann-Whitney U testi, $p>0,05$), 7,5 pH değerinde ise *Ruditapes philippinarum* türü midyede ^{110m}Ag için CF değerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Mann-Whitney U testi, $p<0,05$). ^{109}Cd için hem 8,1 pH değerinde hem de 7,5 pH değerinde *Mytilus galloprovincialis* türü midyede ^{109}Cd için CF değerinin daha yüksek olduğu (Mann-Whitney U testi, $p<0,05$) gözlenmiştir.

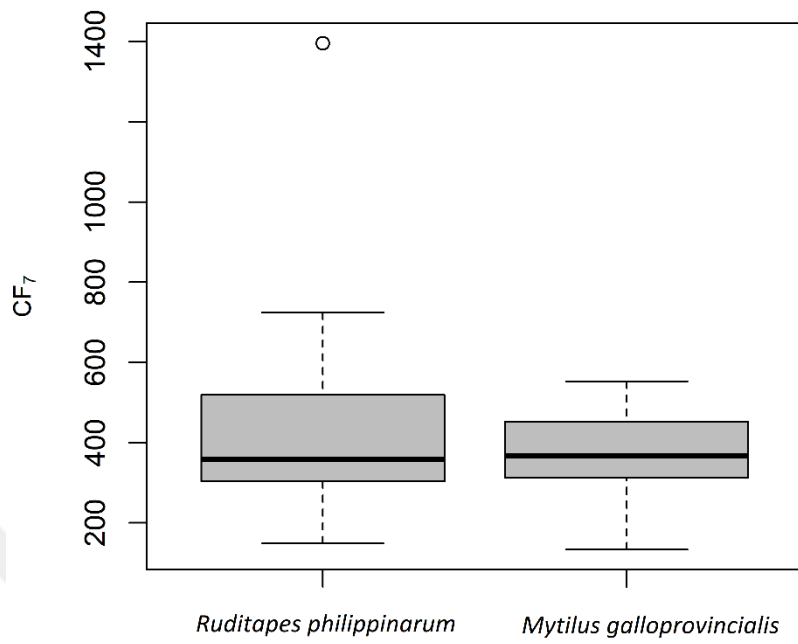
Cs-134(8,1)



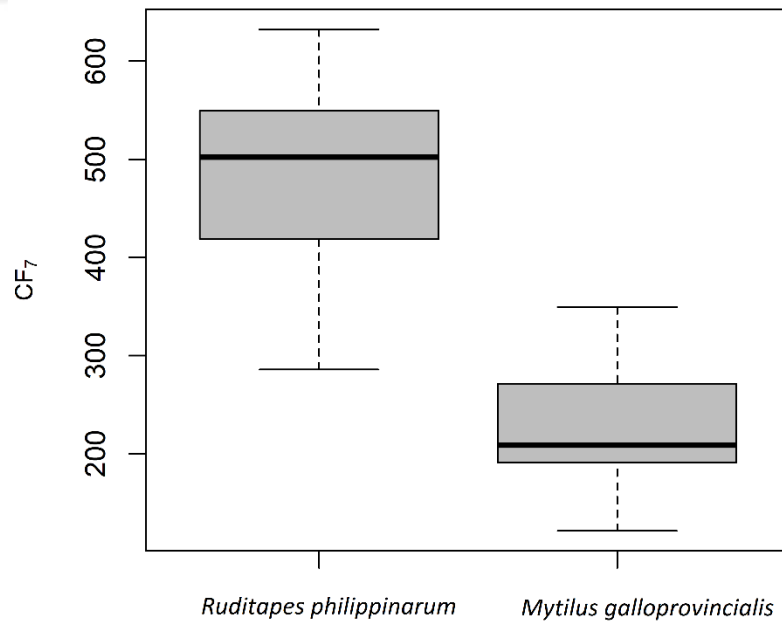
Cs-134(7,5)

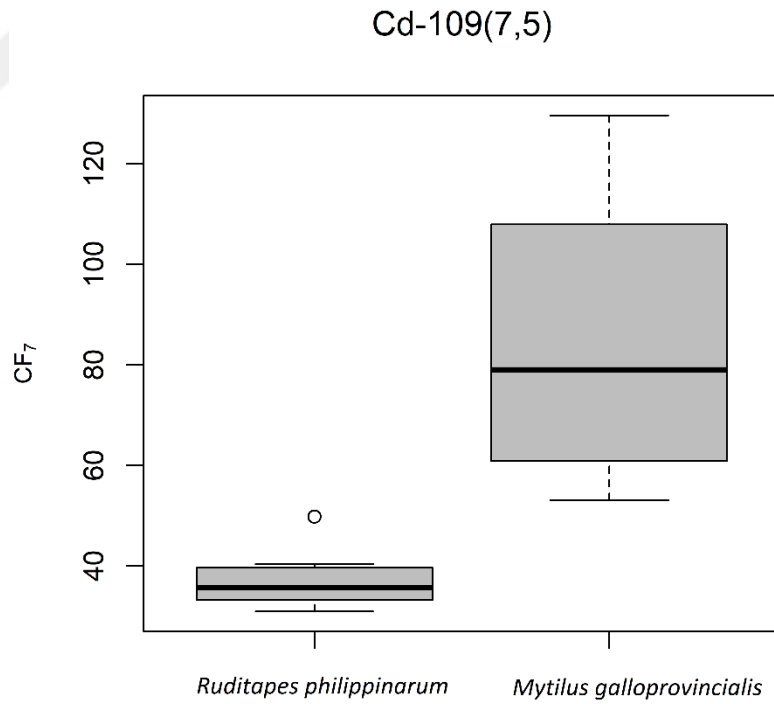
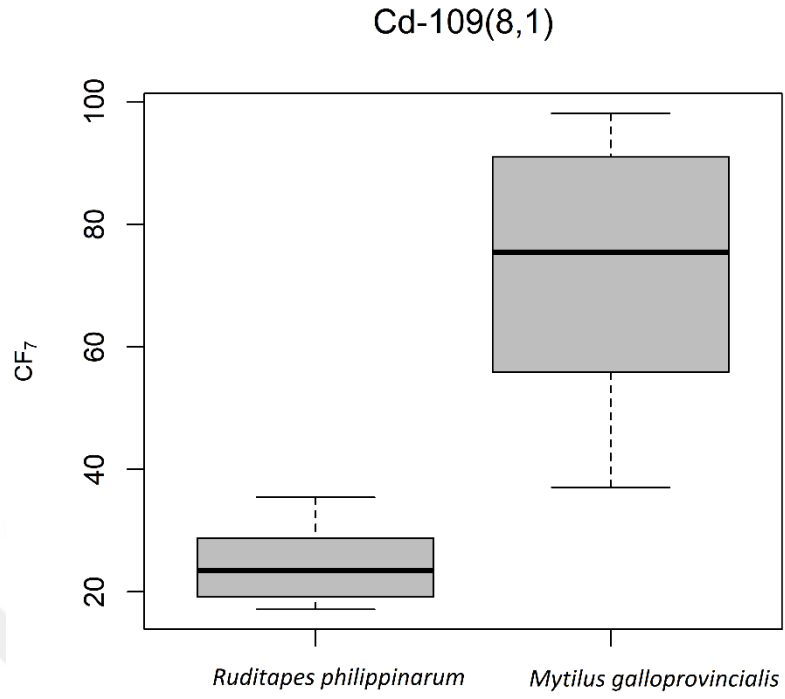


Ag-110m(8,1)



Ag-110m(7,5)





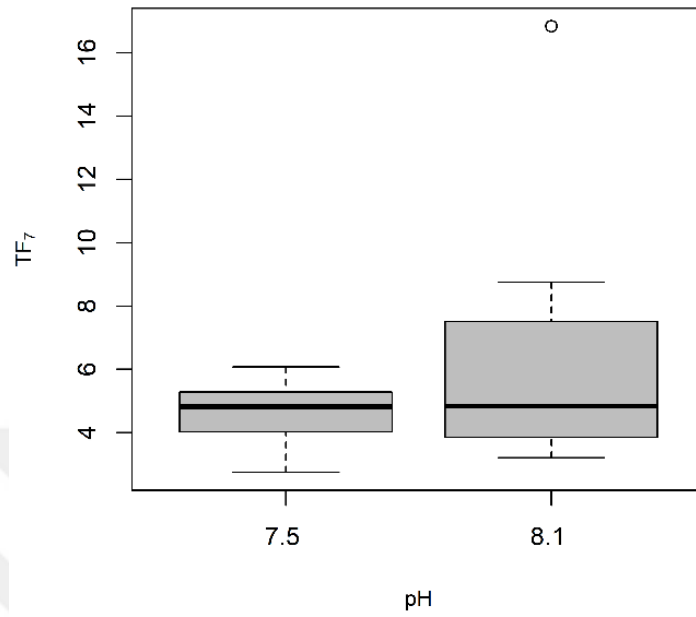
Şekil 4.15: Akdeniz midyesi (*Mytilus galloprovincialis*) ve Manila kum midyesi (*Ruditapes philippinarum*) yumuşak doku konsantrasyon faktörü değerleri

Kum midyesi yumuşak dokusunda ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin sedimentten transfer faktörü değerleri tablo 4.12 ve şekil 4.15'te verilmiştir. Kum midyesi yumuşak doku transfer faktörü ^{110m}Ag ve ^{109}Cd için anlamlı fark gözlenmemiştir (Mann-Whitney U testi, $p>0,05$). Farklı pH değerleri arasında kum midyesi yumuşak dokusunda ^{134}Cs için 8,1 pH değerinde transfer faktörü değerlerinin 7,5 pH değerindeki transfer faktörü değerlerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Mann-Whitney U testi, $p<0,005$).

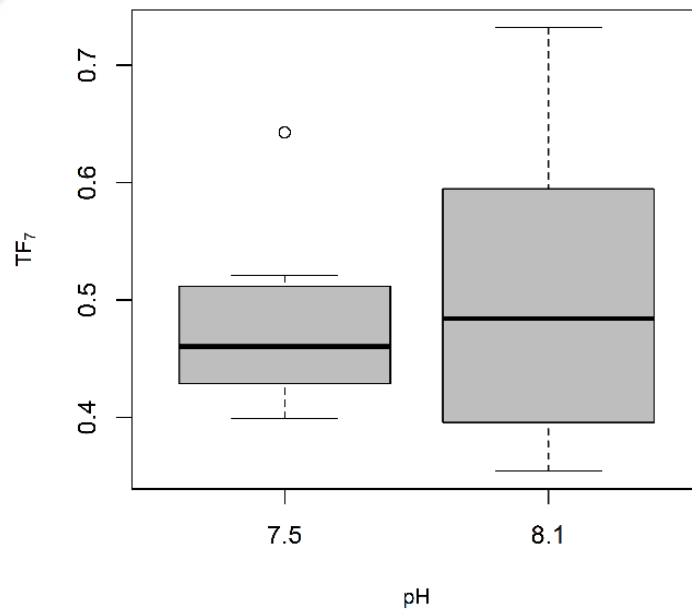
Tablo 4.12: *Ruditapes philippinarum*. 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin kum midyesi yumuşak dokusundaki transfer faktörü değerleri.

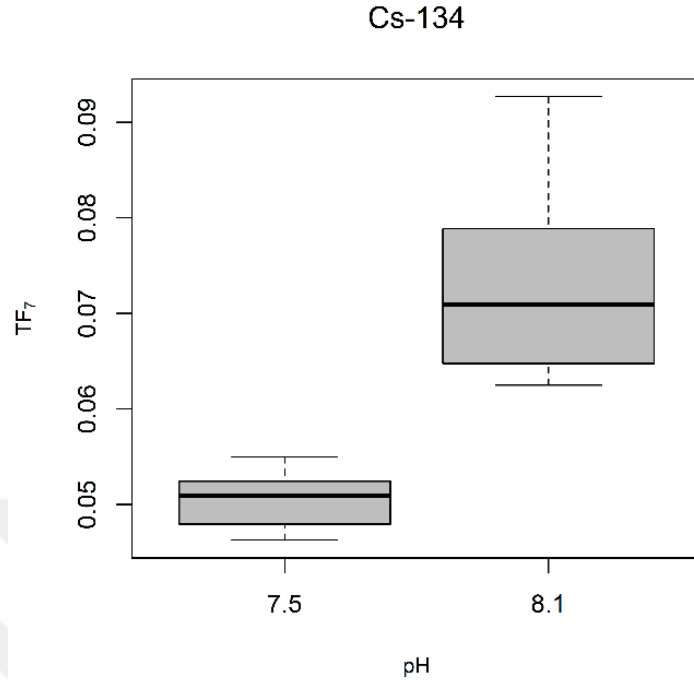
Midye No	8,1			7,5		
	Ag-110m	Cd-109	Cs-134	Ag-110m	Cd-109	Cs-134
1	16,84	0,73	0,08	3,34	0,43	0,06
2	4,05	0,35	0,08	5,50	0,64	0,05
3	8,74	0,43	0,07	4,89	0,43	0,05
4	3,66	0,37	0,08	4,71	0,52	0,05
5	6,26	0,66	0,06	4,76	0,44	0,05
6	3,21	0,48	0,09	6,08	0,50	0,05
7	5,21	0,53	0,07	4,95	0,48	0,05
8	4,47	0,49	0,06	2,74	0,40	0,05
Ortalama	6,56±4,51	0,50±0,13	0,07±0,01	4,63±1,10	0,48±0,08	0,05±0,003

Ag-110m



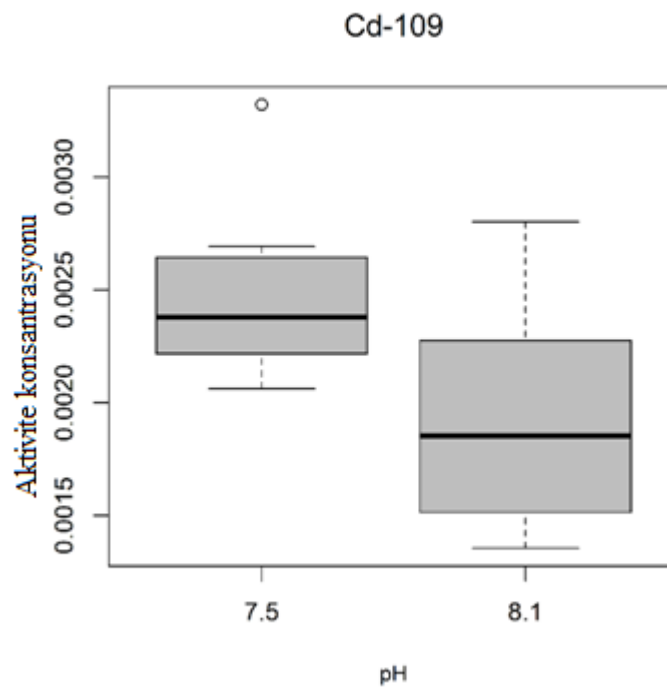
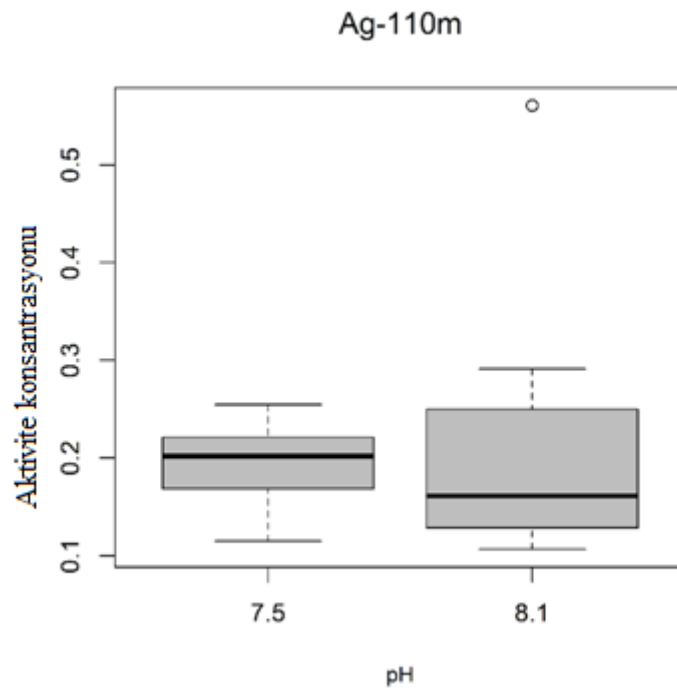
Cd-109

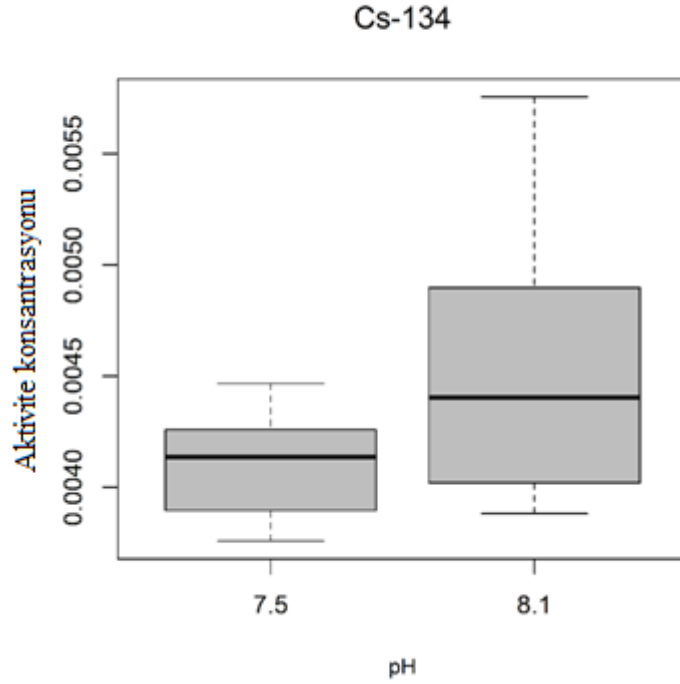




Şekil 4.16: *Ruditapes philippinarum*. 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin kum midyesi yumuşak dokusundaki transfer faktörü değerleri.

Manila kum midyesinde (*Ruditapes philippinarum*) 8,1 ve 7,5 pH değerleri arasında ^{110m}Ag ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin aktivite konsantrasyonu için anlamlı fark gözlenmezken (Mann-Whitney U testi, $p>0,05$), ^{109}Cd için 7,5 pH değerindeki midyelerin aktivite konsantrasyonunun 8,1 pH değerindeki midyelerden anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Mann-Whitney U testi, $p<0,05$).





Şekil 4.17: *Ruditapes philippinarum*. 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin aktivite konsantrasyonu (Bq g^{-1}) değerleri.

4.7.OKYANUS ASİTLENMESİNİN FARKLI BÜYÜKLÜKTEKİ AKDENİZ MİDYELERİNDE (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*) GÜMÜŞ (AG-110M) VE KADMIYUM (CD-109) BİYOBİRİKİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:

Mytilus galloprovincialis türü midyeler küçük ve büyük olmak üzere iki gruba ayrılmış, her iki grup da 28 gün alıştırma periyodunun ardından 21 gün ^{109}Cd ve ^{110m}Ag radyoizleyicilerinin birikim kinetiği incelenmiş, sonrasında 33 gün atılım deneyine devam edilmiştir. Deneyin devam ettirildiği 82 gün boyunca 7,8 pH değerine sahip akvaryumda alıştırma periyodu esnasında 1 büyük midyede ölüm olayı gözlenmiştir. Deney süresince iki haftada bir alkalinite değerleri manuel olarak Gran yöntemiyle ölçülmüştür. Akvaryumlara verilen CO_2 miktarına bağlı olarak bilgisayarda kaydedilen akvaryum pH değerleri ve alkalinite değerleri kullanılarak deniz suyu karbonat kimyasına ait verilerin saptanması sağlanmıştır. Bu verilerin saptanması için R studio istatistik programına ait “seacarb” paketi kullanılmıştır.

4.7.1. Alım Deneyi

Ag-110m ve ^{109}Cd alım biyokinetiği modelleri büyük ve küçük midye gruplarında incelenmiş, konsantrasyon faktörü değerleri ve alım değerleri parametreleri tablo 4.13'te, küçük ve büyük midyelerde $^{110\text{m}}\text{Ag}$ ve ^{109}Cd alım grafikleri şekil 4.17 ve 4.18'de verilmiştir. Ag-110m ve ^{109}Cd küçük ve büyük midyelerde çift fazlı eksponansiyel doyma modeline göre birikim göstermiştir.

Alım deneyi boyunca midyelerde ve deney suyunda elde edilen ölçüm sonuçları kullanılarak her sayım günü için konsantrasyon faktörü değerleri büyük ve küçük midyeler için ayrı olarak hesaplanmıştır.

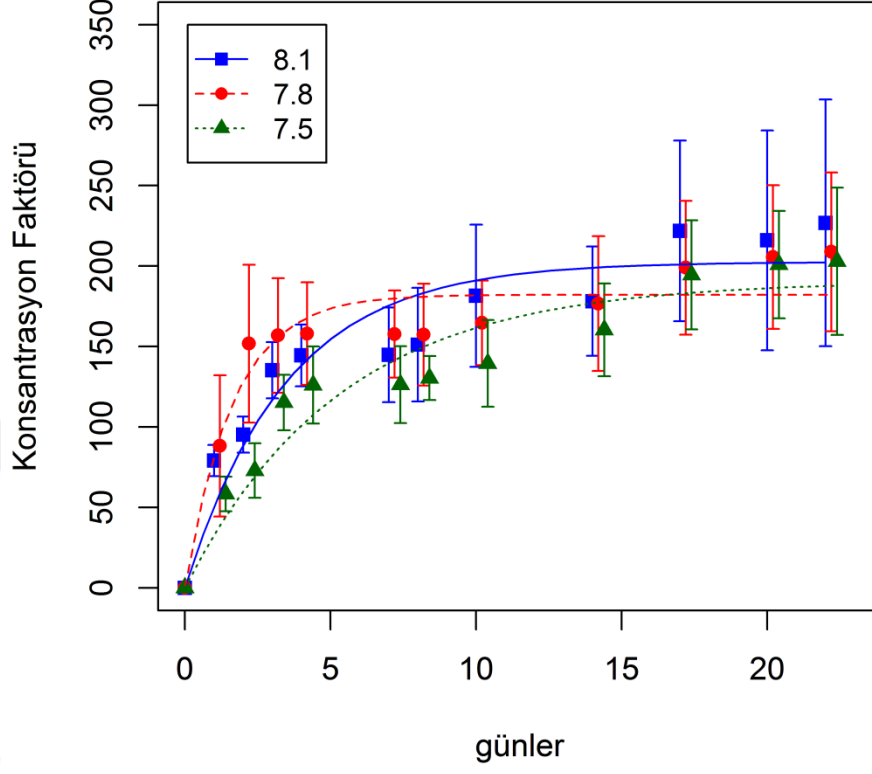
Tablo 4.13: Büyük ve küçük midyelerde $^{110\text{m}}\text{Ag}$ ve ^{109}Cd radyoizleyicilerinin alım kinetiği parametreleri.

Metal	Büyükklük	pH	$k_u \pm \text{SE}$	$k_e \pm \text{SE}$	CF_{ss}	R^2	
$^{110\text{m}}\text{Ag}$	Büyük	8,1	$58,20 \pm 6,99$ ***	$0,29 \pm 0,04$ ***	$202,6 \pm 26,6$	0,66	
		7,8	$127,29 \pm 0,70$ ***	$18,57 \pm 0,11$ ***	$181,2 \pm 27,6$	0,66	
		7,5	$41,37 \pm 3,80$ ***	$0,22 \pm 0,03$ ***	$185,8 \pm 19,2$	0,77	
	Küçük	8,1	$64,51 \pm 7,71$ ***	$0,26 \pm 0,04$ ***	$241,6 \pm 31,9$	0,69	
		7,8	$129,55 \pm 21,53$ ***	$0,45 \pm 0,08$ ***	$283,8 \pm 50,0$	0,55	
		7,5	$44,16 \pm 5,04$ ***	$0,16 \pm 0,03$ ***	$273,6 \pm 37,2$	0,70	
	^{109}Cd	Büyük	8,1	$17,38 \pm 1,41$ ***	$0,08 \pm 0,01$ ***	$208,4 \pm 30,2$	0,86
			7,8	$15,86 \pm 1,35$ ***	$0,06 \pm 0,01$ ***	$251,0 \pm 32,4$	0,86
			7,5	$13,26 \pm 1,21$ ***	$0,04 \pm 0,01$ **	$374,3 \pm 43,3$	0,86
Küçük		8,1	$21,18 \pm 1,51$ ***	$0,12 \pm 0,01$ ***	$174,4 \pm 24,8$	0,87	
		7,8	$21,46 \pm 1,84$ ***	$0,08 \pm 0,01$ ***	$257,8 \pm 29,9$	0,85	
		7,5	$14,19 \pm 1,14$ ***	$0,04 \pm 0,01$ **	$329,6 \pm 33,7$	0,88	

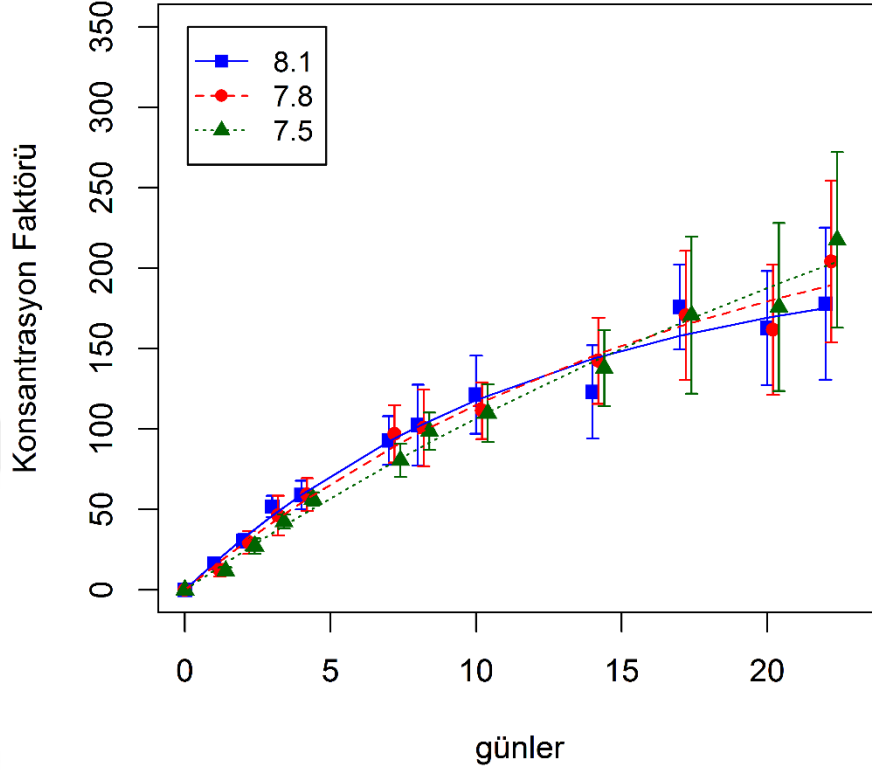
p: < 0.0001 (***), < 0.001 (**), < 0.01 (*).

k_u : alım sabiti, k_e : atılım sabiti, CF_{ss} : denge durumundaki konsantrasyon faktörü, SE: standart hata, SD: standart sapma, R^2 : belirsizlik katsayısı

Ag-110m (Büyük midye)

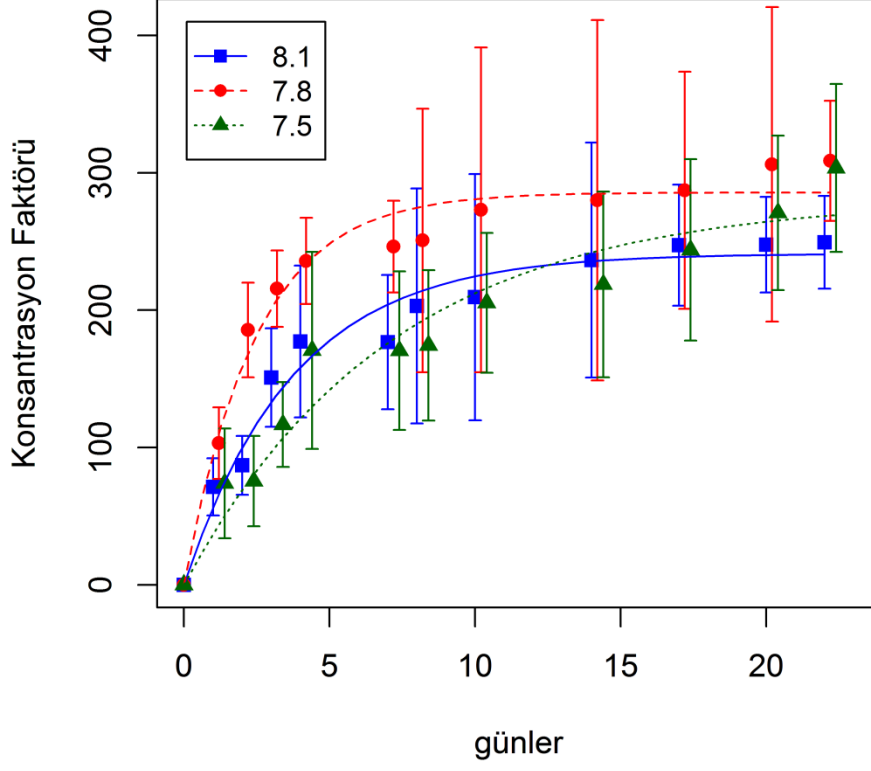


Cd-109 (büyük midye)

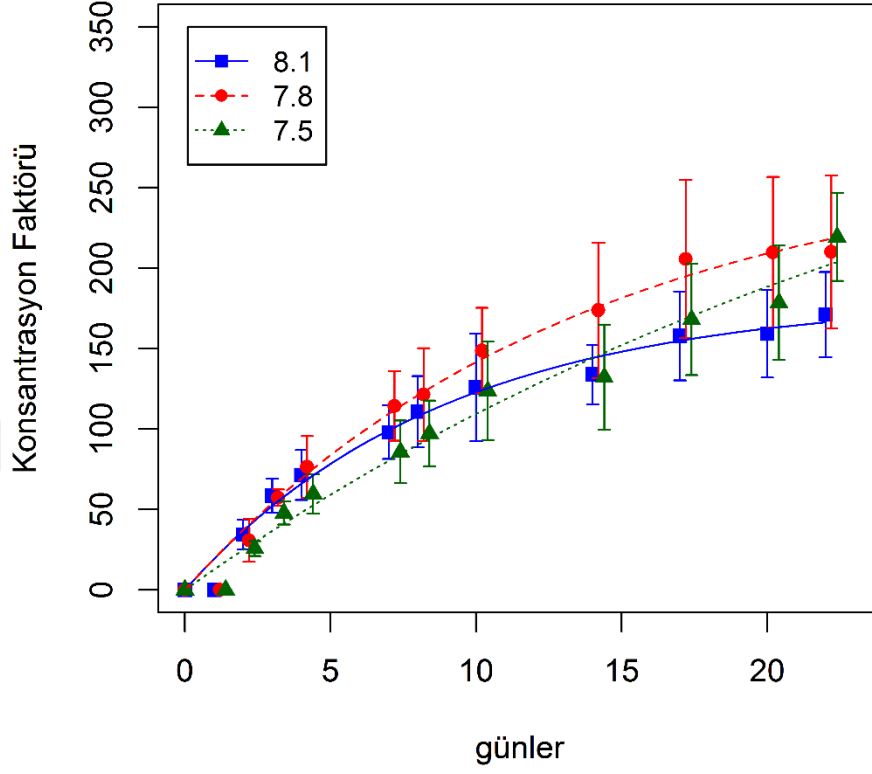


Şekil 4.18: Üç farklı deniz suyu pH seviyesinde erişkin midyelerde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd alım biyokinetiği

Ag-110m (küçük midye)

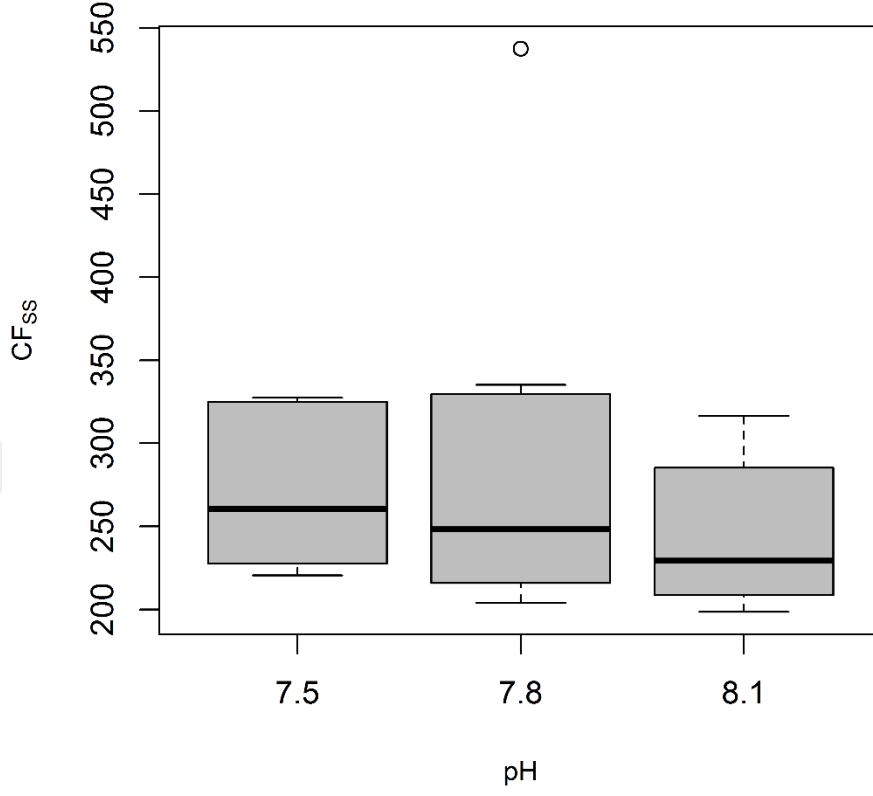


Cd-109 (Küçük midye)

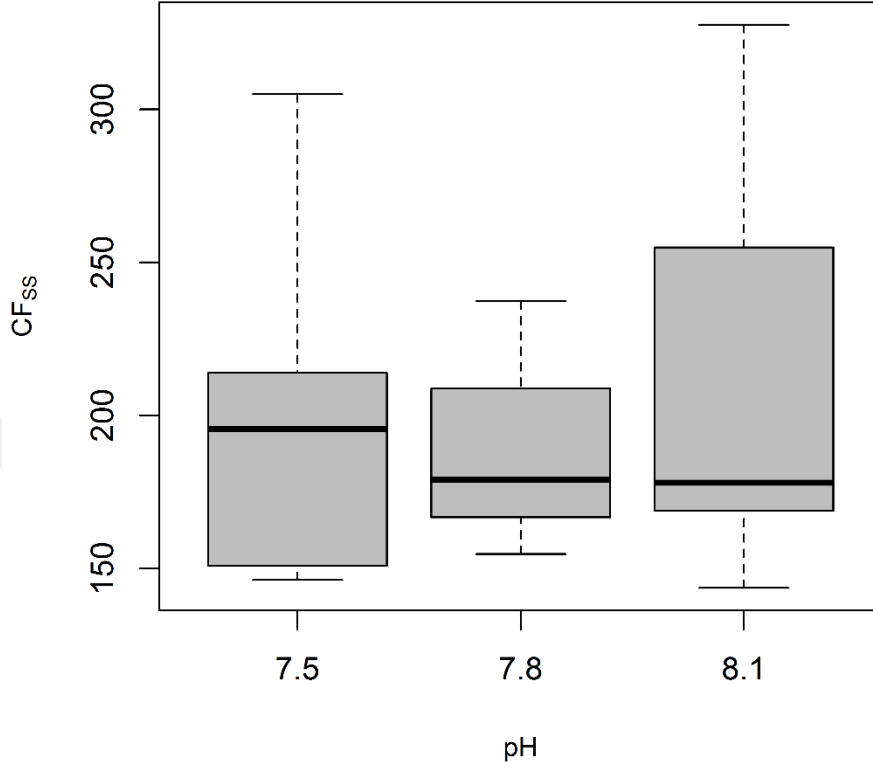


Şekil 4.19: Üç farklı deniz suyu pH seviyesinde yavru midyelerde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd alım biyokinetiği

Küçük midyelerde Ag-110m alımı



Büyük midyelerde Ag-110m alımı



Şekil 4.20: Küçük ve büyük midyeler ^{110m}Ag alım grafikleri

İki farklı boyuta ayrılmış olan midyelerde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd için CF değeri hesaplanmıştır. 21 günlük alım periyodu sonunda midyelerde ^{110m}Ag CF değerleri 200 ve üzeri değerlere ulaşmıştır. Hem iki vücut büyüklüğünde (büyük ve küçük) hem de üç pH grubunda 21 gün ^{110m}Ag alımının denge durumuna ulaşmasına yeterli olmuştur. Midyede ^{110m}Ag alımına genel olarak bakıldığında CF_{ss} 'in 181,2 ila 283,8 arasında değiştiği görülmektedir. Ag-110m için CF_{ss} küçük midyelerde büyük midyelere oranla daha yüksek bulunmuştur. Uygulanan üç farklı pH değerine bakılmaksızın büyük midyelerde CF_{ss} ortalama olarak 190 küçük midyelerde 266 olarak bulunmuştur. Alım sabiti k_u ve atılım sabiti k_e değerleri büyük ve küçük midyeler arasında benzerdir. Buna göre küçük midyelerin pH:8,1'deki k_u ve k_e değerleri büyük midyelerin pH:8,1'deki k_u ve k_e değerlerine benzerdir. Bu durumun diğer pH grupları için de geçerli olduğu görülmektedir. pH:7,8'de hem k_u hem de k_e değerleri diğer iki pH grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni eksponansiyel alım eğrisinin omuz

bölgesinin diğer iki pH grubuna göre daha belirgin olmasıdır. Midyelerde ^{109}Cd alımı incelendiğinde, CF_{ss} değerlerinin hem erişkin hem de yavru midyelerde azalan pH değeri ile artış gösterdiği görülmektedir. Büyük midyelerde CF_{ss} değeri 208-374 aralığında, küçük midyelerde ise, 178-329 aralığında bulunmuştur. Cd-109 için CF_{ss} değerlerinin $^{110\text{m}}\text{Ag}$ 'den farklı olarak büyük midyelerde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ag-110m 'de olduğu gibi ^{109}Cd için de alım sabiti k_u ve atılım sabiti k_e değerlerinin yakın olduğu ve midye boyutundan etkilenmediği görülmektedir.

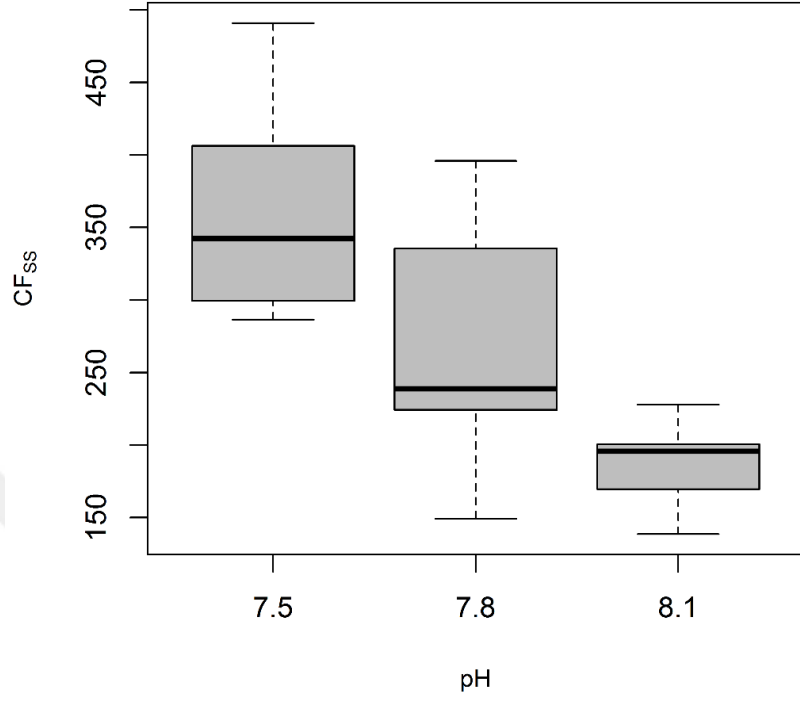
Küçük midyelerde $^{110\text{m}}\text{Ag}$ alımı pH gruplarına göre karşılaştırıldığında gruplar arasında k_u ve k_e değerleri bakımından fark olduğu sonucuna varılmıştır (Kruskal Wallis testi; $p < 0,05$). Buna karşın CF_{ss} değerleri arasında gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür (Kruskal Wallis testi; $p > 0,05$). Alım sabiti k_u ve atılım sabiti k_e değerleri için gruplar arasında fark olmasına karşın bu değerler ile hesaplanan CF_{ss} değeri bakımından fark olmamasının nedeni üç eğrinin aşağı yukarı aynı doyma durumuna ulaşması fakat alım eğrisi şekillerinin farklı olmasıdır (pH:7,8'e ait eğrinin şekli diğer iki gruba göre farklıdır). Üçlü olarak aralarında fark olduğu belirlenen k_u ve k_e değerleri için hangi ikili gruplar arasında fark olduğunu bulmak için Dunn testi (Bonferroni düzelmesi ile) uygulanmıştır. Buna göre pH: 7,8 şartında bulunan k_u ve k_e değerlerinin pH: 8,1 ve pH: 7,5 şartlarında bulunanlardan istatistiksel olarak farklı olduğu (yüksek olduğu) (Dunn testi; $p < 0,05$), pH: 7,5 ila pH: 8,1 arasında bu bakımdan fark olmadığı (Dunn testi; $p > 0,05$) görülmüştür. Küçük midyelerde ^{109}Cd alımının pH grupları arasında k_u ve k_e değerleri bakımından fark olduğu (Kruskal Wallis testi; $p < 0,05$), k_e değeri için 7,5 pH değerinde 8,1 pH değerinden daha yüksek olduğu gözlenirken (Dunn testi, Bonferroni düzeltmesi $p < 0,05$), k_u değeri için 7,5 pH değerindeki midyelerin hem 8,1 hem de 7,8 pH değerindeki midyelerden daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Dunn testi, Bonferroni düzeltmesi $p < 0,05$). Benzer şekilde küçük midyelerde ^{109}Cd için CF_{ss} değeri 7,5'de 8,1'den anlamlı derecede yüksektir (Dunn testi, Bonferroni düzeltmesi $p < 0,05$).

Büyük midyelerde de $^{110\text{m}}\text{Ag}$ alımı pH gruplarına göre karşılaştırıldığında gruplar arasında k_u değerleri bakımından fark olduğu sonucuna varılmıştır (Kruskal Wallis testi; $p < 0,05$). Buna karşın CF_{ss} ve k_e değerleri arasında gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür (Kruskal Wallis testi; $p > 0,05$). Gruplar arası benzer CF_{ss} değerlerine karşın benzeşmeyen k_u değerlerinin nedeni (küçük midyelerdeki sonuçlara benzer şekilde) benzeşmeyen eğri şekilleridir. Üçlü olarak aralarında fark olduğu belirlenen k_u değerleri için hangi iki grubun

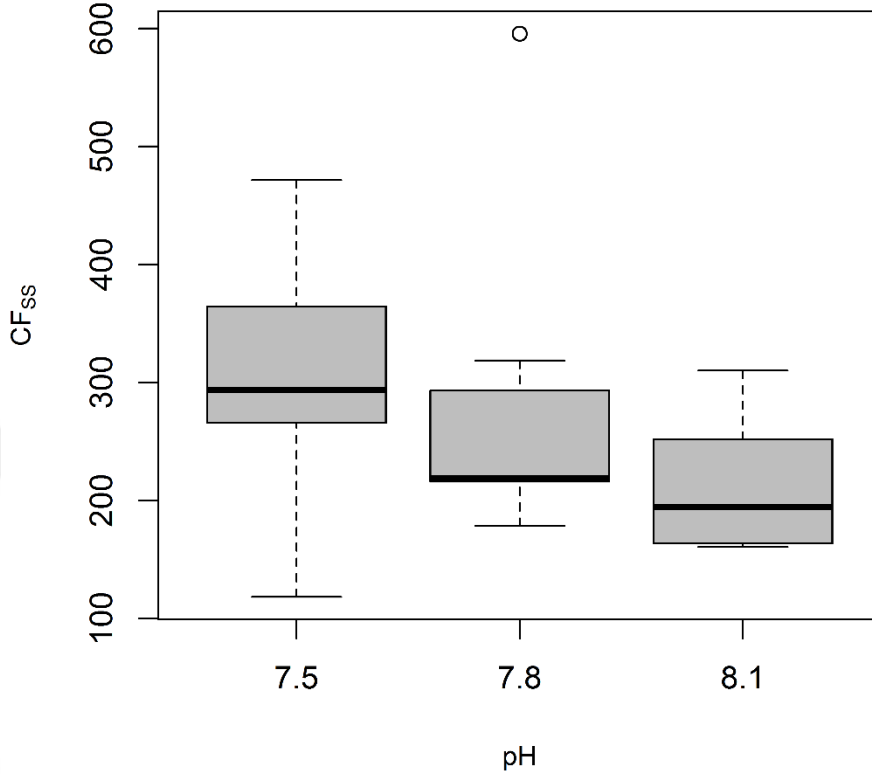
arasında fark olduğunu bulmak için (pairwise test) Dunn testi (Benforroni düzelmesi ile) uygulanmıştır. Buna göre pH: 7,8 k_u değerlerinin pH: 7,5'den istatistiksel olarak farklı olduğu (daha büyük olduğu) (Dunn testi; $p < 0,05$), bunun dışında gruplar arasında k_u değeri bakımından önemli bir fark olmadığı (Dunn testi; $p > 0,05$) görülmüştür. Ag-110m alım şekli gruplar arasında farklı olmakla birlikte 20 gün sonunda ulaşılan CF_{ss} değerleri arasında fark olmaması okyanus asitlenmesinin ^{110m}Ag alımı üzerinde etkili olmadığı şeklinde yorumlanabilir. Büyük midyelerde ^{109}Cd alımı pH gruplarına göre karşılaştırıldığında gruplar arasında k_u , k_e ve CF_{ss} değerleri bakımından fark olmadığı sonucuna varılmıştır (Kruskal Wallis testi; $p > 0,05$).



Küçük midyelerde Cd-109 alımı



Büyük midyelerde Cd-109 alımı



Şekil 4.21: Küçük ve büyük midyeler ^{109}Cd alım grafikleri.

4.7.2. Atılım Deneyi

Büyük ve küçük midyelerde atılım biyokinetiğine model parametreleri Tablo 4.14'te, küçük ve büyük midyelerde $^{110\text{m}}\text{Ag}$ ve ^{109}Cd atılım grafikleri Şekil 4.21'te verilmiştir. Midyede $^{110\text{m}}\text{Ag}$ atılım değerlendirildiğinde midye boyutuna ve uygulanan pH'a bakılmaksızın $^{110\text{m}}\text{Ag}$ 'nin yaklaşık %75'lik kısmının 33 günlük atılım süresinde midye dokularından uzaklaştırıldığı görülmektedir. Tüm şartlarda $^{110\text{m}}\text{Ag}$ ve ^{109}Cd atılımının çift komponentli eksponansiyel atılım modeline göre gerçekleştiği görülmektedir. Midyelerde $^{110\text{m}}\text{Ag}$ atılımının yaklaşık %40'lık kısmı birinci atılım periyodu olan kısa atılım periyodunda geri kalan %60'lık kısmının ise ikinci atılım periyodu olan uzun atılım periyodunda atıldığı görülmektedir. Büyük midyelerde kısa atılıma ait biyolojik yarı-ömür ($T_{\text{bs}1/2}$) süresi küçük midyelerdekine göre kısmen daha uzundur. Büyük midyelerde uzun atılıma ait biyolojik yarı-

ömür ($T_{bl1/2}$) süresi küçük midyelerdekine göre nispeten daha belirgin şekilde daha uzundur. Hem küçük hem büyük midyelerde ^{110m}Ag atılım parametreleri (A_{0s} , A_{0l} , k_{es} ve k_{el}) uygulanan pH'lar arasında farklılık göstermemiştir (Kruskal Wallis; $p > 0,05$).

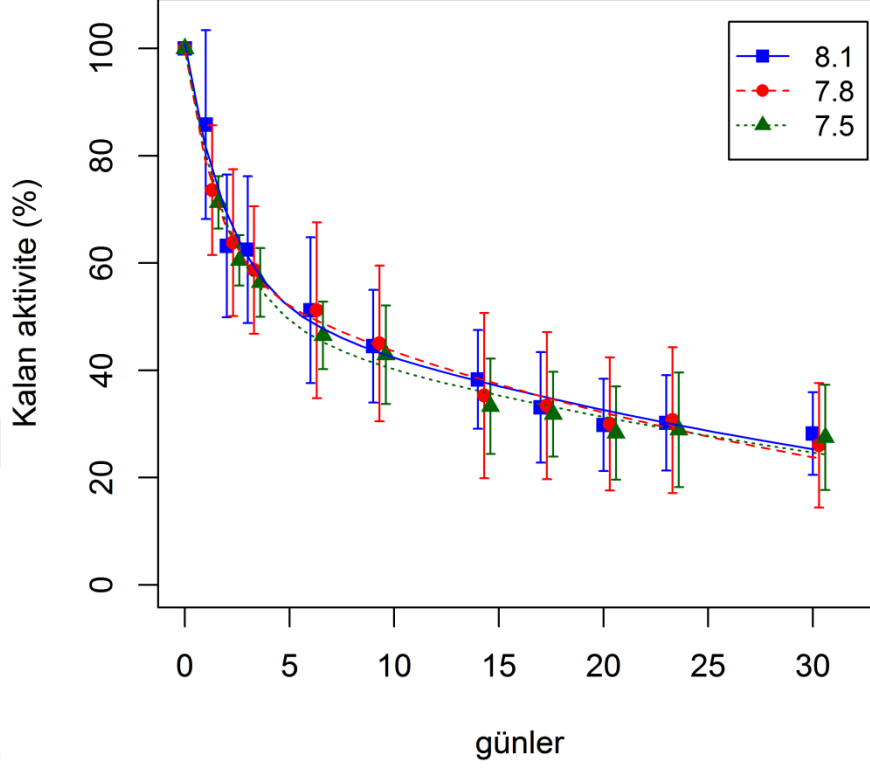
Tablo 4.14: Midyede ^{110m}Ag ve ^{109}Cd atılım biyokinetiğine ait model parametreleri

Metal	Büyüklik	pH	$A_{0s} \pm \text{SE} (\%)$	k_{es}	$T_{bs\frac{1}{2}} \pm \text{SE} (d)$	$A_{0l} \pm \text{SE} (\%)$	k_{el}	$T_{bl\frac{1}{2}} \pm \text{SE} (d)$	R^2
Ag-110m	Büyük	8,1	$46,6 \pm 7,6$	$0,49 \pm 0,15^*$	$1,4 \pm 0,4$	$54,3 \pm 7,2$	$0,026 \pm 0,007^*$	$27,2 \pm 8,0$	0,82
		7,8	$39,8 \pm 7,3$	$0,86 \pm 0,34^*$	$0,8 \pm 0,3$	$59,9 \pm 6,0$	$0,032 \pm 0,007^{***}$	$21,9 \pm 4,6$	0,76
		7,5	$45,6 \pm 4,4$	$0,79 \pm 0,16^{***}$	$0,9 \pm 0,2$	$53,9 \pm 3,7$	$0,028 \pm 0,004^{***}$	$24,9 \pm 3,9$	0,90
	Küçük	8,1	$31,6 \pm 4,0$	$0,69 \pm 0,17^{***}$	$1,0 \pm 0,2$	$68,2 \pm 3,6$	$0,040 \pm 0,004^{***}$	$17,1 \pm 1,5$	0,95
		7,8	$44,0 \pm 6,3$	$0,95 \pm 0,30^*$	$0,7 \pm 0,2$	$56,2 \pm 5,2$	$0,037 \pm 0,006^{***}$	$18,8 \pm 3,3$	0,83
		7,5	$38,4 \pm 4,9$	$0,88 \pm 0,24^{**}$	$0,8 \pm 0,2$	$61,1 \pm 4,1$	$0,038 \pm 0,005^{***}$	$18,2 \pm 2,3$	0,89
Cd-109	Büyük	8,1	$3,8 \pm 4,7$	$3,83 \pm 1,02$	$0,2 \pm 0,04$	$96,6 \pm 4,2$	$0,003 \pm 0,002^*$	$230,4 \pm 166,0$	0,18
		7,8	$10,3 \pm 5,5$	$0,56 \pm 0,63$	$1,2 \pm 1,4$	$90,4 \pm 4,5$	$0,004 \pm 0,003^*$	$156,7 \pm 93,3$	0,28
		7,5	$4,4 \pm 4,2$	$2,4 \pm 10,9$	$0,3 \pm 1,7$	$95,7 \pm 2,4$	$0,009 \pm 0,002^{***}$	$74,9 \pm 13,0$	0,46
	Küçük	8,1	$4,1 \pm 4,0$	$1,38 \pm 3,82$	$0,5 \pm 1,4$	$96,0 \pm 2,6$	$0,007 \pm 0,001^{***}$	$97,7 \pm 22,0$	0,39
		7,8	$4,2 \pm 4,2$	$1,64 \pm 5,10$	$0,4 \pm 1,3$	$95,8 \pm 2,6$	$0,005 \pm 0,002^{**}$	$131,2 \pm 40,0$	0,26
		7,5	$20,6 \pm 4,8$	$1,68 \pm 1,23$	$0,4 \pm 0,3$	$79,4 \pm 2,9$	$0,004 \pm 0,02^*$	$160,5 \pm 80,3$	0,38

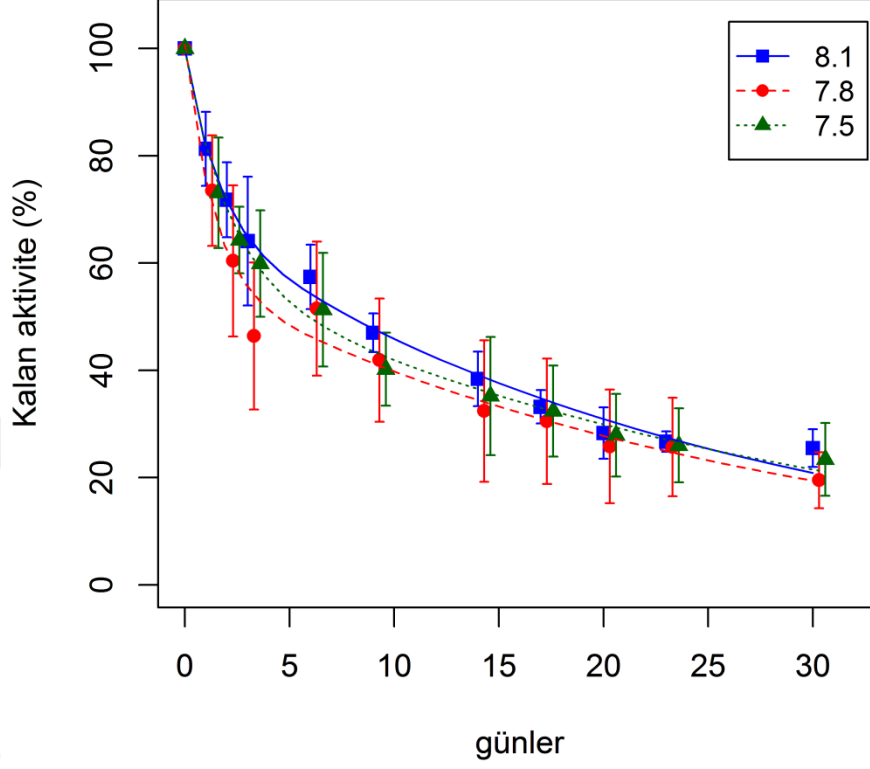
p value: <0,0001 (***), <0,001 (**), <0,01 (*), <0,5 (°)

A_{0s} ve A_{0l} : Sırasıyla kısa ve uzun ekspanansiyel atılım aktivite (%) ; k_{es} ve k_{el} : Sırasıyla kısa ve uzun ekspanansiyel atılıma ait atılım oranı sabitleri, $T_{bs\frac{1}{2}}$ ve $T_{bl\frac{1}{2}}$: Sırasıyla kısa ve uzun atılıma biyolojik yarı-ömürleri, R^2 : belirsizlik katsayısı

Ag-110m (Büyük midye)

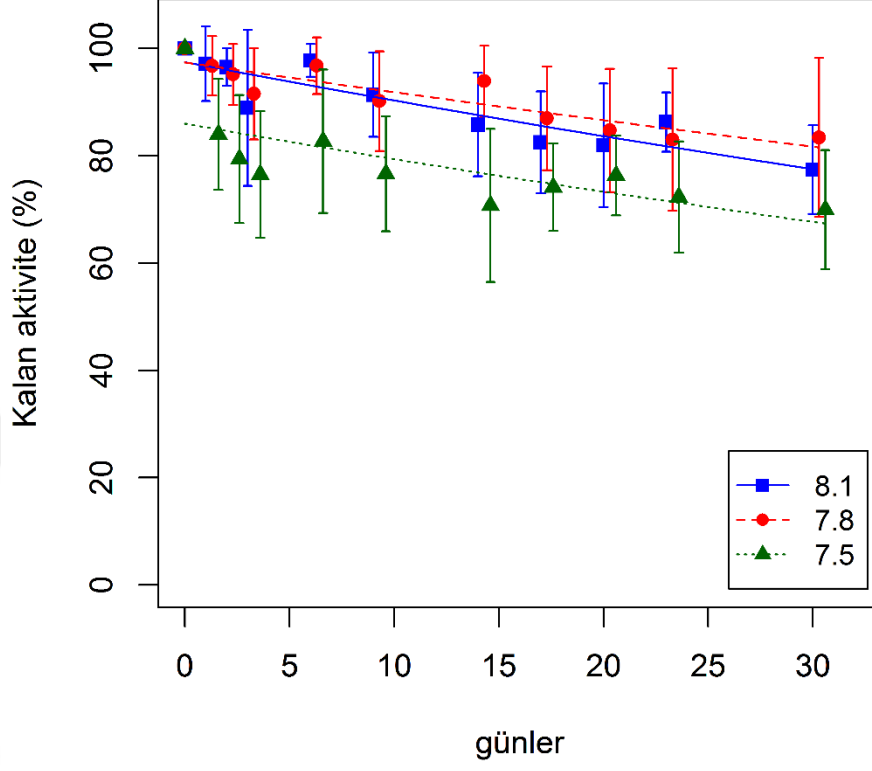


Ag-110m (Küçük midye)

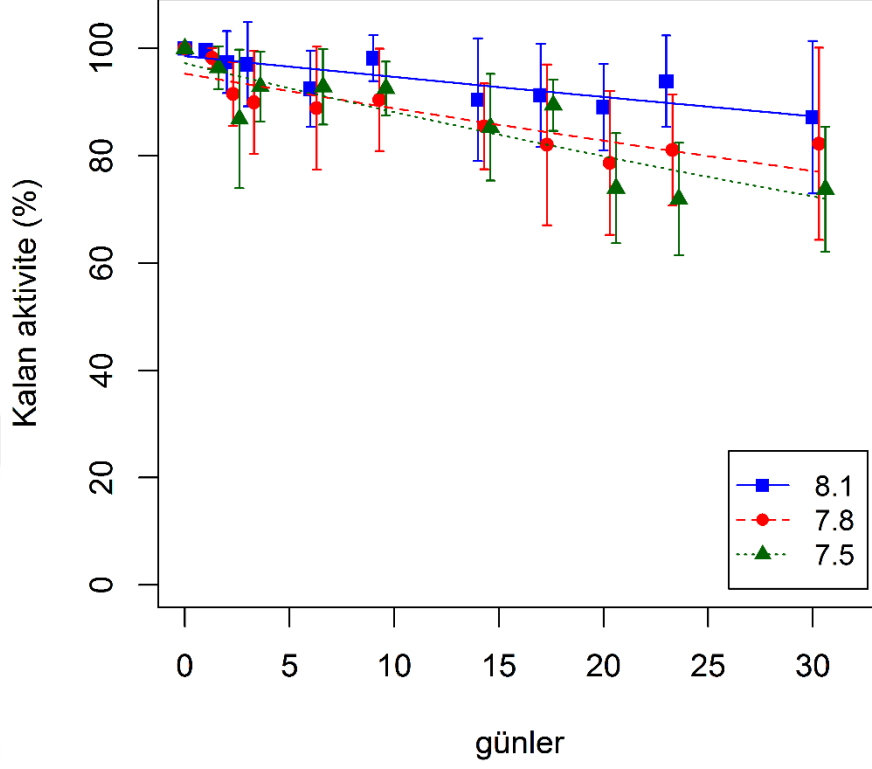


Şekil 4.22: Üç farklı deniz suyu pH seviyesinde küçük ve büyük midyelerde ^{110m}Ag atılım biyokinetiği

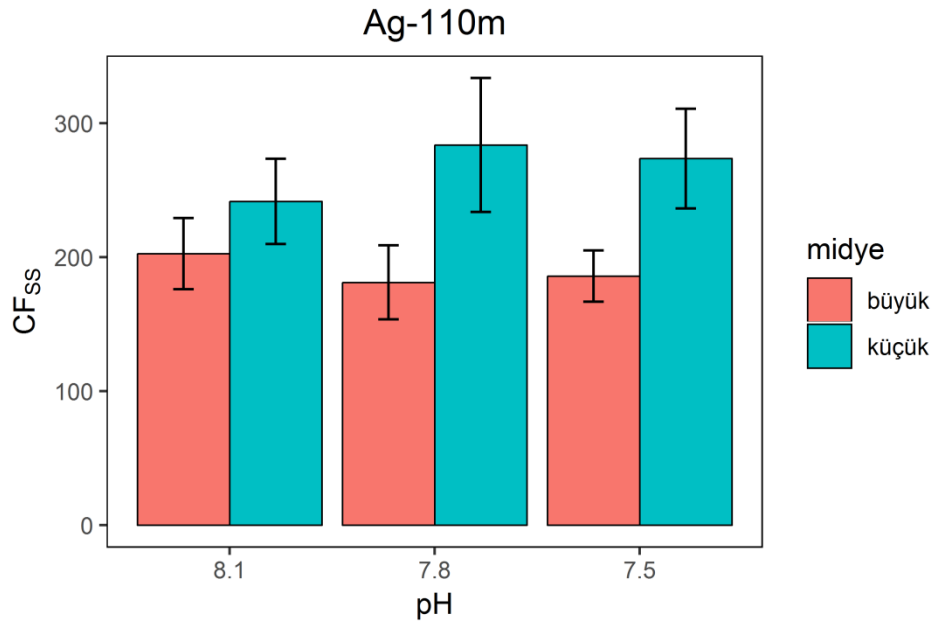
Cd-109 (Küçük midye)

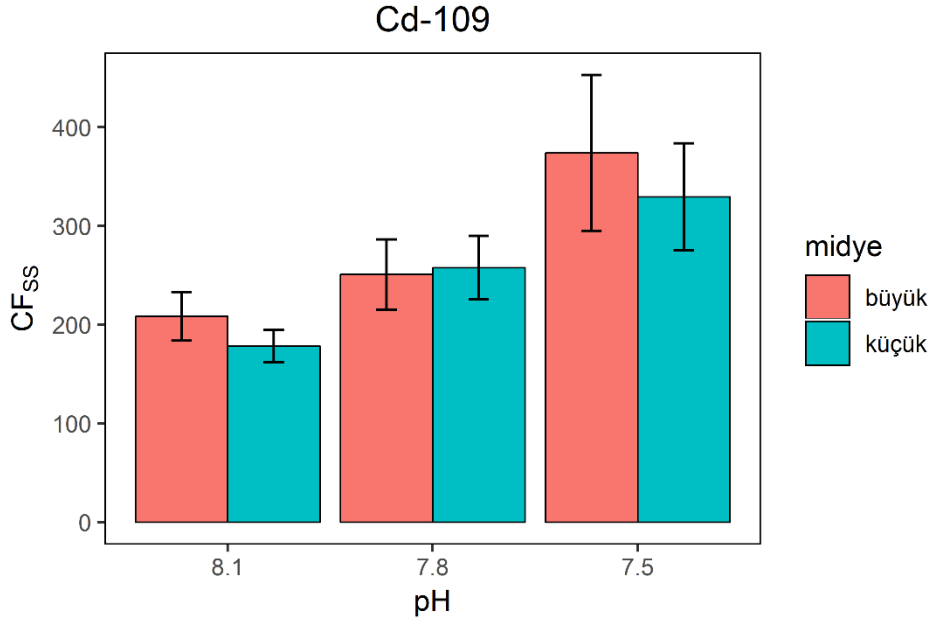


Cd-109 (Büyük midye)



Şekil 4.23: Üç farklı deniz suyu pH seviyesinde küçük ve büyük midyelerde ^{109}Cd atılım biyokinetiği





Şekil 4.24: Erişkin ve yavru midyelerde alım deneyinde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd denge durumu konsantrasyon faktörü değerlerinin karşılaştırılması.

4.7.3. Doku Dağılımı

Alım ve atılım deneyleri sonunda disekte edilen büyük ve küçük midyelerde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd doku dağılımı yüzde değerleri sırasıyla tablo 4.15 ve tablo 4.16'da verilmiştir. Gümüşün büyük kısmının kabukta biriktiği görülmektedir. Bunun nedeni kabuğun toplam midye ağırlığındaki büyük payıdır. Büyük midyelerde alım periyodu sonunda birim ağırlıktaki ^{110m}Ag birikimi karşılaştırıldığında ise; sindirim bezi > kabuk = solungaç = diğer yumuşak dokular > manto > yaklaşıtrıcı kas sıralaması elde edilmektedir. Atılım sonunda ise bu sıralama kabuk > sindirim bezi > manto > diğer yumuşak dokular > solungaç > yaklaşıtrıcı kas şeklinde olmaktadır. Küçük midyelerde yumuşak doku çok küçük olduğu için doku bazında disekte edilmesi mümkün olmamış, bunun yerine kabuk ve yumuşak doku olarak disekte edilmiştir. Büyük midyelerde olduğu gibi küçük midyelerde de gümüşün büyük kısmı kabukta birikmiştir. Birim ağırlıktaki ^{110m}Ag karşılaştırıldığında ise yumuşak dokuda birikimin daha iyi olduğu görülmektedir.

Tablo 4.15: Büyük midyelerde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd doku dağılımı (%)

Deney	Metal	pH	kabuk	sindirim bezi	yaklaşdırıcı kas	manto	solungaç	diğer yumuşak dokular	
Alım	^{110m}Ag	8,1	73,4 ± 6,7	7,0 ± 3,9	1,2 ± 0,3	6,8 ± 1,4	5,7 ± 4,3	5,9 ± 1,8	
		7,8	74,4 ± 4,2	6,4 ± 1,1	1,3 ± 1,0	9,3 ± 5,1	3,0 ± 1,9	5,6 ± 1,1	
		7,5	70,2 ± 2,8	7,0 ± 2,9	1,0 ± 0,5	9,4 ± 2,4	7,0 ± 5,2	5,4 ± 1,6	
	^{109}Cd	8,1	11,5 ± 3,3	31,7 ± 3,4	4,3 ± 0,9	13,3 ± 10,0	10,0 ± 2,9	29,1 ± 3,6	
		7,8	8,3 ± 0,2	20,0 ± 0,5	6,0 ± 6,6	26,4 ± 9,8	20,5 ± 8,2	18,7 ± 7,2	
		7,5	6,6 ± 1,9	29,7 ± 8,5	3,2 ± 0,5	16,2 ± 2,1	19,3 ± 5,7	24,9 ± 3,2	
	Atılım	^{110m}Ag	8,1	95,5 ± 3,3	0,7 ± 0,6	0,1 ± 0,0	2,1 ± 3,0	0,9 ± 1,0	0,8 ± 0,4
			7,8	86,1 ± 14,7	2,2 ± 1,3	0,1 ± 0,1	6,0 ± 9,4	1,5 ± 1,6	4,1 ± 3,2
			7,5	94,0 ± 5,1	0,9 ± 0,9	0,1 ± 0,0	3,7 ± 5,3	0,5 ± 0,2	0,8 ± 0,8
^{109}Cd		8,1	5,8 ± 1,2	23,6 ± 5,5	3,2 ± 1,7	21,5 ± 8,4	18,2 ± 11,4	27,8 ± 6,1	
		7,8	7,5 ± 1,1	21,5 ± 7,2	2,8 ± 1,0	16,7 ± 7,6	15,5 ± 9,2	36,0 ± 10,3	
		7,5	8,2 ± 3,9	22,5 ± 3,6	2,7 ± 0,5	23,9 ± 3,7	20,8 ± 9,7	21,9 ± 7,4	

Tablo 4.16: Küçük midyelerde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd doku dağılımı (%)

Deney	Metal	pH	Kabuk	Yumuşak dokular		
Alım	^{110m}Ag	8,1	49,6 ± 0,9	50,4 ± 0,9		
		7,8	69,8 ± 22,1	30,2 ± 22,1		
		7,5	77,0 ± 9,1	23,0 ± 9,1		
	^{109}Cd	8,1	8,5 ± 1,6	91,5 ± 1,6		
		7,8	7,2 ± 2,2	92,8 ± 2,2		
		7,5	13,2 ± 3,7	86,8 ± 3,7		
		Atılım	^{110m}Ag	8,1	84,6 ± 3,6	15,4 ± 3,6
				7,8	84,7 ± 8,9	15,3 ± 8,9
				7,5	81,4 ± 9,5	18,6 ± 9,5
^{109}Cd	8,1	8,1 ± 2,7	91,9 ± 2,7			
	7,8	8,4 ± 1,5	91,6 ± 1,5			
	7,5	10,9 ± 3,3	89,1 ± 3,3			

4.7.4. Okyanus Asitlenmesinin Akdeniz Midyesinde (*Mytilus galloprovincialis*) Filtrasyon Oranı, Hücre ve DNA Bazında Toksikolojik Etkileri

4.7.4.1. Filtrasyon Oranı

Akvaryumlara 5×10^4 hücre/ml içeren besin solüsyonu verilmiş, 1 saat beslenmenin ardından akvaryumlarda kalan fitoplankton miktarı saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar tablo 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.17: Akvaryumlara verilen fitoplankton miktarı ve 1 saat sonrasında kalan hücre sayısı

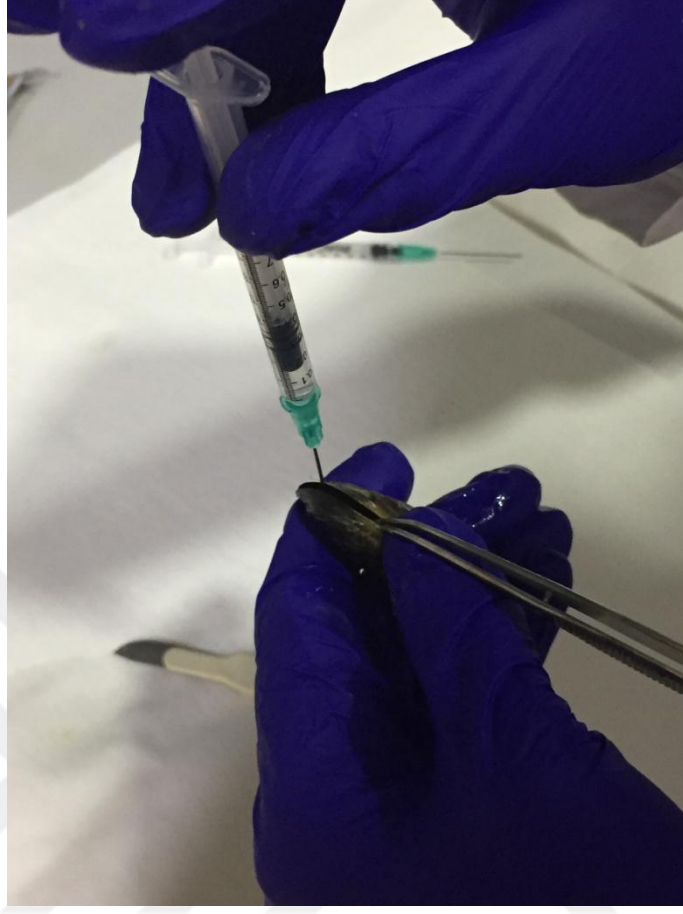
	t=0			t=60		
	8,1	7,8	7,5	8,1	7,8	7,5
	5,01 ± 0,70	4,99 ± 0,98	5,01 ± 1,21	0,35 ± 0,59	0,71 ± 0,64	1,04 ± 0,73
	5,00 ± 0,76	4,99 ± 0,92	5,02 ± 0,75	0,39 ± 0,63	0,73 ± 0,67	1,06 ± 0,75
	5,02 ± 0,69	5,04 ± 0,87	5,02 ± 0,77	0,36 ± 0,61	0,74 ± 0,66	1,03 ± 0,74
Ortalama	5,01 ± 0,01	5,01 ± 0,02	5,02 ± 0,01	0,37 ± 0,02	0,73 ± 0,02	1,04 ± 0,01

t=0: akvaryumlara verilen, t=60 1 saat sonra akvaryumlarda sayılan fitoplankton hücre sayısı (hücre/ml).

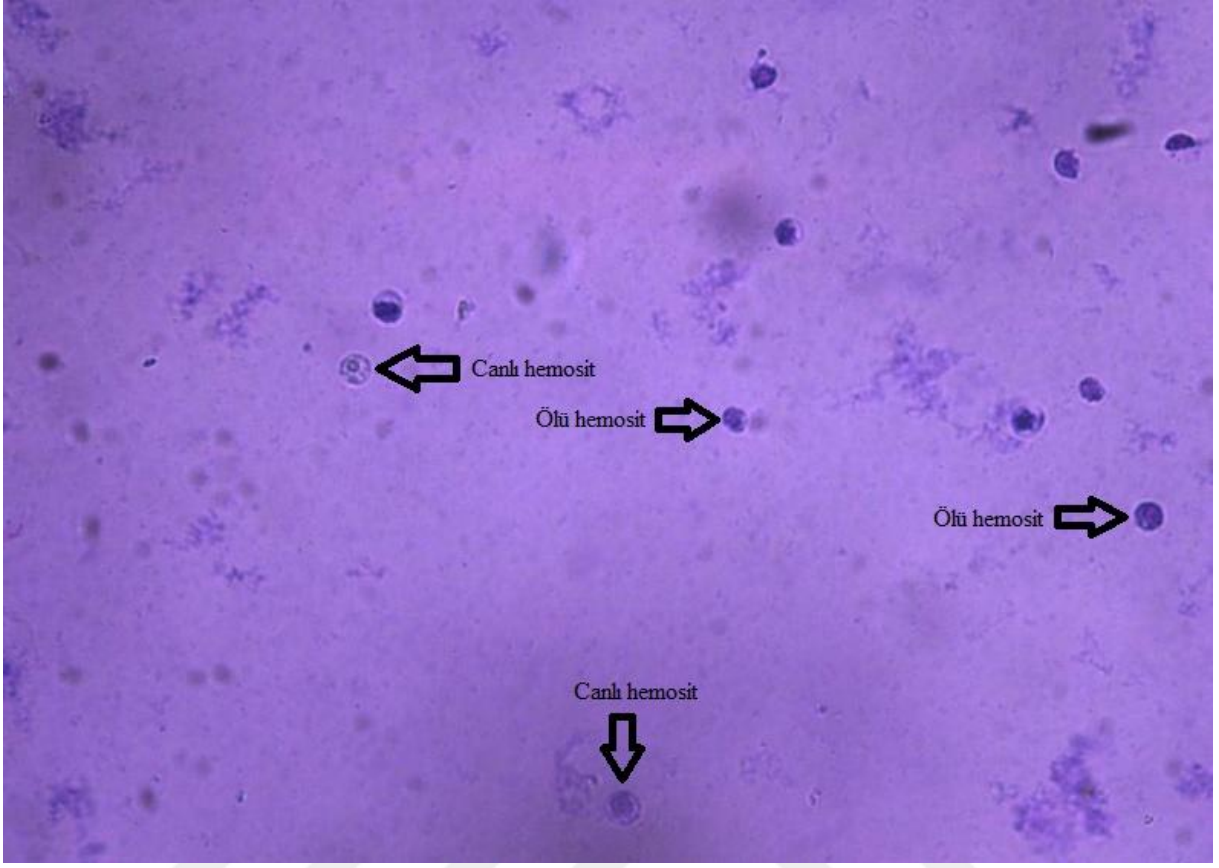
4.7.4.2. İmmünomodulasyon Testleri

Hemosit Yaşayabilirliği

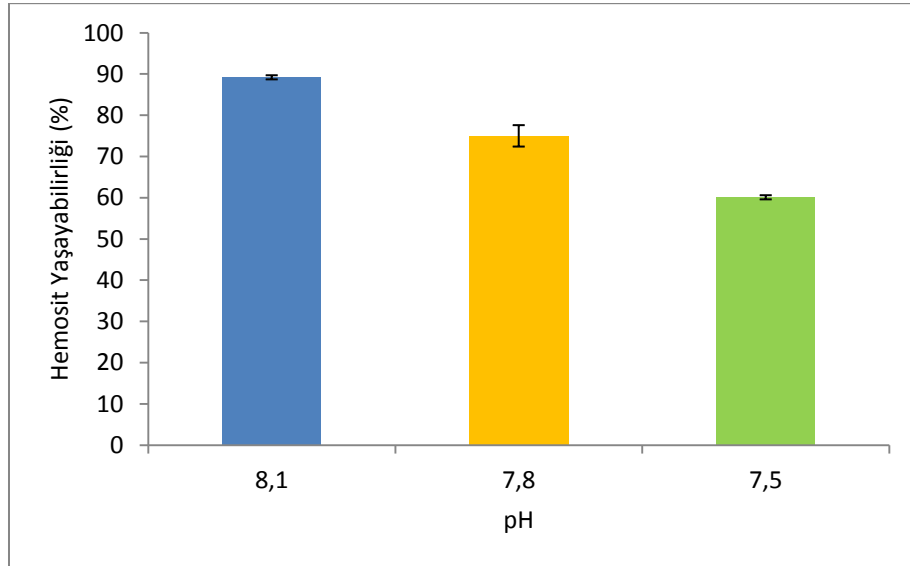
Üç farklı pH'a 87 gün maruz bırakılan midyelerin yakınlaştırıcı kasından elde edilen hemolenf sıvılarında hemosit hücrelerinin canlılık oranı tespit edilmiştir. Midye yakınlaştırıcı kasından hemosit alımı şekil 4.25'te gösterilmiştir. Canlı ve ölü hemositlerin sayımı ışık mikroskobu ve Thoma lamı kullanılarak yapılmıştır. Hemosit hücrelerin mikroskop altındaki görüntüsü şekil 4.26'da verilmiştir. Yüzde olarak canlı hemosit sayısı 8,1, 7,8 ve 7,5 pH değerlerinde sırasıyla % 89,2, 75,0 ve 60,1 olarak bulunmuş ve şekil 4.27'de verilmiştir. Farklı pH gruplarına ait canlılarda hemosit hücre yaşayabilirliğinde 8,1 ve 7,5 pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu (Dunn testi, Bonferroni düzeltmesi $p<0,05$) en yüksek canlılığın kontrol grubunda olduğu ve pH azaldıkça canlılığın azaldığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.25: Midye yakınlaştırıcı kasından hemolenf alınması



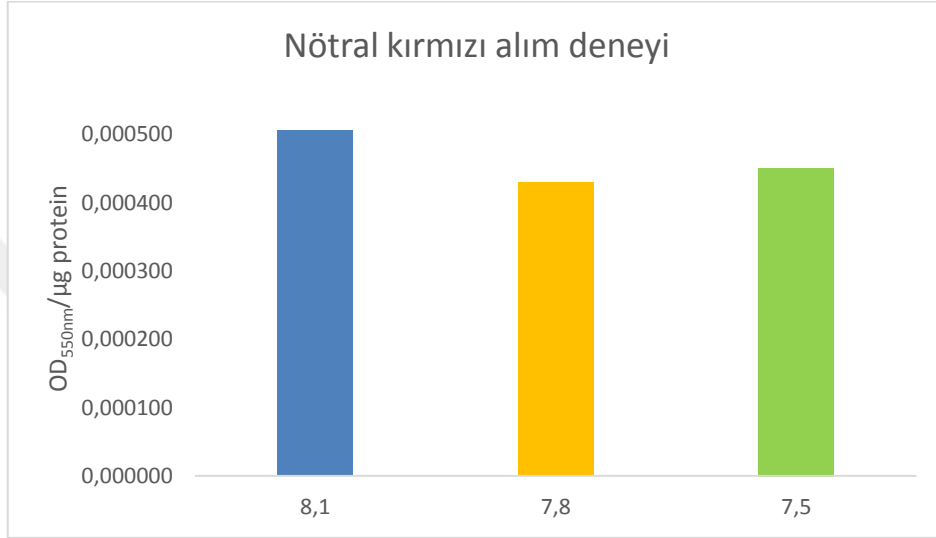
Şekil 4.26: Mikroskop altında hemolenf hücrelerinin görüntüsü.



Şekil 4.27: Farklı pH değerlerinde canlı hemosit sayısı (%)

Lizozomal Membran Stabilizasyonu

Farklı pH gruplarına ait erişkin midyelerin yakınlaştırıcı kasından alınmış olan hemolenf sıvılarındaki μg protein başına düşen optik yoğunluk değerleri şekil 4.26'da verilmiştir. Farklı pH değerleri arasında elde edilen sonuçların yakın değerler olduğu görülmektedir (8,1: 0,000506, 7,8: 0,000430 ve 7,5: 0,000451 μg protein OD^{-1}).



Şekil 4.28: Farklı pH gruplarında erişkin midyelerin yakınlaştırıcı kasından alınmış olan hemolenf sıvılarındaki μg protein başına düşen optik yoğunluk

4.7.4.3. Dolaşımdaki Hücre Dışı Nükleik Asitler

Her akvaryumdan 4'er adet midyenin posterior yakınlaştırıcı kasından hemolenf sıvısı alınmış ve dolaşımdaki toplam protein, DNA, RNA ve miRNA değerleri karşılaştırılmıştır. pH değeri ile dolaşımdaki hücre dışı nükleik asit konsantrasyonları arasında anlamlı fark gözlenememiştir (Kruskal-Wallis test, $p>0,05$).

Tablo 4.18: Okyanus asitlenmesinin deniz canlılarında etkileri

Deney no	Çalışılan tür	Radyonüklid	Deneyin içeriği	Etki
Deney 1.1	<i>Ruditapes philippinarum</i>	^{210}Po	<ul style="list-style-type: none"> Atılım 	→
Deney 1.2	<i>Ostrea edulis</i>	^{134}Cs	<ul style="list-style-type: none"> Biyokinetik: Alım ve atılım Doku dağılımı Hücre içi dağılım 	→
		^{57}Co		→
		^{109}Cd		→
Deney 1.3	<i>Palaemon adspersus</i>	$^{110\text{m}}\text{Ag}$	<ul style="list-style-type: none"> Biyokinetik: Alım 	↑
			<ul style="list-style-type: none"> Biyokinetik: Atılım 	→
			<ul style="list-style-type: none"> Doku dağılımı 	→
Deney 1.4		$^{110\text{m}}\text{Ag}$	K_d	↑
		^{109}Cd		→
		^{134}Cs		→
Deney 1.5	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	$^{110\text{m}}\text{Ag}$	<ul style="list-style-type: none"> Konsantrasyon Faktörü 	↓
		^{109}Cd		→
		^{134}Cs		↑
Deney 1.5	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	$^{110\text{m}}\text{Ag}$	<ul style="list-style-type: none"> Aktivite Konsantrasyonu 	↓
		^{109}Cd		→
		^{134}Cs		→
Deney 1.6	<i>Ruditapes</i>	$^{110\text{m}}\text{Ag}$	<ul style="list-style-type: none"> Transfer Faktörü 	→

	<i>philippinarum</i>	^{109}Cd		→
		^{134}Cs		↓
Deney 1.6	<i>Ruditapes philippinarum</i>	$^{110\text{m}}\text{Ag}$	<ul style="list-style-type: none"> • Konsantrasyon Faktörü 	→
		^{109}Cd		↑
		^{134}Cs		↑
Deney 1.6	<i>Ruditapes philippinarum</i>	$^{110\text{m}}\text{Ag}$	<ul style="list-style-type: none"> • Aktivite Konsantrasyonu 	→
		^{109}Cd		↑
		^{134}Cs		→
Deney 1.7	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	$^{110\text{m}}\text{Ag}$	<ul style="list-style-type: none"> • Biyokinetik: Alım ve atılım 	→
			<ul style="list-style-type: none"> • Doku dağılımı 	→
		^{109}Cd	<ul style="list-style-type: none"> • Biyokinetik: Alım ve atılım 	↑
			<ul style="list-style-type: none"> • Doku dağılımı 	→
			<ul style="list-style-type: none"> • Filtrasyon miktarı belirleme 	↓
			<ul style="list-style-type: none"> • Hücre ve DNA bazında toksisite testleri 	→

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Elementlerin deniz suyunda biyokullanılabilirlikleri birbirinden farklı olan çeşitli formları bulunmaktadır. pH bu formların konsantrasyonlarını etkilemektedir. Örneğin Cu elementinin deniz suyunda bulunan formları Cu^{2+} , CuOH, $CuCO_3$, $CuCO_3^{2+}$ ve $CuSO_4$ 'dir. Günümüz deniz suyu pH'sında Cu^{2+} 'nın payı % 7,6 iken pH:7,4'de % 31,7 olması beklenmektedir (Millero ve diğ., 2009). Cu^{2+} bakırın canlılar tarafından en kolay alınmabilen (bioavailable) formu olduğundan OA'nın deniz organizmalarında Cu birikimini arttırabileceği söylenebilir. Bazı metallerin özellikleri ve biyokullanılabilirliği (bioavailability) hidroksil ve karbonat bileşikleri ile güçlü bileşikler oluşturabilen metallerde (Choppin ve diğ., 2008), her iki bileşik yapısının da deniz suyu pH'nın düşmesi ile azalması beklenmektedir (Feely ve diğ., 2004). Genel olarak elementlerin en bioavailable formları olan serbest katyon formları (Co^{2+} , Cs^+ , Mn^{2+}) veya oksitlenmiş durumda (SeO_4^{2-}) bulunan formları ve klorür formları, pH'nın azalmasından çok az etkilenecektir (Byrne, 2002). Dahası, okyanus asitlenmesi ile H^+ konsantrasyonunda meydana gelen artış, biyolojik yüzeydeki bağlanma yerleri için protonlar ve katyonik metaller arasında bir rekabete yol açabilir (Millero ve diğ., 2009).

İkincil olarak pCO_2 artışı veya pH azalmasının deniz suyunda elementlerin kimyasal formlarının bolluğunu etkilemesi değil de canlıda direkt olarak neden olduğu değişikliklerden bahsetmek gerekir. Hiperkapnianın neden olduğu asit-baz dengesinin sağlanmasında ve iyon düzenlenmesinde meydana gelen bozukluklar (Pörtner, 2010), metallerin epitel membrandan aktif taşınmasını veya pasif difüzyonunu (Rainbow, 1997) etkileyebilir ve dolayısıyla hayvan dokularında elementlerin (metallerin) biyobirikimini değiştirebilir.

5.1.OKYANUS ASİTLENMESİNİN MANİLA KUM MİDYESİNDE (*RUDITAPES PHILIPPINARUM*) ^{210}PO ATILIMINA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:

Literatürde *Ruditapes philippinarum*'da ya da herhangi bir denizel türde ^{210}Po biyobirikimine pH etkisini araştıran bir çalışma bulunamamıştır.

Carvalho ve Fowler (1994) günümüz pCO_2 şartlarında yapmış oldukları çalışmada, karideste (*Palaemon serratus*) hem su yoluyla çözülmüş hem de besin yoluyla (^{208}Po ile radyoizotoplu

fitoplankton kullanarak) ^{210}Po alımını araştırmışlardır. *Palaemon serratus*'da çözünmüş ^{210}Po alımını incelendiğinde, 22 gün boyunca birikim olayının meydana geldiği, çevresel konsantrasyon değerlerinden yüksek sonuçlar elde edilmesi ile anlaşılmıştır. Po-210'un karideste; su yoluyla birikimin %1-2 civarında olduğu, besin yoluyla birikimin ise %98-99 dolaylarında olduğu gösterilmiştir (Carvalho ve Fowler, 1994). *Lysmata seticaudata*'da hem besin hem su yoluyla verilmiş olan ^{210}Po incelendiğinde, tüm vücutta aktivite konsantrasyonu $168 \text{ Bq g}^{-1}(\text{CF}_{14\text{gün}} 810)$ bulunurken; 20 günlük atılım deneyi sonunda vücutta aktivite konsantrasyonu 10 kat azalarak 16 Bq g^{-1} olarak bulunmuştur (Carvalho ve Fowler, 1993).

Doğal yaşam alanından toplanan deniz salyangozunda (*Littorina littorea* L.) doğal olarak birikmiş olan ^{210}Po atılımı incelenmiş, ^{210}Po 'un eksponansiyel olarak vücuttan atıldığı belirtilmiştir (Swift ve diğ., 1995). Bahsi geçen bu çalışmada bizim bu deneyde kullandığımız metoda benzer şekilde canlılara Po-210 verilmemiş bunun yerine doğal olarak birikmiş olan Po-210'un atılımı incelenmiştir. Adı geçen çalışmada, *Littorina littorea*'da ^{210}Po 'un biyolojik yarı ömrü 119 gün olarak bulunmuştur. Çevresel konsantrasyondaki ^{210}Po 'un besin yoluyla atılımının incelendiği deneylerde, planktonik bir euphausid olan *Meganyctiphanes norvegica*'da ^{210}Po için biyolojik yarı ömür 6 gün bulunurken (Heyraud ve diğ., 1976), Güney Afrika hamsisinde (*Engraulis capensis*) ve Güney Afrika sardalyasında (*Sardinops ocellata*) 3 ve 11 gün olarak bulunmuştur (Cherry ve diğ., 1989).

Yukarıda bahsedilen çalışmalarda atılım deneylerinde ^{210}Po aktivitesinin azaldığı görülmektedir. Bu tez çalışmasında ise *Ruditapes philippinarum*'da ^{210}Po atılımı gerçekleşmemiş aksine ölçülen Po-210 aktiviteleri kısmen artmıştır. Çalışmada, ^{210}Po 'un midyelerden deniz suyuna atıldığı, fakat suyun midyeler tarafından tekrar filtre edilmesi sırasında tekrar ^{210}Po 'a maruz kalmış olabileceği düşünülmektedir. Yapılmış olan atılım deneylerinde, ^{210}Po atılımının tespit edilmesi için canlıların bulunduğu akvaryumların doğrudan akan deniz suyuna alındığı (Swift ve diğ., 1995) ve suyun akış hızının dakikada 6-7 litre (Cherry ve diğ., 1989), gibi yüksek değerlerde olduğu bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında ise akvaryumların suyu ancak iki günde bir değiştirilebilmiştir. Atılım deneyi sırasında, deniz suyunun akvaryum dışına akışının devamlı olarak sağlanamaması nedeniyle, midyelerin dokularında tutunmuş olabileceği tahmin edilmektedir. Ayrıca, her ne kadar besinle Po-210 alımının sudan çözünmüş alıma göre çok düşük düzeyde olduğu bilinmesine karşın kum midyeleri atılım deneyinde alg ile beslendiğinden bu yolla Po-210'a maruz kalmış olabilirler.

Po-210 atılımı olmamasına karşın üç $p\text{CO}_2$ seviyesindeki akvaryumda bulunan midyelerdeki ^{210}Po aktiviteleri arasında önemli bir fark olmaması (Kruskal-Wallis test, $p>0,05$) pH'ın 33 günlük deneyde kum midyesinde Po-210 biyokinetiğinde bir değişikliğe sebep olmadığı şeklinde yorumlanabilir. Deney süresince ^{210}Po hem alımının hem atılımının gerçekleştiği anlaşılmaktadır. Bununla birlikte ileriki çalışmalarda deniz hayvanlarında doğal olarak bulunmayan ^{209}Po radyonüklidi kullanılarak ^{210}Po alım ve atılım kinetiklerinin yüksek $p\text{CO}_2$ şartlarında incelenmesi gerekmektedir.

5.2.OKYANUS ASİTLENMESİNİN İSTİRİDYELERDE (*OSTREA EDULIS*) ^{134}CS , ^{57}CO VE ^{109}CD BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:

5.2.1. Biyokinetik

Bu çalışmada incelenen elementler arasında, Cd deniz suyunda çoğunlukla klorür formunda bulunurken, Cs ve Co serbest iyon formlarında bulunur (Maulvault ve diğ., 2018). Bu inorganik element formları yakın gelecekte öngörülen deniz suyu pH değerlerinde stabil olacaktır. Bununla birlikte, *Ruditapes philippinarum*'da (Sezer ve diğ., 2018a) ve deniz anemonu *Anemonia viridis*'te (Horwitz ve diğ., 2014) deniz suyu asiditesi arttıkça Co birikiminin arttığı gösterilmiştir. Benzer şekilde, asitlenmiş deniz suyu koşulları üç deniz bivalv türü *Mytilus edulis*, *Tegillarca granosa* ve *Meretrix meretrix*'de Cd birikimini (Shi ve diğ., 2016) arttırmıştır. Bu durum okyanus asitlenmesi şartlarında bu elementlerin deniz suyundaki kimyasal çeşitlenmesinin değil, organizma fizyolojisinin biyolojik birikim davranışını belirleyen ana faktör olabileceğini göstermiştir. Öte yandan, laboratuvarında oluşturulmuş okyanus asitlenmesi deneylerinde yüksek $p\text{CO}_2$ şartlarında mürekkep balığı (*Sepia officinalis*) embriyolarında ve kopepodda (*Amphiascoides atopus*) Cd biyokonsantrasyonunda toksisitede azalma rapor edilmiştir (Pascal ve diğ., 2010; Lacoue-Labarthe ve diğ., 2009).

Bu tez çalışmasında istiridyelerde (*Ostrea edulis*) ^{134}Cs , ^{57}Co ve ^{109}Cd alım ve atılım davranışlarının genel olarak yüksek $p\text{CO}_2$ 'den etkilenmediği görülmektedir. Buna karşın yüksek $p\text{CO}_2$ 'nin deney grupları arasında sınırlı değişikliklere sebep olduğu anlaşılmaktadır. Atılım deneyinde kobaltın 39 gün sonundaki aktivitesi, normokapnide orta ve yüksek $p\text{CO}_2$ seviyesine kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Farklı pH gruplarında alım verileri

kontrol grubu (pH 8,1) ile benzer sonuçlar göstermiştir, ancak seçilen tüm veriler için en düşük pH'da (7,5) biraz daha yüksek k_u (istatistiksel olarak anlamlı olmayan) değeri gözlenmiştir. Sezyumun alım hızı sabitleri, en düşük pH koşulunda (7,5) en yüksek değerlere sahip olarak önemli ölçüde değişiklik göstermiştir.

Bu çalışmada istiridyede Co alım deneyinde CF_{ss} değeri 390-430 aralığında bulunmuş, farklı pH değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Aksine, Sezer ve diğ. (2018a) yapmış olduğu çalışmada, yüksek pCO_2 koşullarına maruz kalan manila kum midyesinde (*Ruditapes philippinarum*) yüksek Co biyobirikimi rapor etmişlerdir. İstiridyede Co biyobirikiminin yüksek konsantrasyonda olduğu ve Co biyobirikiminin manila kum midyesinde de yüksek olduğu görülmektedir. İstiridye kabukları çoğunlukla kalsit yapıdayken, *Ruditapes philippinarum* kabukları çoğunlukla aragonit yapıda olmasının Co biyobirikimindeki bu farka neden olmuş olabileceği düşünülmektedir. Kalsit yapıda kabukların aragonit yapıya sahip kabuklardan asitlenmiş deniz suyu koşullarına daha dayanıklı olması bu durumu desteklemektedir. Bu sonuç aragonit tipte $CaCO_3$ kabuğa sahip organizmalarda element biyobirikiminin, kalsit tipte $CaCO_3$ kabuğa sahip organizmalara göre OA'ya daha duyarlı olduğunu göstermektedir.

Asitlenmiş deniz suyunda sezyumun biyoakümülyasyon davranışı, Co ve Cd ile karşılaştırıldığında daha az ele alınmıştır (Lacoue-Labarthe ve diğ., 2012, 2018; Sezer ve diğ., 2018a; Ivanina ve Sokolova, 2015). Bu çalışmada, ^{134}Cs için CF_{ss} değeri en yüksek 1,68 olarak bulunmuş ve farklı pH değerleri arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Benzer şekilde, pCO_2 'nin bivalve türlerinde Cs birikimi üzerine etkisi olmadığı bildirilmiştir (Sezer ve diğ., 2018a; Lacoue-Labarthe ve diğ., 2018).

5.2.2. Kabuk Yapısındaki Değişim

Düşük pH değerine sahip deniz suyuna nispeten dirençli olduğu bilinen *Ostrea edulis*'in kalsitik kabuğu (Gazeau ve diğ., 2007), hafif asitlenmiş deniz suyunda yetiştirilen istiridye kabuklarında net bir ağarma sergilemiştir (Şekil 4.6). Benzer şekilde, Le Moullac ve diğ. (2016) yaptıkları çalışmada 100 gün boyunca yüksek ve şiddetli pCO_2 'ye (sırasıyla 1338 ve 3540 μatm) maruz kalan inci istiridyesi *Pinctada margaritifera*'da kademeli olarak kabuktaki beyazlamanın arttığını göstermiştir. Çalışmamızda okyanus asitlenmesine bağlı kabuk beyazlamanın görülmesi için daha kısa bir süre (10 hafta) yeterli olmuş beyazlama tüm

deney süresi boyunca (18 hafta) devam etmiştir. Ayrıca beyazlama daha düşük $p\text{CO}_2$ seviyesinde (pH 7,8 için 760 μatm , pH 7,5 için 1519 μatm) meydana gelmiştir. Düşük deniz suyu tuzluluğu (%23) ve deniz suyunun düşük alkalitesi istiridye kabuğundaki yüksek $p\text{CO}_2$ 'nin etkisini daha da arttırabileceği düşünülmektedir. Çünkü bu alkalinite ve tuzluluk değerlerinin düşük olması nispeten daha düşük bir $p\text{CO}_2$ artışı ile daha düşük pH değerlerine ulaşılabilmesine sebep olmaktadır. Deniz suyunda düşük tuzluluk ve yüksek $p\text{CO}_2$ 'nin birlikte etkisinin istiridye türlerinde kalsifikasyon azalması ve kabuk oluşumunda bozulmaya yol açtığı bildirilmiştir (Gazeau ve diğ., 2007; Beniash ve diğ., 2010).

Azalmış pH'ın istiridye kabuğunun yapısı üzerindeki etkisini ele alan çalışma sayısı sınırlı olmakla birlikte, asitlenmiş deniz suyunun diğer bir istiridye türü *Ostrea gigas* kabuğunun morfolojisini değiştirebildiği bu nedenle istiridyenin parazit ve avcı türlere daha savunmasız kaldığı gösterilmiştir. Kabuğun dış tarafında meydana gelen beyazlama, kalsiyum karbonat kabuğun üzerindeki organik madde tabakası olan periostrakum'un ortadan kalkmasından (Le Moullac ve diğ., 2016) kaynaklanmaktadır. Kontrol pH'sındaki ıstiridyelerin kabuklarından beyazlaşma görülmemesi periostrakum tabakasının bu ıstiridyelerde korunduğunu göstermektedir. Kontrol pH'sında tutulan istiridye dokularında kobaltın etkin olarak tutulması (Şekil 4.2 ve Tablo 4.3) periostrakum tabakasının Co absorpsiyonunda etkili olması ile açıklanabilir. İstiridye pürüzlü kabuğundaki organik madde tabakası olan periostrakumun ve yüzey alanının azalması, düşürülmüş pH koşullarında (7,8 ve 7,5) kobaltın desorpsiyon yoluyla kabuktan daha etkin bir şekilde uzaklaştırılmasına neden olabilmektedir.

5.2.3. Doku ve Hücre Altı Dağılımı

Cd, Co ve Cs doku dağılımı test edilen pH değerlerinde istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir, ancak tüm yumuşak dokudaki Cd ve Cs konsantrasyonları orta (7,8) ve kontrol (8,1) pH değerlerine kıyasla pH = 7,5'te daha yüksek bulunmuştur (şekil 4.5). Test edilen elementlerin ıstiridyelerin kabuğunda farklı pH değerlerinde farklı biyobirikim göstermemesi, kabuğun potansiyel bağlanma bölgelerinin $p\text{CO}_2$ 'den etkilenmediği şeklinde yorumlanabilir (Belivermiş ve diğ., 2016).

Deniz omurgasızları, alımı yavaşlatma, metabolizmanın uygun olmayan şartlarda yavaşlaması ve hücre içi detoksifikasyon (Penicaud ve diğ., 2017; Yin ve Wang, 2018) ve daha az çapta dış iskelet değiştirme sıklığını değiştirme gibi çok çeşitli adaptasyonlarla, yüksek element

maruziyetinden kendilerini koruyabilirler. Elementlerin hücre içinde çözünmeyen yapılar şeklinde karantinaya alınması bir detoksifikasyon yoludur. Bu şekilde kirleticiler canlı vücudunda yüksek konsantrasyonlarda birikmiş olduğunda ve hücre içinde tutulması durumunda bile toksik etkileri en aza indirilmektedir (Petering ve Fowler, 1986; Ng ve Wang, 2005; Pan ve Wang, 2008). Hücre içinde hücresel atıklar, ısıya dayanıklı proteinler ve metalloprotein benzeri proteinler'de bulunan elementlerin çözünmediği (detoksifiye olduğu veya biyolojik olarak zararlı olmadığı) düşünülürken organeller ve ısıya duyarlı proteinlerde bulunanların toksisiteye neden olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma Cd, Co ve Cs çoğunlukla hücre içinde hücresel atıklar, ısıya dayanıklı proteinler ve metalloprotein benzeri proteinlerde bulunduğundan istiridyeye yumuşak dokularında hücre içinde başarıyla detoksifiye edildiği gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasında Cd, Co ve Cs metallerinin hücre içi dağılımı pH'dan etkilenmemiştir (şekil 4.5). Cd'nin çoğu hücre döküntülerinde (debris) (ardından MRG; Şekil 4.5) dağılım göstermiş, hücre içi dağılım diğer azaltılmış pH grupları ve kontrol pH grubu arasında farklılık göstermemiştir. Hawkins ve Sokolova (2017) *Crassostrea virginica* istiridyeye türünde yaptıkları çalışmada Cd'nin hücre içi dağılımını belirlemiştir. Sonuçlar kıyaslandığında, sonuçlarımızla uyumlu olmadığı ve Cd'nin çoğunlukla metallothioneinlere (% 60-70 oranında) bağlandığı gösterilmiştir. Ayrıca yüksek pCO_2 'de organellerde ve sitozol enzimlerinde Cd içeriğinin arttığını göstermişlerdir. Ancak çalışmamızda, hücre içi metal dağılımı deneyi atılım fazı sonunda ve tüm yumuşak dokuda yapılmış iken, Hawkins ve Sokolova (2017) tarafından yapılan çalışmada alım fazındaki istiridyelerde ve sadece solungaç dokularında yapılmıştır. Nitekim elementlerin hücre içi dağılımlarının alım ve atılımda değişiklikler gösterdiği çeşitli çalışmalarda daha önce de ifade edilmiştir (Wallace ve diğ., 2003; Yin ve Wang, 2018). Bu tez çalışmasında 39 günlük atılım süresi sonunda istiridyeye içindeki kadmiyum miktarı yarı yarıya azalmıştır (Şekil 4.5). Bu çalışmada Cd-109'un alım deneyi süresince metallothioneinlere (MTLP) bağlanmış olabileceği düşünülmektedir. 39 gün süren atılım deneyi bu proteinlerden kadmiyumun serbest kalmasını ve organizmayı tamamen terk etmesini teşvik ettiği için Cd'nin atılım sonunda en yüksek bulunduğu hücre içi kompartımanın hücre debrisine olabileceği düşünülmektedir.

MTLP, bivalvlerde elementlerin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Yin ve Wang, 2018). Bu çalışmada, Cs için hedef hücre içi kompartıman MTLP olmasına rağmen, Cd ve Co

için benzer sonuç gözlenmemiştir. İstiridye tüm vücudundaki Cd ve Co'ya kıyasla Cs'deki çok düşük tutulma miktarı, MTLP'nin istiridye hücrelerinde Cs için uzun süreli birikimin meydana geldiği kısım olduğunu göstermiştir. Sezyumun hücre içi dağılımı (MTLP ve ardından hücresel atıklarda yüksek), Yin ve Wang (2018) tarafından gösterilen istiridye *Crassostrea hongkongensis*'teki Ni elementinin hücre içi dağılımı ile benzerdir. Bu iki çalışmadaki Cs ve Ni'in atılım verileri ve hücre içi dağılımı iki istiridye türü *Ostrea edulis* ve *Crassostrea hongkongensis*'de (Yin ve Wang, 2018) benzerlik göstermektedir.

5.3.OKYANUS ASİTLENMESİNİN KARİDESLERDE (*PALAEON ADSPERSUS*) ^{110M}AG BİYOBİRİKİMİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:

5.3.1. Biyokinetik

Literatür incelendiğinde, okyanus asitlenmesinin karideslerde gümüş veya herhangi bir element biyobirikimi üzerine etkisini inceleyen bir çalışma bulunamamış olmasına rağmen karideslerin artan pCO_2 şartlarında büyümesi ve hayatta kalması araştırılmıştır (Kurihara ve diğ., 2008). Karideslerde kirleticiler üzerine yapılan çalışmalar incelenmiş, genellikle çalışmaların günümüz deniz suyu pH'sına uygun olarak (8,0-8,20) araştırıldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada, sonuçlar genel olarak incelendiğinde karideste ^{110m}Ag biyobirikiminin pH'dan bağımsız olduğu görülmektedir (şekil 4.6 ve tablo 4.7). Ag-110m canlı dokularında yüksek düzeyde birikme eğiliminde olan bir kirleticidir (Adam ve diğ., 2001; Beresford ve diğ., 1998; Bryan ve Langston, 1992). Karideste ^{110m}Ag biyobirikimi doğrusal bir eğri ile ifade edilerek, $CF_{14gün}$ değeri 56-70 aralığında bulunmuştur.

Okyanus asitlenmesine bağlı olarak OH^- ve CO_3^{2-} ile bileşik oluşturan metallerin deniz suyunda buldukları kimyasal formların etkilenmesi beklenmektedir (Millero ve diğ., 2009), Ag çoğunlukla klor ile bileşik oluşturan metaller arasındadır; pH'ın düşmesi ise klor konsantrasyonunu değiştirmemektedir (Millero ve diğ., 2006). Çalışmada incelenmiş olan pH şartlarından Ag biyobirikiminin etkilenmemesi bu verilere uygun görülmektedir. Farklı pH değerleri arasında alım deneyinde olduğu gibi atılım deneyinde de farklılık gözlenmemesi, deniz suyunda Ag elementinin bulunduğu kimyasal formların pCO_2 değişikliklerinden etkilenmemesi ile açıklanmaktadır.

Bu çalışmada, Ag atılımında hem hızlı hem de yavaş atılım fazı için biyolojik yarı ömür değerleri azalan pH ile artış göstermektedir. Yavaş atılım için kontrol grubunda (8,1) 42 gün olan biyolojik yarı ömür değeri 7,8 pH grubunda 56 gün, en düşük pH (7,5) grubunda ise 81 gün olarak bulunmuştur. Azalan pH ile (8,1, 7,8 ve 7,5) Ag biyolojik yarı-ömrünün uzaması (sırasıyla 42, 56 ve 81 gün) okyanus asitlenmesi şartlarında bu karides türünde Ag atılımının daha uzun süreceğini göstermektedir. Bu durum deniz canlıları ve insanlar için gerekli olmayan toksik bir element olan Ag'ye daha fazla maruz kalınmasına neden olabilecektir.

Pasifik mavi karidesinde (*Litopenaeus stylirostris*) Ag için biyolojik yarı ömür 20 gün olarak bulunmuştur (pH: 8,0) (Metian ve diğ., 2010). Bu değer çalışmamızdaki kontrol grubu (8,1) değerinin yaklaşık yarısı kadardır. Bu sonuç da, *Litopenaeus stylirostris*'da Ag atılımının *Palaemon adspersus*'dan daha uzun sürede gerçekleştiğini göstermektedir. pH değeri benzerlik gösterse de, karides türünün farklı olması ve deneyde kullanılmış olan deniz suyunun tuzluluk değerindeki farklılığın iki çalışmanın bulguları arasındaki farkın nedeni olabileceği düşünülmektedir.

5.3.2. Doku Dağılımı

Çalışmamızda, alım ve atılım deneyleri sonunda karideslerde Ag dağılımı doku bazında incelenmiştir. Alım deneyi sonunda, disekte edilen karideslerde, kontrol grubunda (pH:8,1) Ag biyobirikiminin yaklaşık olarak % 91'lik oranda dış iskelet ve iç organlarda olduğu ve % 9 kısmının da kas dokusunda olduğu gözlenirken, daha düşük pH değerlerinde (7,8 ve 7,5) dış iskelet ve iç organlar toplamında biriken Ag ile kas dokusunda biriken Ag birbirine yakın bulunmuştur. Alım deneyi sonrasında dış iskelet ve iç organların olduğu kısımda kontrol grubu pH değerindeki Ag konsantrasyonunun 7,8 pH değerinden anlamlı olarak farklı olduğu tespit edilmiştir.

Radyonüklidlerin (metallerin) genel olarak iç organlarda özellikle sindirim bezinde yüksek konsantrasyonda birikim gösterdiği bilinmektedir (Metian ve diğ., 2010), bu nedenle Ag biyobirikiminin de iç organlar kısmında yüksek bulunması doğaldır. Canlıların genellikle karidesin yumuşak dokusu ile beslenmesi Ag biyomagnifikasyonunun (kirletici konsantrasyonu besin zincirinin üst tabakalarına doğru artması) kontrol pH değerinde daha az olacağı görülmektedir. Nükleer tesislerden atıkların uzaklaştırılması sırasında veya nükleer kazalar sonucunda çevresel ^{110m}Ag konsantrasyonu artış göstermektedir (Van Dam, 1986;

Fukuda ve diğ., 2013). Bunun yanı sıra fotoğraf endüstrisi ve mücevher imalatı sırasında da stabil gümüş (izotopik kirlenme) konsantrasyonu artmaktadır (Vukovic, 2002). Çevresel koşullarda meydana gelen $p\text{CO}_2$ değişikliği aynı zamanda artan kirletici konsantrasyonları nedeniyle kas dokusunda Ag biyokonsantrasyonunun ve trofik besin zincirinde Ag biyomagnifikasyonunun artacağını düşündürmektedir. Atılım deneyi sonunda disekte edilen karideslerde Ag doku dağılımı incelendiğinde, alım deneyinin tersine azalan pH değeri ile birlikte kas dokusunda Ag biyobirikiminin azaldığı (pH: 8,1 (% 32), pH: 7,8 (% 28), pH: 7,5 (% 21) ve dış iskelet ve iç organlar kısmında ise Ag biyobirikimini arttığı gözlenmiştir.

5.3.3. Dış İskelet Değişimi

Krustaselerde, dış iskelet normalde büyümeyi sınırlandırır ve böylece kabuklu hayvanlar eski sert dış iskeleti boylarını büyütmeden önce atmaları gerekir. Dış iskelet değişimi ardından, yeni oluşan dış iskeletin hızlı bir şekilde sertleşmesi kanibalizmden kurtulmanın yoludur (Stein, 1977). Yeni dış iskeleti sertleştirmek için gereken kalsiyumun büyük bir kısmı, gerekli kalsiyumun sadece %10-20'si gastrolitlerde depolandığı için, yiyecek yerine sudan asimile edilir (Lowery, 1988; Taugbol ve diğ., 1996). Bu, muhtemelen sudaki kalsiyum konsantrasyonunun kabukluların büyümesinde ve hayatta kalmasında önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. CaCO_3 kristalleri, eski dış iskeletin dökülmesinden sonra sertleşmesi için yeni dış iskelette biriktirilmelidir. Kabukluların büyümesinde besin yoluyla kalsiyum seviyesinin etkisi ile ilgili araştırmalar yapılmış (Penaflorida, 1999; Cheng ve diğ., 2006), fakat kabuklularda dış iskelet değişimi için sudaki kalsiyum konsantrasyonunun çok daha önemli olduğunu vurgulamıştır (Hammond ve diğ., 2006). Sahil yengeci *Carcinus maenas*'ın solungaçlarındaki $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPaz}$ aktivitesinin kalsiyum konsantrasyonundan etkilendiğini göstermektedir (Winkler, 1986).

Dış iskelet değişimi metal ve radyonüklid birikimini etkileyen metabolik bir olaydır (Topçuoğlu, 2001). Çevresel faktörlere karşı (özellikle sıcaklık ve besin) oldukça hassastır. Sıcaklık ve besin bulma dış iskelet değişim sıklığını ve dış iskelet yapımını etkileyerek canlının büyümesi üzerine baskı kurabilir (Hartnol, 2001). Sıcaklık, besin, büyüme ve dış iskelet değişimi arasındaki ilişkiler tutarlı olsa da, CO_2 kaynaklı pH düşüşüne verilen cevap değişkendir. Azalmış pH'a maruz kalan karides türlerinde dış iskelet değişim sıklığı ele alınan bir türde azalırken (*Penaeus monodon*) diğerinde (*P. occidentalis*) değişiklik göstermemiştir (Wickins, 1984). Çalışmamızda ise azalan pH ile karideslerde dış iskelet değişim sıklığının

arttığı gözlenmiştir. Toplam 87 günlük (alıştırma, alım ve atılım) deney süresinde kontrol pH değerinde (8,1) karideslerde 15 kez, azaltılmış pH değerlerinde (7,8 ve 7,5 sırasıyla) 26 ve 27 kez dış iskelet değişimi gözlenmiştir. Bu sonuç, azaltılmış pH'ın bu karides türünde kabuk değişimini teşvik ettiğini göstermektedir. Başka bir çalışmada kırmızı bataklık kerevitinde (*Procambarus clarkii*) üç farklı pH değerinde (8,8, 7,8 ve 6,8) dış iskelet değişimi incelenmiş ve en yüksek oranda değişimin orta derece azaltılmış ve okyanus asitlenmesi 2100 yılı tahmini pH seviyelerine yakın olan 7,8 pH değerinde olduğu gözlenmiştir (Yue ve diğ., 2009). *Procambarus clarkii*'de bulunan sonuç, bu çalışma ile uygunluk göstermektedir. Chen ve Chen (2003) yapmış oldukları çalışmada 6,8 pH değerine maruz bırakılan karides *Macrobrachium rosenbergii*'nin düşük büyüme oranı ve daha az sıklıkta dış iskelet değişimi gösterdiğini bildirmiştir. Bu veri, bu tez çalışmasının verileriyle uyumsuzdur. Bununla beraber, pH:6,8 değeri deniz suyu için oldukça sıradışı düşük bir pH değeridir. CO₂ kaynaklı okyanus asitlenmesi gelecek tahminlerine göre deniz suyu pH'sının 7,5 değerinin altına düşmesi beklenmemektedir.

Ayrıca düşük pH değerine sahip deniz suyunun kaplan karidesinde (*Penaeus monodon*) büyümede yavaşlamaya neden olduğu (Allan ve Maguire 1992), kerevitlerde iyon düzenlemesini bozduğu (Morgan ve McMahon, 1982), kerevitlerde ve tatlı su karidesinde asit-baz dengesizliğine yol açtığı bildirilmiştir (Chen ve Chen, 2003).

Bu çalışmada kabuklularda CO₂'e maruz kalma nedeniyle büyüme azalmasının olası nedenleri arasında şunlar bulunmaktadır: (1) metabolik depresyon, (2) beslenmede düşüş ve / veya besin asimilasyon etkinliğinin değişmesi ve (3) dış iskelet değişiminin endokrinolojik kontrolünün bozulması. İlk olarak, bu çalışmada kullanılan Baltık karidesinde (*Palaemon adspersus*) yüksek CO₂ ortamında canlının asit-baz düzenlemesini yapmak ve solunum ventilasyonu için ek enerjiye ihtiyacı olduğu düşünülürse, canlının büyümesi gibi süreçler için gerekli olan enerjinin azalmasına neden olabilir. Midye ve sipunculid solucanının hiperkapnik koşullara maruz kalmasının oksijen alımını azalttığı gösterilmiştir (Michaelidis ve diğ., 2005; Pörtner ve diğ., 1998). İkincisi, beslenme davranışı incelendiğinde hem 7,8 pH değerinde hem de 7,5 pH değerinde anlamlı bir şekilde etkilenmediği gözlenmiştir. Fakat karideslerde sindirim, bağırsaktan besin emiliminin ve besin asimilasyonunun bir kısmının veya tümünün baskılanması mümkün olabilir (Kurihara ve diğ., 2008). Bamber (1990) yaptıkları çalışmada deniz bivalvleri *C. gigas* ve *M. edulis*'de beslenme aktivitesi ve çevre deniz suyu pH değeri

arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu ve 7,2 pH değerinde beslenme aktivitesinde önemli bir azalma meydana geldiğini bildirmiştir.

Üçüncüsü, 7,8 ve 7,5 pH değerlerinde 87 günlük CO₂ maruziyetinin ardından kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek dış iskelet değiştirme frekansı olması, endokrinolojik bozulmanın bir sonucu olabilir (Kurihara ve diğ., 2008). Dış iskelet değişimi ve ek uzantıların onarımını kabuklularda belirli sıklıklarda meydana geldiği bilinmektedir (Madhavan ve Madhavan, 1981). Antenin kaybedilmesi karasal izopod *Armadilium vulgare*'de dış iskelet değişimini etkilemiş olsa da, bu yapıların kaybedilmesinin dış iskelet değişimini etkilemediği bildirilmiştir (Madhavan ve Madhavan, 1981). *Palaemon adspersus*'da 7,8 ve 7,5 pH değerlerinde dış iskelet değişiminin ardından canlılarda gözlenen ekstremite kısılması veya yok olması (deney süresinde 3 defa dış iskelet değiştiren 7,8 pH değerindeki akvaryumunda bulunan karideslerden birinde son kabuk değişiminin ardından 1. ekstremitede kısılma gözlenmiştir), muhtemelen hayvanların daha yüksek dış iskelet değişimi sıklığı üzerinde bir miktar etkiye sahiptir (Kurihara ve diğ., 2008).

İkinci anten, dokusal bilgilerin bulunduğu ve dekapod kabuklularda çevrenin görüntüsünün oluşturulmasında önemli rol oynayan bir yapıdır ve bu nedenle kısmi kaybı, canlının normal davranış hareketlerini etkilenmektedir (Harrison ve diğ., 2001; Koch ve diğ., 2006). Düşük pH değerlerinde eksteremite kısılması veya yok olması, düşük kalsifikasyon oranının ve / veya CO₂ maruziyeti sırasında CaCO₃ kabuğa sahip organizmalarda olduğu gibi dış iskelet çözünmesinin artmasından veya dış iskeletin uygun şekilde oluşmamasından dolayı olabilir (Riebesell ve diğ., 2000; Orr ve diğ., 2005; Kleypas ve diğ., 2006; Gazeau ve diğ., 2007) ve karides davranışı üzerine etki edebilir (Kurihara ve diğ., 2008).

Palaemon adspersus'da alım deneyi sırasında kabuk değiştiren karideslerde Ag aktivite konsantrasyonu artış göstermiş, dış iskelet değişiminin meydana geldiği günlerde aktivitede normalin üzerinde artış olduğu gözlenmiştir. Kabuk değiştirmiş olan karideslerde Ag alım hızının kabuk değiştirmemiş halindeki alım hızı kıyaslandığında anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Aynı durum tatlı su karidesinde (*Macrobrachium australiense*)'de hem ¹⁰⁹Cd hem de ⁶⁵Zn için gözlenmiştir (Cresswell ve diğ., 2014). Bunun nedeni, karideslerin dış iskeletinin, kabuk değişiminden ancak 2-3 gün içinde kabuktaki kalsiyum pompasının tekrar eski çalışma düzenine dönmesi veya dış kabuğun geçirgenliğinin kabuk

değişiminden sonra giderek azalması olabilir (Cresswell ve diğ., 2014). Kabuk değişiminden hemen sonra değil, birkaç gün sonra kabuk kirleticilere karşı koruyucu özellik kazanmaktadır.

5.4.OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN SUYA ^{110M}AG, ¹⁰⁹CD VE ¹³⁴CS RADYONÜKLİDLERİNİN GEÇİŞ FAKTÖRÜNÜN (K_D, DISTRIBUTION COEFFICIENT, DAĞILIM KATSAYISI) HESAPLANMASI:

Sedimnet partiküllerine tutunmuş olan metalin biyokullanılabilirliğinin (veya özümsebilirliğinin) sediment parçacıkları üzerinde farklı tipte bağlanma bölgelerinin varlığı nedeniyle tahmin edilmesi zordur (Luoma, 1989). Arazi ve laboratuvar çalışmaları, sedimentlerdeki farklı metal formlarının ve biyoyararlanımının bentik omurgasızlara etkisini belirlenmiştir (Luoma ve Bryan, 1982; Tessier ve Campbell, 1987; Harvey ve Luoma, 1985; Campbell ve diğ., 1988; Decho ve Luoma, 1994). Fakat bu çalışmalarda, gelecek için öngörülen deniz suyu pH seviyeleri göz önüne alınarak değerlendirme yapılmamıştır. Sedimentte bulunan Ag, Cd ve Co gibi metallerin denizel canlılar tarafından alınabilirliğinin (bioavailability), sedimentin ve deniz suyunun kimyasal özellikleri ile bağlantılı olabileceği tahmin edilmektedir (Luoma ve Bryan, 1982).

Sediment kolonu üzerinde yer alan deniz suyu pH değeri aynı zamanda sediment partikülleri arasında yer alan gözenek suyu pH değeri burada bulunan elementlerin kimyasal formları üzerinde çok etkili bir parametredir. Genellikle deniz suyu pH değeri arttıkça sedimentteki elementin çözünebilirliğinin ve böylece suya geçen metal miktarının arttığı bilinmektedir (Millero ve diğ., 2009).

Tez çalışmasının bu deneyinde Ag, Cd ve Cs elementlerinin K_d değeri (Sedimentteki metal konsantrasyonu/sudaki metal konsantrasyonu) iki farklı pH değerinde araştırılmıştır. Ag, Cd ve Cs metalleri deniz suyunda genellikle klorür ile bileşik oluşturmaktadır. Deniz suyunda bulunan OH⁻ ve CO₃²⁻ iyonları ile güçlü bileşikler oluşturan metallerin CO₂ salınımına bağlı olarak öngörülen pH şartlarından daha fazla etkileneceği ve bu anyonların yüzey sularında sırasıyla % 82 ve % 77 oranında azalması beklendiği belirtilmiştir (Millero ve diğ., 2006). Bu kapsamda, Ag, Cd ve Cs'un pH değişikliklerinden, OH⁻ ve CO₃²⁻ iyonları ile bileşik oluşturan metaller kadar etkilenmeyeceği açıktır. Fakat azalan pH ile birlikte deniz suyundaki iyon dengesinde bozulma meydana geleceği ve deniz suyundaki bir dizi metal iyonunun özelliklerini değişeceği belirtilmiştir (Byrne, 2002; Millero, 2001a,b). Metallerin bileşik

oluşturmasında meydana gelen değişikliklerin, metallerin termodinamik (Millero, 2001a) ve kinetik (Millero, 2001b) aktivitesini de değiştirmesi beklenmektedir. Meydana gelen bu değişikliklerin canlılarda metallerin biyobirikimini de değiştirmesi muhtemeldir. Düşük pH aynı zamanda metallerin organik maddelere adsorpsiyonunu da etkileyecektir (Millero ve diğ., 2009). Deniz suyunda bulunan çoğu organik parçacık negatif yüklüdür. pH azaldıkça, organik parçaların yüzey bölgeleri metalleri adsorbe etmek için daha az uygun hale gelecektir (Crist ve diğ., 1988; Wilde ve diğ., 2006). Çoğu metalin asitli sularda çözünürlüğü artmaktadır, bu yüzden biyoavailable konsantrasyonlarının da değişmesi beklenmektedir.

Klorür ile güçlü kompleksler oluşturan metallerin, pH'daki küçük değişikliklerden kuvvetli bir şekilde etkilenmeyeceği düşünülmektedir, ancak hidroksit ve karbonat ile güçlü kompleksler oluşturan metaller, deniz suyunun pH'ı azaldıkça spesifikasyonda (kimyasal formu) önemli değişiklikler meydana gelecektir (Millero ve diğ., 2009). Bu tez çalışmasında Ag ve Cd metallerinin K_d değerleri pH değişiminden etkilenmemiştir. Cs için K_d değeri azaltılmış pH değerinde daha yüksek bulunmuştur. Bu okyanus asitlenmesi ile deniz suyu asitliği arttıkça sedimentten suya geçen Cs miktarının azalacağını göstermektedir. Karadeniz gibi yüzey sedimentinde hala yüksek miktarda ^{137}Cs bulunan, ya da Japon denizi gibi Fukuşima nedeniyle ^{137}Cs ile kirlenmiş deniz sedimentlerinde bu sedimentte yaşayan ve sedimentten beslenen oragnizmalar için olumsuz bir durum oluşturacaktır. Diğer yandan sedimentten suya geçen ^{137}Cs miktarının azalması pelajik canlılara ulaşan ^{137}Cs miktarının azalması anlamına gelmektedir. Ag partikül reaktif özellik gösteren bir metal olmasına rağmen, sezyumun suda çözünme eğiliminde olan bir metal olması ve deniz suyu pH'sında meydana gelen değişikliğin metalin çözünürlüğünü etkileme olasılığı (Millero ve diğ., 2009) K_d değerlerindeki farklılığın nedeni olabilir. Ayrıca, pH'ın azalması canlıların yüzey bölgelerinde metallerin rekabetini de etkilemektedir (Bruland ve diğ., 1991), bu durumda suda çözülmüş halde bulunan sezyumun canlıda metal bağlama bölgelerine bağlanması daha muhtemeldir.

Sediment dağılım katsayısı (K_d), sedimentin radyonüklidleri sudan absorbe etme potansiyelini temsil eder (Carroll ve diğ., 1999) ve sucul ortama salınan metallerin ve radyonüklidlerin hangi ortamda (Su, sediment, canlı) daha konsantre bulunduğu anlaşılması ve belirlenmesinde kullanılmaktadır (Abril ve Fraga, 1996). Tek tek elementler için belirlenen radyonüklid dağılım katsayıları (K_d) genellikle farklı sayısal değerlere sahiptir.

Bu çalışmada, ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs için pH:7,5'te bulunan K_d değerleri (sırasıyla 128, 76, 186) kontrol grubunda bulunanlara göre (sırasıyla 112, 54, 112) K_d değeri farklı bulunmuş olsa da, anlamlı olarak sadece ^{134}Cs için düşük pH'da yüksek değer tespit edilmiştir. Elde edilen K_d değerleri Carroll ve diğ. (1999) yapmış oldukları çalışmada nükleer santral atıkları ile kirlenen Karadeniz'de K_d değerlerine benzerlik göstermektedir. Karadeniz'de yapılmış olan deneylerde ^{137}Cs için K_d değerleri 700-1000 arasında değişiklik göstermektedir (Fisher ve diğ., 1997; Povinec ve diğ., 1997; Carroll ve diğ., 1999). Aksine, Elprince, (1978) 4,1'den 9,7'ye kadar incelemiş olduğu pH değerlerinde pH artışı ile Cs için K_d değerinin doğrusal şekilde artış gösterdiğini rapor etmişlerdir. Lima ve Mazilli (1994) yapmış oldukları laboratuvar çalışmasında 5,5-6 pH aralığında artan pH değeri ile ^{134}Cs için K_d değerinin arttığını bildirmiştir. Laboratuvar ortamı ve arazi çalışmalarında farklı sonuçlar elde edilmesinde en etkin rol oynayan askıda katı madde konsantrasyonudur. Askıda katı maddeler özellikle partikül reaktif elementlerin su veya sediment ortamında dağılmasına engel olmaktadır (Carroll ve Harms, 1999). Ayrıca çalışmada kullanılan sedimentin partikül boyutu ve şekli, metal ve radyonüklidlerin tutunma yüzeyi olması bakımından önemlidir.

5.5.OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN AKDENİZ MİDYESİNDE (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*) ^{110M}AG , ^{109}CD VE ^{134}CS RADYONÜKLİDLERİNİN KONSANTRASYON FAKTÖRÜNÜN HESAPLANMASI:

Sedimente verilmiş olan radyoizleyicilerden suya geçiş faktörü hesaplandıktan sonra, aynı deney düzeneğinde midyelere (*Mytilus galloprovincialis*) ^{110m}Ag , ^{109}Cd ve ^{134}Cs radyonüklidlerinin geçiş değerleri ve konsantrasyon faktörleri bulunmuştur. Ag-110m için farklı pH değerleri arasında K_d değerinde fark gözlenmezken, *Mytilus galloprovincialis*'de aktivite konsantrasyonunun aynı zamanda konsantrasyon faktörünün 8,1 pH değerinde 7,5 pH değerinden yüksek olduğu gözlenmiştir. Düşük pH değeri midyelerde filtrasyon hızı üzerine etki gösterebilmektedir. Çevresel duruma bağlı olarak midyelerin kapaklarının açık veya kapalı kalmasının canlıda element biyobirikimi ve dolayısıyla konsantrasyon faktörü değerlerini etkileyebileceği düşünülmektedir. Kontrol pH değerinde düşük pH değerinden daha yüksek değerlerin bulunması, düşen pH değeri ile birlikte metallerin kimyasal yapısında değişimin meydana gelmesi ve canlılarda metallerin bağlanma bölgelerinde rekabetten kaynaklı metallerin biyobirikiminde değişikliklerin meydana gelmesine neden olabilir. Ayrıca

okyanus asitlenmesine bağlı olarak sedimente bağlı olan ametallerin davranışlarında değişiklik, metalin alımında ve canlılar tarafından biyokullanılabilirliğinde değişiklik meydana gelebilir. Ag'nin sodyumla benzer kimyasal özellikler göstermesi ve sodyumun hücre membranlarında iyon geçişini düzenleyen moleküllerden biri olması, Ag'nin canlılarda yüksek konsantrasyonda birikmesine neden olmaktadır. Ayrıca hücre membran stabilizasyonunun bozulması durumunda, canlılarda diğer kirleticilerin de daha yüksek konsantrasyonlarda alınmasına yol açabilir.

Cd-109 için, farklı pH'lar arasında K_d değerlerinde fark gözlenmemiş, *Mytilus galloprovincialis*'de aktivite konsantrasyonunun ve konsantrasyon faktöründe de fark gözlenmemiştir. Bu sonuç, Cd'nin klorür şeklinde bileşik oluşturması ve klorür formundaki bileşiklerin azalan pH'dan etkilenmeyeceği ya da metallerde meydana gelen çözünme ile klorür formundaki bileşiklerin okyanus asitlenmesinden çok az etkileneceği tezi (Millero ve diğ., 2009) ile örtüşmektedir. Cd'un kalsiyumla benzer kimyasal özellikler göstermesi kabuk dokusunda kalsiyum elementinin yerine geçerek daha yüksek konsantrasyonda birikimine neden olabilmektedir. Ayrıca, Cd'un kabuk dokusunda tutulması, sayesinde yumuşak doku tarafından alınıp besin zinciri boyunca ilerlemesinin önüne geçilmiş olacaktır. Yapılmış olan çalışmalarda (Borchardt, 1983; Jeffree ve diğ., 2006; Herve-Fernandez ve diğ., 2010), CF değerleri belirlenmiş olan günlerde canlılardaki aktivitenin düzenli olarak ölçülmüştür. CF değeri saptanırken tüm vücut olarak sayım alınmasına karşın çalışmamızda yumuşak dokuda CF değerinin saptanması değerler arasında farklılıkların oluşmasına neden olmuştur.

Cs-134 için farklı pH değerlerindeki *Mytilus galloprovincialis*'de konsantrasyon faktörü değerlerinde fark gözlenmezken, K_d değerlerinde ve midye yumuşak dokularındaki aktivite konsantrasyonu değerlerinde düşük pH değerlerinde Cs biyobirikiminin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Söz konusu, farklılığın midyelerin metabolik durumundan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Azalan pH değerinin çalışmanın kısa süreli (7 gün) olması nedeniyle solunum, asit-baz dengesi gibi daha büyük sistemleri etkilemesinden ziyade su filtrasyon hızı, beslenme miktarı gibi etkenlerden kaynaklı olarak midyelerde kirleticilerin birikiminin etkilenmiş olabileceği düşünülmektedir.

Diğer yandan azaltılmış pH şartlarında sedimentten suya geçen Cs formlarının normal pH şartlarına oranla daha biyoavailable formlar olması (Cs^{+2} gibi) da azaltılmış pH'da midyede daha yüksek Cs biyobirikimi olmasının nedeni olarak düşünülebilir.

5.6.OKYANUS ASİTLENMESİ ŞARTLARINDA SEDİMENTTEN KUM MİDYESİNE (*RUDITAPES PHILIPPINARUM*) ^{110m}Ag, ¹⁰⁹Cd VE ¹³⁴Cs RADYONÜKLİDLERİNİN KONSANTRASYON FAKTÖRÜ VE TRANSFER FAKTÖRÜNÜN (TF) HESAPLANMASI:

5.6.1. Konsantrasyon Faktörü

Kd değerlerinin hesaplanmış olduğu deney düzeneğinde *R. philippinarum*'da ^{110m}Ag, ¹⁰⁹Cd ve ¹³⁴Cs radyonüklidlerinin midye yumuşak dokusundaki aktivite konsantrasyonları, konsantrasyon faktörü ve transfer faktörü incelenmiştir. Ag-110m için K_d, aktivite konsantrasyonu ve konsantrasyon faktörü verilerinin hiçbirinde farklılık gözlenmemiş olması azalan pH değerinin Ag biyobirikimi üzerine etkisinin olmadığı veya sınırlı bir etkisi olduğu şeklinde yorumlanmaktadır.

Cd-109 için K_d değerinde farklı pH şartlarında fark gözlenmezken, *Ruditapes philippinarum*'da aktivite konsantrasyonu ve konsantrasyon faktörü değerleri incelendiğinde azaltılmış pH değerinde (7,5) kadmiyumun normal pH'a göre (8,1) midye yumuşak dokusunda daha iyi biriktirildiği gözlenmiştir. Cd-109'un metabolik süreçler için canlıda gerekli olmayan ve toksik bir element olduğu bilinmektedir. Düşük pH değerinin canlıda meydana getirmiş olabileceği metabolik süreçlerdeki herhangi bir aksaklık (ortam şartlarının optimum düzeyde olmaması nedeniyle, besin alımında azalma, oksijen seviyesinin yeterli olmaması gibi), canlıda alınmış olan kirleticinin elimine edilmesinde sorun yaşamasına neden olmuş olabilir. Azaltılmış pH'da Cd'nin yumuşak dokuda bulunan Ca ile de daha kolay rekabet edebileceği düşünülmektedir. Bu da azaltılmış pH'da daha yüksek Cd biyobirikimini açıklar.

Cs-134 için CF değerlerinin düşük pH değerinde daha yüksek olduğu gözlenirken, midye yumuşak dokusu aktivite konsantrasyonu değerinin pH şartlarında farklılık göstermediği gözlenmiştir. Bu bize farklı Cs biyobirikiminin kabuktan kaynaklandığını göstermektedir. Kabuk azaltılmış pH'da Cd'ü daha iyi biriktirmiştir. Buna benzer bir sonuç aynı tür için daha önceki bir çalışmamızda gösterilmiş; aynı türde azaltılmış pH'da Co biyobirikiminin daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Sezer ve diğ., 2018a). Bu iki sonuç *R. philippinarum*'un aragonit yapıdaki kabuğunun okyanus asitlenmesi şartlarında değişikliğe uğradığını ve daha yüksek metal biriktirdiğini göstermektedir.

5.6.2. Transfer Faktörü

Ag-110m için transfer faktörü verilerinin hiçbirinde farklılık gözlenmemiş olması azalan pH değerinin Ag biyobirikimi üzerine etkisinin olmadığı veya sınırlı bir etkisi olduğu şeklinde yorumlanmaktadır. Cd-109 için transfer faktörü değerinde farklı pH şartlarında fark gözlenmezken, *R. philippinarum* yumuşak dokusunda aktivite konsantrasyonu değerlerinin düşük pH 'da daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Cs-134 için Kd değeri düşük pH değerinde daha yüksek olduğu gözlenirken, midye yumuşak dokusu aktivite konsantrasyonu değerinin pH şartlarında farklılık göstermediği ve transfer faktörü değerinin de kontrol pH değerinde daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Yaşam biçimleri ve beslenmeleriyle ilgili olarak, deniz tarakları, alt çökeltiyle doğrudan temas halindedir ve mikroalgleri ve mikropartikülleri filtrelemektedirler. *Ruditapes philippinarum*'da bulunmuş olan ¹³⁴Cs için TF değeri kontrol grubunda 0,07 ve düşük pH değerinde 0,05'tir. Bu değerler sedimentten radyosezyum maruziyeti çalışmaları ile tutarlı bulunmuştur (Metian ve diğ., 2011; Miramand ve diğ., 1982; Bustamante ve diğ., 2006; Borretzen ve Salbu, 2009).

Ruditapes philippinarum yumuşak dokularında TF değeri ^{110m}Ag için incelendiğinde, kontrol grubunda 6,56 ve düşük pH değerinde 4,63'tür. İstiridyelerde (*Isognomon isognomon* ve *Malleus regula*) tüm vücut için TF değerleri (sırasıyla 0,178 ve 0,194) daha düşük bulunmuştur (Hedouin ve diğ., 2010). *Pecten maximus*'da tüm vücut ve yumuşak doku Ag TF_{13gün} değeri sırasıyla 0,22 ve 0,69 olarak bulunmuştur (Metian ve diğ., 2008). Çalışmamızda Ag transfer faktörü değerlerinin çok daha yüksek bulunmasının nedeni olarak kullanılan midye türünün (*Ruditapes philippinarum*) farklı olması dışında, midyelerde ölçümlerin yumuşak doku üzerinden yapılması olarak düşünülebilir. Midyelerin sedimente maruz bırakılması tüm vücut şeklinde yapılmış olmasına rağmen, ölçümler yumuşak doku üzerinden yapılmıştır.

5.7.OKYANUS ASİTLENMESİNİN FARKLI BÜYÜKLÜKTEKİ AKDENİZ MİDYELERİNDE (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*) GÜMÜŞ (AG-110M) VE KADMİYUM (CD-109) BİYOBİRİKİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:

5.7.1. Vücut Büyüklüğünün Ag-110m ve Cd-109 Biyobirikimine Etkileri

Vücut büyüklüğü arttıkça canlı birim ağırlığındaki element konsantrasyonu ve CF değerinin genel olarak azaldığı bilinmektedir (Hedouin ve diğ., 2006; Kuranchie-Mensah ve diğ., 2018). Buna karşın artan büyüklükle birlikte değişmeyen ya da artan CF değerleri de gösterilmiştir. Genel olarak, deniz canlıları için erişkinlerde CF değeri yavrulara göre daha düşüktür. Bunun nedeni larva ve yavru gibi gelişme dönemlerinde metabolizma hızının ve vücut yüzey alanı/hacmi oranının ergin bireylere göre daha fazla olmasıdır. Büyük midyelerde su pompalama oranının ve solungaç/tüm vücut hacmi oranının azalması da element birikiminin küçük midyelere göre daha az olmasının nedenleridir. Bu çalışmada da küçük (yavru) midyelerde alım deneyinde ^{110m}Ag ve ^{109}Cd konsantrasyon faktörü değerleri büyüklere göre daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde Hedouin ve diğ. (2006) bir deniz tarağı olan *Gafrarium tumidum* ile yaptıkları çalışmada vücut büyüklüğü arttıkça Cr, Co, Cd ve Zn biyokonsantre etme potansiyelinin azaldığını göstermişlerdir. Gümüş için ise tam tersi bir sonuç bulmuşlardır. Wang ve Fisher (1997) küçük midyelerde (*Mytilus edulis*) atılım sabitinin (k_e) kısmen daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Buna benzer şekilde bu çalışmada da küçük midyelerde atılımın büyük midyelere göre daha hızlı olduğu görülmektedir.

5.7.2. Ag-110m ve Cd-109 Alımına pH Etkisi

$p\text{CO}_2$ artışının (ya da pH azalmasının) deniz canlılarında Ag biyobirikimine etkileri çok az sayıda çalışmada ele alınmıştır (Ivanina ve Sokolova, 2015). Lacoue-Labarthe ve diğ. (2011) bir kalamar türü olan *Loligo vulgaris*'de ^{110m}Ag biyobirikimine okyanus asitlenmesinin etkilerini çalışmış, düşük pH'da embriyoda Ag biyobirikiminin arttığını göstermiştir. Buna karşılık kalamar yumurtalarında pH: 7,6'da Ag alımının arttığı pH: 7,85'de azaldığını rapor etmişlerdir. Yine aynı çalışmada, ^{109}Cd biyobirikimi *Loligo vulgaris* embriyo ve yumurtalarında incelenmiş, düşük pH değerleri (7,85 ve 7,60) kontrol grubu (8,1) ile kıyaslandığında ^{109}Cd CF_{ss} değerlerinin kontrol grubunda (77), düşük pH değerlerinden (pH 7,85 için 37; pH 7,60 için 29) daha yüksek olduğu bulunmuştur (Lacoue-Labarthe ve diğ.,

2011). Lacoue-Labarthe ve diğ. (2011) yapmış oldukları çalışmada, farklı $p\text{CO}_2$ seviyelerinde embriyo ve yumurta kabuğundaki metal birikimi karşılaştırılırken iki farklı model bulunmuştur: embriyodaki ^{109}Cd alımı, artan $p\text{CO}_2$ ile birlikte yumurta kabuğundaki azalan konsantrasyon ile birlikte azalmıştır. Cd, artan $p\text{CO}_2$ ile embriyoda sınırlı bir biyolojik birikim göstermiştir. Aynı çalışmada, $^{110\text{m}}\text{Ag}$, ^{109}Cd ile tam tersi bir özellik göstererek artan $p\text{CO}_2$ ile artan konsantrasyon göstermiştir. $^{110\text{m}}\text{Ag}$ ile ilgili olarak metal yumurta kabuğu tarafından ne kadar çok tutulursa, embriyodaki nüfuz o kadar düşük konsantrasyonda kalmıştır. Sonuçta, yumurta kabuğunun dış kısmı tarafından tutulan metallerin davranışlarının, $p\text{CO}_2$ 'den etkilendiği şeklinde yorumlanmıştır.

Ag elementi deniz suyunda en çok AgCl formunda bulunur ve bu form nispeten biyoavailable bir form olmakla birlikte asitlenmenin artmasından etkilenmeyecektir. Nitekim yakın gelecek için modellenen pH seviyelerinde Ag kimyasal çeşitlenmesinin çok sınırlı kalacağı tahmin edilmektedir (AgCl'nin tüm Ag formları içindeki payının % 2-4 seviyesinde artışı beklenmektedir). Bu nedenle bir deniz organizmasında Ag biyobirikiminde pH bağımlı bir değişim olması canlıyı çevreleyen deniz suyundaki Ag'nin kimyasal formlarındaki değişimler ile değil daha çok organizmanın fizyolojisindeki değişimler ile açıklanmalıdır.

Lacoue-Labarthe ve diğ. (2009) mürekkep balığı yumurtalarında yaptıkları çalışmada yumurtadan yeni çıkmış yavru bireylerde Ag biyobirikiminin pH ile ters orantılı olduğunu göstermişlerdir. Uygulanan üç pH'da en yüksek CF değerini pH:7,60'da, en düşük CF değerini kontrol pH değeri 8,1'de bulmuşlardır. Yüksek $p\text{CO}_2$ (pH:7,60) 'ye maruz kalan yavrularda kontrol pH ve pH:7,85 seviyesine göre daha yüksek Ag biyobirikimi bulunması yumurta aşamasında yumurta kabuğunda Ag alıkonmasının düşük olmasına (ki bu yumurta kabuğundan perivitellin sıvısına Ag geçişine eden olur) bağlamışlardır. Ana sebep ise metabolik hızdaki değişimlerdir. Düşük sıcaklığa bağlı metabolik hızdaki değişimlerin Ag alımını azalttığı gösterilmiştir (Wolf ve diğ., 1985). Buna karşılık pH ile Cd biyobirikimi arasında doğru pozitif bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Bunun nedeni ise Cd'un Ca elementinin kimyasal analogu olması ve asitlenmenin kalsifikasyonu düşürmesi nedeniyle Cd alımının da düşmesidir.

Gümüş elementi Na ile mimetiktir. Yüksek düzeyde Ag maruziyeti deniz organizmalarında Na alımını ve Na^+/K^+ -ATPase aktivitesini inhibe etmektedir (Völker ve diğ., 2015; Schultz ve diğ., 2012). Bu nedenle bu canlılarda osmotik stres ve osmoregülasyon ile hücre içi ve dışı Ag

konsantrasyonları arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Buna karşın tez çalışmasının bu deneyinde Ag alımında ve atılımında pH'ya bağlı bir değişim gözlenmemiştir.

Küçük midyelerde alım periyodu dışında ^{110m}Ag doku dağılımının uygulanan üç pH'dan bağımsız olduğu görülmektedir. Küçük midyelerde alım periyodunda kontrol pH seviyesinde (pH:8,1) ^{110m}Ag aktivitesi kabuk ve yumuşak doku arasında eşit paylaşılırken pH:7,5'de aktivitenin % 77'lik kısmı kabukta bulunmuştur. Bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür (Kruskal Wallis test; $p<0,05$). Asitlenmiş deniz suyunda yumuşak dokuda daha az Ag bulunması, okyanus asitlenmesi şartlarında midyeden üst besin zincirlerine daha az Ag trofik transferi olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde Belivermiş ve diğ. (2016) istiridyede (*Crassostrea gigas*) ^{110m}Ag alım, atılım ve doku dağılımının pH'dan etkilenmediğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmada suda çözülmüş olan ^{110m}Ag biyobirikimine okyanus asitlenmesinin etkileri araştırılmıştır. Gümüş elementinin bivalvlerde biyobirikiminde temel yolun suda çözülmüş olarak birikim olduğu bilinmektedir (Wang ve diğ., 1996; Hédouin ve diğ., 2010). Bununla beraber okyanus asitlenmesinin midyelerde besinle birlikte ^{110m}Ag biyobirikimine etkileri de ileriki çalışmalarda araştırılmalıdır.

5.7.3. Ag-110m Doku Dağılımına pH Etkisi

Alım deneyinin ardından disekte edilen erişkin *Mytilus galloprovincialis* türü midyelerde ^{110m}Ag konsantrasyonun 8,1 ve 7,5 pH şartlarında yumuşak dokularda daha fazla birikim gösterdiği, 7,8 pH değerinde ise kabuk dokusunda daha fazla biriktiği (% 74) tespit edilmiştir. 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde birikimin sindirim bezinde en yüksek konsantrasyonda olduğu gözlenmiştir ve bu sonuç literatüre uygundur. 7,8 pH değerinde filtrasyon hızının 8,1 pH değerinden daha düşük olduğu düşünüldüğünde ^{110m}Ag konsantrasyonun kabuk dokusunda adsorpsiyon şeklinde olduğu düşünülebilir. Kabukların daha az süre açık kalması Ag'nin yumuşak dokulara geçişini engellemiştir. Fakat bu sonuç, 7,5 pH değerinde elde edilmiş olan sonuçlarla örtüşmemektedir.

Alım deneyi ardından disekte edilmiş olan yavru bireylerde azalan pH ile ^{110m}Ag konsantrasyonu yumuşak dokularında azalırken, kabuk dokusunda artış göstermiştir.

Atılım deneyi sonunda, erişkin bireylerde tüm pH değerlerinde ^{110m}Ag konsantrasyonunun yoğun şekilde (pH:8,1 % 96, pH:7,8 % 86, pH:7,5 % 94) kabuk dokusunda birikim gösterdiği, diğer yumuşak dokularda yakın konsantrasyonlarda olduğu belirlenmiştir. Atılım deneyi sonunda yavru bireylerde de erişkin bireylerde olduğu gibi, tüm pH değerlerinde ^{110m}Ag konsantrasyonunun yoğun şekilde (pH:8,1 % 85, pH:7,8 % 85, pH:7,5 % 81) kabuk dokusunda birikim gösterdiği gözlenmiştir.

5.7.4. Cd-109 Doku Dağılımına pH Etkisi

Alım deneyinde erişkin *Mytilus galloprovincialis* türü midyelerde ^{109}Cd konsantrasyonun 8,1 ve 7,5 pH değerlerinde en yüksek konsantrasyonda sindirim bezinde olduğu, 7,8 pH değerinde ise en yüksek konsantrasyonun manto dokusunda, ardından sindirim bezinde olduğu bulunmuştur. Alım deneyinde maruziyet meydana geldiğinden dolayı canlılarda kirleticinin etkilerinin elimine edilmesi için sindirim bezinde konsantrasyonun daha yüksek olması literatüre uygunluk göstermektedir. Atılım deneyi sonunda, erişkin bireylerde pH değerlerinde ^{109}Cd konsantrasyon dağılımı genel olarak sindirim bezi, manto ve kalan yumuşak dokularda yüksek ve birbirine yakın olarak bulunurken, yakınlaştırıcı kasta en düşük konsantrasyonda bulunmuştur. Cd-109'un kalsiyum ile homolog yapıda bir element olmasına karşın, ^{109}Cd kabuk dokusundan daha yüksek konsantrasyonda yakınlaştırıcı kasta biriktiği gözlenmiştir. Hem alım hem de atılım deneyi sonunda disekte edilen yavru bireylerde, tüm pH değerlerinde ^{109}Cd konsantrasyonunun yoğun şekilde yaklaşık olarak % 90 yumuşak dokuda birikim gösterdiği gözlenmiştir.

5.7.5. Okyanus Asitlenmesinin Akdeniz Midyesinde (*Mytilus galloprovincialis*)

Filtrasyon Oranı, Hücre ve DNA Bazında Toksikolojik Etkileri

5.7.5.1. Filtrasyon Oranı

Filtrasyon doğal metabolik süreçlerin devam ettirilmesi ile orantılıdır ve artan canlı büyüklüğü ile artış göstermektedir (Tang ve Riisgard, 2018). Filtrasyon hızı, asitlenme, sıcaklık ve kirleticilerin midyeler üzerindeki biyolojik etkilerinin değerlendirilmesi için kullanışlı bir parametredir (Jorgensen ve diğ., 1990; Kadar ve diğ., 2002; Kraak ve diğ., 1994). Ayrıca, yüksek filtrasyon hızı, midye kapaklarının açık olması ve eğer var ise sifonlarının dışarıda olmasıyla yakından ilişkilidir (Jorgensen ve diğ., 1990). Özellikle bivalvlerin yüksek konsantrasyonda suyu filtre etme ve dolayısıyla kirleticileri bünyelerine

alma özellikleri düşünüldüğünde, filtrasyon oranı ile canlı metabolizması arasında bağlantı kurarak değerlendirmek anlamlı hale gelmektedir (Matozzo ve diğ., 2001).

Erişkin bir *Mytilus galloprovincialis* normal pH, sıcaklık ve çözünmüş oksijen şartlarında günde 40 litre kadar su filtre eder. Bu sudaki algleri besin olarak kullanırken çözünmüş oksijeni hücresel solunumda kullanılır. Bu tez çalışmasında *Mytilus galloprovincialis*'te azalan pH değeri ile filtrasyon oranında azalma olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, midye *Anodontites trapesialis*'de de en iyi filtrasyon oranının pH 8'de olduğu azalan pH ile filtrasyon oranının azaldığı gösterilmiş, aynı zamanda ortamda bulunan kirleticilerin (metal, radyonüklid) filtrasyon oranında etkili olduğu belirtmiştir (Loayza-Muro ve Elías-Letts, 2007). *Anodontites trapesialis*'de Cd'un toksik etkiye neden olduğu, filtrasyon hızı üzerine sınırlayıcı bir etkiye sahip olduğu ve konsantrasyonun artmasıyla birlikte filtrasyon hızının % 20'nin altına düştüğü ifade edilmiştir (Loayza-Muro ve Elías-Letts, 2007). Benzer şekilde *Mytilus edulis*'te büyük ve küçük midyeler üzerinde yapılmış olan çalışmada, pH değeri düştükçe filtrasyon oranına bağlı olarak büyüme oranının azaldığı gözlenirken, küçük midyelerde 8,1-7,8 pH değeri aralığında büyümenin arttığı, sonrasında azalan pH ile büyüme oranının düştüğü rapor edilmiştir (Berge ve diğ., 2006).

Filtrasyon hızı aynı zamanda canlının oksijen alma kapasitesi hakkında bilgi vermektedir (Jørgensen ve diğ., 1986). Oksijenin difüzyonu ile canlı tarafından alındığı düşünüldüğünde, canlının solungaçları tarafından oksijen alabilmesi için aynı zamanda beslenme için kapaklarını açması gerekmektedir. Tang ve Riisgard (2018) yapmış oldukları çalışmada *Mytilus edulis*'te ortamdaki oksijen miktarı arttıkça, filtrasyon hızının da artış gösterdiği, oksijen miktarının çok fazla (9 mg O₂/L) artması durumunda ise filtrasyon hızının azaldığı bildirilmiştir. Kapakların kapanması ile birlikte aynı zamanda filtrasyon hızının azaldığı belirtilmiştir (Tang ve Riisgard, 2018).

Bu tez çalışmasında kara midyede filtrasyon oranının azalan pH ile doğru orantılı olarak azalması midyenin azalan pH'ya metabolik hızını azaltarak cevap verdiği şeklinde yorumlanabilir. Deniz hayvanlarının okyanus asitlenmesine karşı genellikle metabolizma hızında azaltma yaparak cevap verdiği gösterilmiştir (Thomsen ve Melzner, 2010; Lacoue-Labarthe ve diğ., 2009; Liu ve He, 2012). Buna karşın 5.3 nolu tartışmada belirtildiği gibi azaltılmış pH karideslerde kabuk değişimini teşvik etmiştir. Bu, pH'daki azalmanın (pCO₂ artışı) farklı türlerde farklı metabolik cevaplar oluşturabileceğini göstermektedir.

5.7.5.2. İmmünomodulasyon Testleri

Hemosit Yaşayabilirliği

Çevresel kirleticiler ve stres faktörlerinin deniz hayvanlarının hemositlerinde canlılık (Alvarez ve Friedl, 1992), fagositoz (Fries ve Tripp, 1980; Anderson, 1988; Cima ve diğ., 1998), toplanma (Auffret ve Oubella, 1997), lizozomal enzim aktivitesi (Cima ve diğ., 1999) ve lizozomal membran stabilitesi (Lowe ve diğ., 1995; Grundy ve diğ., 1996) gibi fonksiyonel parametreleri değiştirebileceği bilinmektedir. Bundan dolayı da, hemosit yaşayabilirliği (hemosit canlılık oranı), çevresel etkilerin ve kirleticilerin canlılar üzerindeki etkilerinin anlaşılmasında kullanılmaktadır (Cajaraville ve diğ., 1996). Çevresel olarak azalan pH değerlerinin hemositlerde şekil bozukluğu ve degranülasyona sebep olduğu bildirilmiştir (Hong ve diğ., 2013). Hemositler, yara ve kabuk onarımı, sindirim, atılım ve iç savunma gibi çeşitli fonksiyonlarda kilit bir rol oynar ve dolaşımdaki patojen ve yabancı maddelere karşı savunmada görev alır (Cheng, 1981). Sonuç olarak, hemositler üzerindeki toksik etkiler potansiyel olarak bu hayvanların hayatta kalma oranını etkileyebilir ve subletal hasarlara sebep verebilir.

Midyelerin yakınlştırıcı kasından alınmış olan hemolenf sıvılarındaki hemositlerin yaşayabilirliği incelendiğinde, *Mytilus galloprovincialis*'te azalan pH değeri ile hemosit yaşayabilirliğinin azaldığı gözlenmiştir. *Crassostrea virginica*'da ve *Mytilus edulis*'te Cd'ye maruz kalma sonucu hemosit yaşayabilirliğinde bir fark gözlenmemiş (Matozzo ve diğ., 2001) olmasına rağmen *M. edulis*'in hemositlerinde, Viarengo ve diğ. (1996), ağır metallerin, Ca kanallarını etkileyerek Ca homeostazisini de bozabileceğini göstermiştir.

Literatürde okyanus asitlenmesinin hemosit yaşayabilirliği üzerinde etkisi ile ilgili bir çalışma bulunmamıştır. Bizim bu çalışmamızda bulunan sonuç ise hemositlerin çevresel pCO_2 yüksekliğine (veya pH'da azalma) hassas olduğunu ve okyanus asitlenmesinin etkilerinde bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Lizozomal Membran Stabilitesi

Nötr kırmızının alımı, hücrenin, ATP üretimi yoluyla asit-baz dengesini koruma koruma kapasitesine bağlıdır. Fizyolojik pH'da, boya, hücrenin zarlarına nüfuz etmesini sağlayan sifıra yakın bir net yük sunar. Lizozomların içinde, pH'yı sitoplazmadan daha düşük tutmak

için bir proton gradyanı vardır. Böylece, boya yüklenir ve lizozomların içinde kalır (Repetto ve diğ., 2008).

Bu çalışmada, *Mytilus galloprovincialis*'te nötral kırmızı alım sonuçları incelendiğinde, kontrol grubunda optik yoğunluktaki μg protein miktarı (0,000506) daha yüksek olsa da, düşük pH seviyelerine yakın (pH:7,8'de 0,000430, pH:7,5'te 0,000451) olduğu gözlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar *Mytilus edulis* ile yapılan benzer bir çalışmanın sonuçları ile kıyaslandığında çok düşük değerlerde bulunmuştur (Pipe ve diğ., 1999). Söz konusu azalmaya Ag ve Cd gibi kirleticiler kullanılmasının yanında pH gibi çevresel bir parametrenin kullanılmış olması da neden olabilir. Deney süresinin (82 gün) de diğer yapılan deneylerden daha uzun süreli olması midyelerdeki canlı hücrelerde boyanın alınmasında etkili olan membran stabilizasyonunun bozulmasına neden olabilir.

Mytilus edulis'te farklı konsantrasyonlarda Cu biyobirikiminin nötral kırmızı alım deneyi üzerine bir etkisi olmadığı (Pipe ve diğ., 1999), farklı konsantrasyonlarda Cd biyobirikiminde artan konsantrasyonla birlikte dolaşımdaki hemosit sayısında ve nötral kırmızı alımında anlamlı artış olduğu bildirilmiştir (Coles ve diğ., 1995).

82 günlük yüksek $p\text{CO}_2$ uygulamasına rağmen midyelerin lizozomlarında stabilizasyon görülmemesi midyelerin hücre içinde veya bizzat lizozom içinde asit-baz dengesini muhafaza edebildiği şeklinde yorumlanabilmektedir.

5.7.5.3. Dolaşımdaki Hücre Dışı Nükleik Asitler

Deniz suyu pH değerinin azalmasıyla canlılarda, metabolik, fiziksel değişikliklerin meydana gelebileceği belirlenmiştir. Canlıların vücut sıvılarında hücre dışı nükleik asitlerin saflaştırılması için PCR, Comet assay gibi moleküler yöntemler kullanılarak, dolaşımdaki hücre dışı nükleik asit seviyelerinin tespit edilmesi meydana gelmiş olan değişikliklerin daha iyi ifade edilmesi açısından önem taşımaktadır.

Dolaşımdaki hücre dışı nükleik asitler, kolayca ölçülebilmeleri ve hastalıkların tespitinde gereken moleküler, biyokimyasal ve hücresel değişimleri belirtmeleri bakımından önemli taşımaktadır. Bu bağlamda, plazma, serum ve idrar gibi vücut sıvılarındaki hücreler, hastalıkların ve canlılarda meydana gelen değişimlerin yansıtılması potansiyeline sahiptir.

Son yıllarda, DNA, RNA ve mikroRNA gibi dolaşımdaki nükleik asitler hastalık biyobelirteçleri olarak ümit verici hale gelmiştir (Çağlar ve Çayır, 2018).

miRNA, proliferasyon, hücre döngüsü kontrolü, sinyal yolları ve apoptoz gibi birçok temel hücre prosesinde gen ifadesinin önemli düzenleyicileridir. İnsanlarda miRNA ekspresyonundaki hatalı değişiklikler, kanserin başlaması, gelişimi ve metastazı ile ilgili olduğu belirlenmiştir (Çağlar ve Çayır, 2018). Ayrıca dolaşımdaki hücre dışı DNA düzeyi, kanser evresi ile anlamlı derecede ilişkili olduğu ve kanserin ilerlemesi ile hücre dışı DNA konsantrasyonunun arttığı akciğer kanseri hastalarında tespit edilmiştir (Gautschi ve diğ., 2004). Bu durum, çevresel değişikliklerin, stresörlerin ve kirleticilerin canlılarda dolaşımdaki hücre dışı DNA miktarını etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada, 82 gün süresince farklı deniz suyu pH değerlerine maruz bırakılmış midye hemolenf sıvılarında anlamlı fark olmadığı gözlenmiştir. Maruz kalınan pH değerlerinin ve ^{110m}Ag ve ^{109}Cd radyonüklidlerinin midyelerde hücresel olarak oksidatif strese neden olmadığı ve metabolik olarak etkilemediği şeklinde yorumlanabilir. Çalışmada örnek sayısının az sayıda olması istatistiksel anlamlılığın azalmasına neden olduğu düşünülmektedir. Gelecek çalışmaların örnek sayısının daha fazla olması ve mümkünse tekrarlanabiliyor olması, istatistiksel anlamlılığını arttıracaktır.

ÖZET OLARAK;

Okyanus asitlenmesinin eser elementlerin deniz canlılarında biyobirikimi ile çalışmalarda bugüne kadar OA'nin element biyobirikimini arttırdığını gösteren çalışmalar olduğu gibi (Sezer ve diğ., 2018a; Lacoue-Labarthe ve diğ. 2009; Shi ve diğ., 2016; Horwitz ve diğ., 2014; Velez ve diğ., 2016); element biyobirikimini etkilemediğini veya azalttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Pascal ve diğ., 2010; Bielmyer-Fraser ve diğ., 2014; Sezer ve diğ., 2018b; Lacoue-Labarthe ve diğ., 2018; Jacob ve diğ., 2017). Bu nedenle bu konuda farklı türler ve farklı elementler kullanılarak bütüncül birçok çalışma yapılmasına ve özellikle model ekosistemlerin kullanıldığı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Hücre içi ve dışı pH ve

$p\text{CO}_2$ değişimlerinin metabolizma hızına etkilerinin dolaylı olarak element asborbsiyonunu ve detoksifikasyonunu nasıl etkilediği ile ilgili model çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada çeşitli bivalv ve karides türleri ile sistematik olarak yapılmış olan deneylerde farklı deniz canlılarında artmış $p\text{CO}_2$ 'nin radyonüklid (metal) biyobirikimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışılan tre, uygulanan radyonklide ve radyonüklidin uygulandığı ortama göre sonuçlar farklılık göstermiş radyonüklid biyobirikimi ya azalmış, ya değişmemiş ya da artmıştır. Genel bir sıralama yapılacak olursa değişmeme > artma > azalma şeklinindedir. Bu sonuçlar ayrı ayrı deneylerde elde edilmiş olsa da bütüncül bir bakış açısı sunulması hedeflenmiştir. Okyanus asitlenmesi şartlarında metal ve radyonüklid biyobirikimi sonuçları canlıların immun dayanıklılık, metabolik ve fizyolojik çeşitli parametreleri olan filtrasyon oranı, dolaşımdaki hücre dışı nükleik asit, hemosit yaşayabilirliği ve nötral kırmızı deneyi gibi deneylerin bulguları ile desteklenmesi bütüncül bakışa destek olmuş gzlmektedir. Yapılan alışmalar doğrultusunda, azalan deniz suyu pH değerlerinin küçük midyelerde (*Mytilus galloprovincialis*) metal biriktirme kapasitesinin artmasına neden olduğu gözlenmiştir. Azalan pH değeri ile canlıların metabolik olarak değişen evre şartlarına vermiş olduğu cevap değişkenlik göstermektedir. Örneğin, karideste (*Palaemon adspersus*) dış iskelet değişim hızı azalan pH ile arttığından dolayı metabolik hızının arttığı gözlenmiştir. Midyede (*Mytilus galloprovincialis*) ise, azalan deniz suyu pH değeri filtrasyon hızının azalmasına neden olduğunda metabolik hızda azalma olarak yorumlanmıştır. Düşük pH değerlerinde (zellikle 7,5 pH değerinde daha yoğun olmak üzere) istiridyede (*Ostrea edulis*) kabuk yüzeyinde bulunan organik örtü tabakasının bozulduğu görülmektedir. Aynı zamanda, istiridyede radyonüklidlerin subsellular dağılımı incelendiğinde, kirleticilerin hücrede çözünmeyen kısımlarda biriktirildiği, depolandığı ve metabolik işlemlere katılmadığı bulunmuştur. Radyonüklid/metal birikiminin yumuşak dokularda yüksek seviyelerde olması, bu kirleticilerin besin zinciri boyunca artan konsantrasyonda ilerlemesine neden olmaktadır.

Hücre içi ve dışı pH değişiklikleri denizel organizmalarda çeşitli fizyolojik değişikliklere sebep olduğundan ve bu fizyolojik değişiklikler element biyobirikimini direkt olarak etkilediğinden bir dizi metabolik-fizyolojik deney (filtrasyon oranı, nötral kırmızı alım deneyi ve hemosit yaşayabilirliği) de gerçekleştirilmiştir. Farklı deniz canlılarında, farklı radyoizleyicilerin artan $p\text{CO}_2$ ile artan, azalan veya değişiklik göstermeyen etkileri meydana gelmiştir. Bazı canlılarda, hiperkapninin, organizmanın fizyolojik süreçlerine verilen

rahatsızlıklar nedeniyle biyolojik dokularda metal birikimini etkilediği gözlenmiştir. Okyanus asitlenmesi konusunda, bu sonuçlar, deniz organizmalarında hayatta kalma ve yaşamını devam ettirebilme başarısında metabolik süreçlerde gerekli olan ve olmayan metallerin azalmış veya artan birikiminin ekotoksikolojik sonuçları hakkındaki bilgilerimizi geliştirmiştir.

Midyede yükselmiş pCO_2 altında kalsifikasyon işlemlerinin etkilenmesi araştırılmıştır. Hem erişkin hem de yavru midyelerde hiperkapnianın araştırılmış olması, aynı canlıda farklı yaşam evreleri arasında okyanus asitlenmesi durumunda kirletici biyobirikimi hakkında bilgi edinilmesi sağlamıştır. Böylece, yükseltilmiş pCO_2 'in etkisi, sadece canlıların metabolik süreçlerinin incelenmesi ve kalsifikasyonu açısından değil, farklı yaşam evrelerinde canlıların hassasiyeti bakımından incelenmiştir.

Kısa süreli ve nispeten uzun süreli (9 hafta) yapılmış olan çalışmalar, özellikle kıyı ve nehir ağzı özelliklerindeki çevresel şartlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Melzner ve diğ., 2013). Kıyı bölgeleri özellikle canlı çeşitliliğini daha fazla olduğu bölgeler olması ve değişen çevresel koşullara karşı direnç göstermeyen kısımlar olması açısından önem taşımaktadır. Çalışmalar nispeten uzun süreli de olsa, çevresel koşullarda meydana gelecek değişiklere canlıların adaptasyonun incelenmesi ve aynı zamanda pH değişimi ile birlikte sıcaklık değişikliklerinin incelenmesi açısından yetersiz kalmaktadır. Midyelerde ve istiridyelerde tepkilerin uzun vadede ve yüksek oranda meydana gelen değişimlerle meydana geldiği (Parker ve diğ., 2011) düşünüldüğünde, adapte olma kapasitelerinin de araştırılması önem taşımaktadır.

Okyanus asitlenmesi için öngörülen değerler doğrultusunda yapılmış olan çalışmalarda, farklı deniz canlıları, radyonüklidler kullanılmış ve maruz bırakılan şartlar altında canlılarda meydana gelen değişimler incelenmiştir. Birikim olayı üç farklı bileşene göre değişiklik göstermiştir: incelenen organizma, araştırılan radyonüklid, maruz bırakılan çevresel şartlar. Ayrıca, yapılan çalışmalar OA'nın metal biyobirikimindeki etkisinin çalışılan organizmaların bulunduğu evreye göre değiştiğini göstermiştir (Kurihara ve diğ., 2008; Bechmann ve diğ., 2011; Lacoue-Labarthe ve diğ., 2011; Sunday ve diğ., 2011; Thomsen ve diğ., 2013).

Okyanus asitlenmesinin deniz suyunda metallerin termodinamiği ve kinetiği üzerinde etkili olacağı düşünülmektedir. Düşük pH'ya bağlı olarak, deniz suyunda metallerin davranışlarında

ve kimyasal durumunda değişikliklere neden olacağı, bunun sonucunda da deniz canlılarında çözünmüş haldeki metalleri veya besinlere ve sedimente tutunmuş haldeki metallerin alımında değişikliklere neden olacağı tahmin edilmektedir. Bu değişiklikler metallerin deniz organizmalarında bulunabilirliğini ve toksisitesini etkileyebilir. Bu pH değişikliklerinin deniz suyunda termodinamik ve kinetik süreçleri nasıl etkileyebileceğini ayrıca merak edilmektedir.

Bununla birlikte, element biyolojik birikiminin farklı fizyolojik parametrelerini ölçmek ve farklı maruz kalma yollarının nispi önemini belirlemek için deneysel yaklaşımlar yapılması gerekmektedir (Warnau ve Bustamante, 2007). Sediment çalışmalarında elde edilen kinetik parametrelerin değişkenliği, maruziyet süresine bağlı olarak sonuçlarda değişiklikler meydana getirebilir.

KAYNAKLAR

- Abele, D., Burlando, B., Viarengo, A., Pörtner, H.O., 1998, Exposure to elevated temperature and hydrogen peroxide elicits oxidative stress and antioxidant response in the Antarctic intertidal limpet *Nacella concinna*, *Comparative biochemistry and physiology B*, 120, 425–435.
- Abele, D., Tesch, C., Wencke, P., Pörtner, H.-O., 2001, How does oxidative stress relate to thermal tolerance in the Antarctic bivalve *Yoldia eightsi*? *Antarctic Science*, 13, 111–118.
- Abele, D., Heise, K., Pörtner, H.O., Puntarulo, S., 2002, Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria*, *The journal of experimental biology*, 205, 1831–1841.
- Abril, J.M., Fraga, E., 1996, Some physical and chemical features of the variability of K_d distribution coefficients for radionuclides, *The journal of environmental radioactivity*, 30(3), 253-270.
- Adam, M., Roberts, F., Larochelle, M., Gaudreau, L., 2001, H2A.Z Is Required for Global Chromatin Integrity and for Recruitment of RNA Polymerase II under Specific Conditions, *Molecular and cellular biology*, 21, 6270-6279.
- Adiele, R.C., Stevens, D., Kamunde, C., 2011, Cadmium and calcium-mediated toxicity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss in vivo*: Interactions on fitness and mitochondrial endpoints, *Chemosphere*, 85, 1604–1613.
- Agegian, C.R., 1985, *The biogeochemical ecology of Porolithon gardineri (Foslie)*. Ph.D. Thesis. Univ. Hawaii. 178 pp.
- Allan, G.L., Maguire, G.B., 1992, Effects of pH and salinity on survival, growth and osmoregulation in *Penaeus monodon* Fabricius, *Aquaculture*, 107,33-47.
- Allan, B.J.M., Miller, G.M., McCormic, M.I., Domenici, P., Munday, P.L., 2013, Parental effects improve escape performance of juvenile reef fish in a high-CO₂ world, *Proceedings of the royal society B*, 281, 2013-2179.
- Alvarez, M.R., Friedl, F.E., 1992, Effects of a fungicide on in vitro hemocyte viability, phagocytosis and attachment in the American oyster, *Crossostrea virginica*, *Aquaculture*, 107, 135-140.
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Berthet, B., Métyer, C., 1986, Contribution to the ecotoxicological study of cadmium, lead, copper and zinc in the mussel *Mytilus edulis*, *Field studies in marine biology*, 90, 425–431.

- Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Charbonnier, L., Mesnil, A., Rainbow, P. S., Wang, W. X., 2008, Bioaccessibility of essential and non-essential metals in commercial shellfish from Western Europe and Asia, *Food and chemical toxicology*, 46(6), 2010-2022.
- Anderson, J.C., Gerbing, D.W., 1988, Structural equation modeling in practice: A review and recommended two-step approach, *Psychological bulletin*, 103(3), 411-423.
- Andersson, A.J., Mackenzie, F.T., Lerman, A., 2005, Coastal ocean and carbonate systems in the high CO₂ world of the Anthropocene, *American journal of science*, 305, 875–918.
- Andersson, A.J., Mackenzie, F.T., Bates, N.R., 2008, Life on the margin: implications of ocean acidification on Mg-calcite, high latitude and cold-water marine calcifiers, *Marine ecology progress series*, 373, 265–73.
- Anestis, A., Pörtner, H. O., Karagiannis, D., Angelidis, P., Staikou, A., Michaelidis, B., 2010, Response of *Mytilus galloprovincialis* (L.) to increasing seawater temperature and to martellosis: metabolic and physiological parameters, *Comparative biochemistry and physiology part a: molecular & integrative physiology*, 156(1), 57-66.
- Applebaum, S.L., Pan, T.C.F., Hedgecock, D., Manahan. D.T., 2014, Separating the nature and nurture of the allocation of energy in response to global change, *Integrative and comparative biology*, 54, 284–295.
- Astorga Espana, M.S., Galdon, B.R., Rodriguez-Rodriguez, E.M., Diaz, C., 2004, Mineral and trace element concentrations in seaweeds from the sub-Antarctic ecoregion of Magallanes (Chile), *Journal of food composition and analysis*, 39, 439-461.
- Auffret, M., Oubella, R., 1997, Hemocyte aggregation in the oyster *Crassostrea gigas*: In vitro measurement and experimental modulation by xenobiotics, *Comparative biochemistry and physiology part A physiology*, 118(3), 705-712.
- Augustin, L., Barbante, C., Barnes, P.R.F., Barnola, J.M., Bigler, M., Castellano, E., Cattani, O., Chappellaz, Chappellaz, J., Dahl-Jensen, D., Delmonte, B., Dreyfus, G., Durand, G., Falourd, S., Fischer, H., Flückiger, J., Hansson, M.E., Huybrechts, P., Jugie, G., Johnsen, S.J., Jouzel, J., Kaufmann, P., Kipfstuhl, J., Lambert, F., Lipenkov, V.Y., Littot, G.C., Longinelli, A., Lorrain, R., Maggi, V., Masson-Delmotte, V., Miller, H., Mulvaney, R., Oerlemans, J., Oerter, H., Orombelli, G., Parrenin, F., Peel, D.A., Petit, J.R., Raynaud, D., Ritz, C., Ruth, U., Schwander, J., Siegenthaler, U., Souchez, R., Stauffe, B., Steffensen, J.P., Stenni, B., Stocker, T.F., Tabacco, I.E., Udist, R., van de Wal, R.S.V., van den Broeke, M., Weiss, J., Wilhelms, F., Winther, J.G., Wolff, E.W., Zucchelli, M., 2004, Eight glacial cycles from an Antarctic ice core, *Nature*, 429, 623-628.
- Bach, L.T., 2015, Reconsidering the role of carbonate ion concentration in calcification by marine organisms, *Biogeosciences*, 12,4939–4951.

- Bailly du Bois, P., Dumas, F., Solier, L., Voiseux, C., 2011, In-situ database toolbox for short-term dispersion model validation in macro-tidal seas, application for 2D-model, *Continental shelf research*, 36, 63-82.
- Bamber, R.N., 1987, The effects of acids seawater on young carpet-shell clams *Venerupis decussata* (L.) (Mollusca: Veneracea), *Journal of experimental marine biology and ecology*, 108,241–260.
- Bamber, R.N., 1990, The effects of acidic seawater on three species of lamellibranch mollusc, *Journal of experimental marine biology and ecology*,143, 181–191.
- Batten, S.D., Bamber, R.N., 1996, The effects of acidification fied seawater on the polychaete *Nereis virens* Sars, 1935, *Marine pollution bulletin*, 32, 283.
- Baumann, H., Talmage, S.C., Gobler, C.J., 2012, Reduced early life growth and survival in a fish in direct response to increased carbon dioxide, *Nature climate change*, 2, 38-41.
- Bebianno, M.J., Langston, W.J., 1992a, Cadmium induction of metallothionin synthesis in *Mytilus galloprovincialis*, *Comparative biochemistry and physiology*, 103, 79-85.
- Bebianno, M.J., Langston, W.J., 1992b, Metallothionein induction in *Littorina littorea* (Mollusca, Prosobranchia) on exposure to cadmium, *Journal of the marine biological association of the United Kingdom*, 72, 329-42.
- Beesley, A., Lowe, D.M., Pascoe, C.K., Widdicombe, S., 2008, Effects of CO₂-induced seawater acidification on the health of *Mytilus edulis*, *Climate research*, 37, 215–225.
- Bechmann, R. K., Taban, I. C., Westerlund, S., Godal, B. F., Arnberg, M., Vingen, S., Ingvarsdottir, A., Baussant, T., 2011, Effects of ocean acidification on early life stages of shrimp (*Pandalus borealis*) and mussel (*Mytilus edulis*), *Journal of toxicology and environmental health, part A*, 74(7-9), 424-438.
- Belivermiş, M., Warnau, M., Metian, M., Oberhänsli, F., Teyssié, J.-L., Lacoue-Labarthe, T., 2016, Limited effects of increased CO₂ and temperature on metal and radionuclide bioaccumulation in a sessile invertebrate, the oyster *Crassostrea gigas*, *ICES journal of marine science*,73 (3), 753–763.
- Beniash, E., Aizenberg, J., Addadi, L., Weiner, S., 1997, Amorphous calcium carbonate transforms into calcite during sea urchin larval spicule growth, *Proceedings of the royal society B: biological sciences*, 264, 461-465.
- Beniash, E., Ivanina, A., Lieb, N. S., Kurochkin, I., Sokolova, I. M., 2010, Elevated level of carbon dioxide affects metabolism and Shell formation in oysters *Crassostrea virginica*, *Marine ecology progress series*, 419, 95–108.

- Berelson, W. M., Balch, W. M., Najjar, R., Feely, R. A., Sabine, C., Lee, K., 2007, Relating estimates of CaCO_3 production, export, and dissolution in the water column to measurements of CaCO_3 rain into sediment traps and dissolution on the sea floor: A revised global carbonate budget, *Global biogeochemical cycles*, 21(1).
- Beresford, N.A., Crout, N.M.J., Mayes, R.W., Howard, B.J., Lamb, C.S., 1998, Dynamic distribution of radioisotopes of cerium, ruthenium and silver in sheep tissues, *Journal of environmental radioactivity*, 38, 317-338
- Berge, J.A., Bjerkeng, B., Pettersen, O., Schaanning, M.T., Oxnevad, S., 2006, Effects of increased sea water concentrations of CO_2 on growth of the bivalve *Mytilus edulis* L. *Chemosphere*, 62, 681–687.
- Bianchi, V. A., Langeloh, H., Tillmann, U., Krock, B., Müller, A., Bickmeyer, U., Abele, D., 2019, Separate and combined effects of neurotoxic and lytic compounds of *Alexandrium* strains on *Mytilus edulis* feeding activity and hemocyte function, *Fish & shellfish immunology*, 84, 414-422.
- Bibby, R., Widdicombe, S., Parry, H., Spicer, J., Pipe, R., 2008, Effects of ocean acidification on the immune response of the blue mussel *Mytilus edulis*, *Aquatic toxicology*, 2, 67–74.
- Bibby, R., Cleall-Harding, P., Rundle, S., Widdicombe, S., Spicer, J., 2007, Ocean acidification disrupts induced defenses in the intertidal gastropod *Littorina littorea*, *Biology letters*, 3, 699–701.
- Bielmyer, G.K., Brix, K.V., Capo, T.R., Grosell, M., 2005, The effects of metals on embryonal larval and adult life stages of the sea urchin *Diadema antillarum*, *Aquatic toxicology*, 74, 254–263.
- Bielmyer-Fraser, G.K., Jarvis, T.A., Lenihan, H.S., Miller, R.J., 2014, Cellular partitioning of nanoparticulate versus dissolved metals in marine phytoplankton, *Environmental science and technology*, 48, 13443.
- Blue, C. R., Giuffre, A., Mergelsberg, S., Han, N., De Yoreo, J. J., Dove, P. M., 2017, Chemical and physical controls on the transformation of amorphous calcium carbonate into crystalline CaCO_3 polymorphs, *Geochimica et cosmochimica acta*, 196, 179-196.
- Boisson, F., Hartl, M. G., Fowler, S. W., Amiard-Triquet, C., 1998, Influence of chronic exposure to silver and mercury in the field on the bioaccumulation potential of the bivalve *Macoma balthica*, *Marine environmental research*, 45(4-5), 325-340.
- Bonnard, M., Romeo, M., Amiard-Triquet, C., 2009, Effects of copper on the burrowing behavior of estuarine and coastal invertebrates, the polychaete *Nereis diversicolor* and the bivalve *Scrobicularia plana*, *Human and ecological risk assessment*, 15, 11–26.

- Bopp, L., Resplandy, L., Orr, J. C., Doney, S. C., Dunne, J. P., Gehlen, M., Halloran, P., Heinze, C., Ilyana, T., Seferian, R., Tjiputra, J., Vichi, M., 2013, Multiple stressors of ocean ecosystems in the 21st century: projections with CMIP5 models, *Biogeosciences*, 10, 6225-6245.
- Borchardt, T. H., 1983, Influence of food quantity on the kinetics of cadmium uptake and loss via food and seawater in *Mytilus edulis*, *Marine biology*, 76(1), 67-76.
- Borowitzka, M.A., 1981, Photosynthesis and calcification in the articulated coralline red algae *Amphiroa anceps* and *Amphiroa foliacea*, *Marine biology*, 62,17–23.
- Borretzen, P., Salbu, B., 2009, Bioavailability of sediment-associated and low-molecular-mass species of radionuclides/trace metals to the mussel *Mytilus edulis*, *Journal of environmental radioactivity*, 100(4), 333.
- Boyle, E. A., Sclater, F., Edmond, J. M., 1976, On the marine geochemistry of cadmium, *Nature*, 263(5572), 42.
- Bradford, M. M., 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Bramanti, L., Movilla, J., Guron, M., Calvo, E., Gori, A., Dominguez-Carrio, C., Griny, J., López-Sanz, A., Martínez-Quintana, A., Pelejero, C., Ziveri, P., Rossi, S., 2013, Detrimental effects of ocean acidification on the economically important Mediterranean red coral (*Corallium rubrum*), *Global change biology*, 19, 1897-1908.
- Broecker, W. S., Takahashi, T., Simpson, H. J., Peng, T. H., 1979, Fate of fossil fuel carbon dioxide and the global carbon budget, *Science*, 206(4417), 409-418.
- Broecker, W.S., 2003, The oceanic CaCO₃ cycle, In *The Oceans and Marine Geochemistry, Treatise on Geochemistry*, ed. H Elderfield, pp. 529–49. London: Elsevier.
- Brown, C. H., 1952, Some structural proteins of *Mytilus edulis*, *Journal of cell science*, 3(24), 487-502.
- Bruland, K.W., Donat, J.R., Hutchins, D.A., 1991, Interactive influences of bioactive trace metals on biological production in oceanic waters, *Limnology and oceanography* 36, 1555–1577.
- Bryan, G.W., Langston, W.J., 1992, Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review, *Environmental pollution*, 76, 89–131.
- Buesseler, K.O., Jayne, S.R., Fisher, N.S., Rypia, I., Baumann, H., Baumann, Z., Brier, C.F., Douglass, E.M., George, J., Macdonald, A.M., Miyamoto, H., Nishikawa, J., Pike, S.M., Yoshida, S., 2012, Fukushima-derived radionuclides in the ocean and biota off Japan, *Proceedings of the national academy of sciences*, 109, 5984-5988.

- Bustamante, P., Teyssié, J.-L., Fowler, S. W., Warnau, M., 2006, Contrasting bioaccumulation and transport behaviour of two artificial radionuclides (^{241}Am and ^{134}Cs) in cuttlefish eggshell, *Vie Milieu*, 56, 153-156.
- Byrne, R.H., 2002, Inorganic speciation of dissolved elements in seawater: the influence of pH on concentration ratios, *Geochemical transactions*, 2, 11–16.
- Cagan, R.H., Zeiger, W.N., 1978, Biochemical studies of olfaction: Binding specificity of radioactively labeled stimuli to an isolated olfactory preparation from rainbow trout *Salmo gairdneri*, *Proceedings of the national academy of sciences*, 75, 4679–4683.
- Cai, W. J., Hu, X., Huang, W. J., Murrell, M. C., Lehrter, J. C., Lohrenz, S. E., Zhao, P., 2011, Acidification of subsurface coastal waters enhanced by eutrophication, *Nature geoscience*, 4(11), 766.
- Cai, W. J., Reimers, C. E., 1993, The development of pH and $p\text{CO}_2$ microelectrodes for studying the carbonate chemistry of pore waters near the sediment-water interface, *Limnology and oceanography*, 38(8), 1762-1773.
- Cajaraville, M.P., Olabarrieta, I., Marigomez, I., 1996, In vitro activities in mussel haemocytes as biomarkers of environmental quality: a case study in the Abra Estuary (Biscay Bay), *Ecotoxicology and environmental safety*, 35(3), 253–260.
- Calabrese, A., Collier, R. S., Nelson, D. A., MacInnes, J. R., 1973, The toxicity of heavy metals to embryos of the American oyster *Crassostrea virginica*, *Marine biology*, 18(3), 162-166.
- Caldeira, K., Wickett, M.E., 2003, Anthropogenic carbon and ocean pH, *Nature*, 425,365–365.
- Caldeira, K., Wickett, M., 2005, Oceanmodel predictions of chemistry changes from carbon dioxide emissions to the atmosphere and ocean, *Journal of geophysical research*, 110C, 1–12.
- Caldeira, K., Archer, D., Barry, J. P., Bellerby, R. G., Brewer, P. G., Cao, L., Feely, R. A., 2007, Comment on “Modern-age build up of CO_2 and its effects on seawater acidity and salinity” by Hugo A. Loáiciga, *Geophysical research letters*, 34(18).
- Calosi, P., Rastrick, S.P.S., Lombardi, C., de Guzman, H.J., Davidson, L., Jahnke, M., Giangrande, A., Hardege, J.D., Schulze, A., Spicer, J.I., Gambi, M.C., 2013, Adaptation and acclimatization to ocean acidification in marine ectotherms: an in situ transplant experiment with polychaetes at a shallow CO_2 vent system, *Philosophical transactions of the royal society B*, 368,20120444.
- Carroll, J., Harms, I.H., 1999, Uncertainty analysis of partition coefficients in a radionuclide transport model, *Water research*, 33(11), 2617-2626.

- Carroll, J., Boisson, F., Teyssie, J. L., King, S. E., Krosshavn, M., Carroll, M. L., Fowler, S.W., Povinec, P.P., Baxter, M. S., 1999, Distribution coefficients (K_d 's) for use in risk assessment models of the Kara Sea, *Applied radiation and isotopes*, 51(1), 121-129.
- Carvalho, F. P., Fowler, S. W., 1985, Biokinetics of plutonium, americium and californium in the marine isopod *Cirolana borealis*, with observations on its feeding and molting behavior, *Marine biology*, 89(2), 173-181.
- Carvalho, F.P., Fowler, S., 1993, An experimental study on the bioaccumulation and turn over of polonium-210 and lead-210 in marine shrimp, *Marine ecology progress series*, 102, 125-133.
- Carvalho, F.P., Fowler, S.W., 1994, A double-tracer technique to determine the relative importance of water and food as sources of polonium-210 to marine prawns and fish, *Marine ecology progress series*, 103, 251-264.
- Campbell, P.G.C., Lewis, A.G., Chapman, P.M., Crowder, A.A., Fletcher, W.K., Imber, B., Luoma, S.N., Stokes, P.M., Winfrey, M., 1988, Biologically Available Metals in Sediment, National Research Council of Canada, Ottawa, Publ no. NRCC 27694.
- Campbell, A.L., Mangan, S., Ellis, R.P., Lewis, C., 2014, Ocean acidification increases copper toxicity to the early life-history stages of the polychaete *Arenicola marina* in artificial seawater, *Environmental science & technology*, 48, 9745-9753.
- Catarino, A.I., Bauwens, M., Dubois, P., 2012, Acid-base balance and metabolic response of the sea urchin *Paracentrotus lividus* to different seawater pH and temperatures, *Environmental science and pollution research*, 19, 2344-2353.
- Cherkasov, A.S., Biswas, P.K., Ridings, D.M., Ringwood, A.H., Sokolova, I.M., 2006, Effects of acclimation temperature and cadmium exposure on cellular energy budgets in a marine mollusk *Crassostrea virginica*: linking cellular and mitochondrial responses, *The journal of experimental biology*, 209, 1274-1284.
- Chen, S.M., Chen, J.C., 2003, Effects of pH on survival, growth, molting and feeding of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*, *Aquaculture*, 218,613-623
- Cheng, T.C., 1981, Bivalves. In: Ratcliffe NA, Rowley AF (ed) *Invertebrate blood cells* 1. Academic Press, London, pp 233-300.
- Cheng, K.M., Hu, C.Q., Liu, Y.N., Zheng, S.X., Qi, X.J., 2006, Effects of dietary calcium, phosphorus and calcium/phosphorus ratio on the growth and tissue mineralization of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water, *Aquaculture*, 251,472-483.
- Cherry, R. D., Heyraud, M., James, A. G., 1989, Diet prediction in common clupeoid fish using polonium-210 data, *Journal of environmental radioactivity*, 10(1), 47-65.

- Chino, M., Nakayama, H., Nagai, H., Terada, H., Katata, G., Yamazawa, H., 2011, Preliminary estimation of release amounts of ^{131}I and ^{137}Cs accidentally discharged from the Fukushima Daiichi nuclear power plant into the atmosphere, *Journal of nuclear science and technology*, 48(7), 1129-1134.
- Chopin, E. I. B., Marin, B., Mkoungafoko, R., Rigaux, A., Hopgood, M. J., Delannoy, E., Cances, B., Laurain, M., 2008, Factors affecting distribution and mobility of trace elements (Cu, Pb, Zn) in a perennial grapevine (*Vitis vinifera* L.) in the Champagne region of France, *Environmental pollution*, 156(3), 1092-1098.
- Chouvelon, T., Warnau, M., Churlaud, C., Bustamante, P., 2009, Hg concentration and related risk assessment in coral reef crustaceans, molluscs and fish from New Caledonia, *Environmental pollution*, 157, 331–340.
- Cima, F., Marin, M.G., Matozzo, V., DaRos, L., Ballarin, L., 1998, Immunotoxic effects of organotin compounds in *Tapes philippinarum*, *Chemosphere*, 37, 3035–3045.
- Cima, F., Marin, M.G., Matozzo, V., Da Ros, L., Ballarin, L., 1999, Biomarkers for TBT immunotoxicity studies on the cultivated clam *Tapes philippinarum* (Adams and Reeve, 1850), *Marine pollution bulletin*, 39, 112–115
- Claiborne, J.B., Edwards, S.L., Morrison-Shetlar, A.I., 2002, Acid-base regulation in fishes: Cellular and molecular mechanisms, *Journal of experimental zoology*, 293, 302–319.
- Clarke, L., Lurz, J., Wise, M., Edmonds, J., Kim, S., Smith, S., Pitcher, H., 2007, Model documentation for the minicam climate change science program stabilization scenarios: Ccsp product 2.1 a, Pacific Northwest National Laboratory, PNNL-16735.
- Clements, J.C., Hunt, H.L., 2014, Influence of sediment acidification and water flow on sediment acceptance and dispersal of juvenile soft-shell clams (*Mya arenaria* L.). *Journal of experimental marine biology and ecology*, 453, 62–69.
- Clements, J.C., 2016, Meta-analysis reveals taxon- and life stage dependent effects of ocean acidification on marine calcifier feeding performance, *bioRxiv*, 066076.
- Cole, V.J., Parker, L.M., O'Connor, S.J., O'Connor, W.A., Scanes, E., Byrne, M., Ross, P.M., 2016, Effects of multiple climate change stressors: ocean acidification interacts with warming, hyposalinity, and low food supply on the larvae of the brooding flat oyster *Ostrea angasi*, *Marine biology*, 163, 125.
- Coleman, N., Mann, T. F., Mobley, M., Hickman, N., 1986, *Mytilus edulis* planulatus: an “integrator” of cadmium pollution?, *Marine biology*, 92(1), 1-5.
- Coles, J.A., Farley, S.R., Pipe, R.K., 1995, Alteration of immune response of the common marine mussel *Mytilus edulis* resulting from exposure to cadmium, *Diseases of aquatic organisms*, 22, 59–65.

- Coma, R., Ribes, M., Serrano, E., Jiménez, E., Salat, J., Pascual, J., 2009, Global warming-enhanced stratification and mass mortality events in the Mediterranean, *Proceedings of the national academy of sciences*, 106(15), 6176-6181.
- Comeau, S., Gorsky, G., Alliouane, S., Gattuso, J.-P., 2010, Larvae of the pteropod *Cavolinia inflexa* exposed to aragonite undersaturation are viable but shell-less, *Marine biology*, 157, 2341-2345.
- Cooley, S.R., Kite-Powell, H.L., Doney, S.C., 2009, Ocean acidification's potential to alter global marine ecosystem services, *Oceanography*, 22, 172–181.
- Coteur, G., Gillan, D., Pernet, P., Dubois, P., 2005, Alteration of cellular immune responses in the seastar *Asterias rubens* following dietary exposure to cadmium, *Aquatic toxicology*, 73, 418–421.
- Cox, T.E., Schenone, S., Delille, J., Díaz-Castañeda, V., Alliouane, S., Gattuso, J.-P., Gazeau, F., 2015, Effects of ocean acidification on *Posidonia oceanica* epiphytic community and shoot productivity, *Journal of ecology*, doi: 10.1111/1365-2745.12477.
- Cresswell, T., Simpson, S. L., Smith, R. E., Nugegoda, D., Mazumder, D., Twining, J., 2014, Bioaccumulation and retention kinetics of cadmium in the freshwater decapod *Macrobrachium australiense*, *Aquatic toxicology*, 148, 174-183.
- Crist, R.H., Oberholser, K., Schwartz, D., Marzoff, J., Ryder, D., Crist, D.R., 1988, Interactions of metals and protons with algae, *Environmental science and technology*, 22, 755–760.
- Çağlar, O., Çayır, A., 2018, Total circulating cell-free miRNA in plasma as a predictive biomarker of the thyroid diseases, *Journal of cellular biochemistry*, 120, 9016-9022.
- Dailianis, S., Kaloyianni, M., 2004, Cadmium induces both pyruvate kinase and Na⁺/H⁺-exchanger activity through protein kinase C mediated signal transduction, in isolated digestive gland cells of *Mytilus galloprovincialis* (L.), *The journal experimental biology*, 207, 1665–1674.
- Dahlke, F. T., Leo, E., Mark, F. C., Pörtner, H. O., Bickmeyer, U., Frickenhaus, S., Storch, D., 2017, Effects of ocean acidification increase embryonic sensitivity to thermal extremes in Atlantic cod, *Gadus morhua*, *Global change biology*, 23(4), 1499-1510.
- Dashfield, S.L., Somerfield, P., Widdicombe, S., Austen, M.C., Nimmo, M., 2008, Impacts of ocean acidification and burrowing urchins on within-sediment pH profiles and subtidal nematode communities, *Journal of experimental marine biology and ecology*, 365, 46–52.
- Decho, A.W., Luoma, S.N., 1991, Time course in the retention of food material in the bivalves *Potamocorbula amurensis* and *Macoama balthica*: significance to the absorption of carbon and chromium, *Marine ecology progress series*, 78, 303–314.

- Deigweiher, K., Hirse, T., Bock, C., Lucassen, M., Pörtner, H., 2009, Hypercapnia induced shifts in gill energy budgets of Antarctic notothenioids. *Journal of comparative physiology B: biochemical, systemic, and environmental physiology*, 180, 347–359.
- de Orte, M. R., Sarmiento, A. M., Basallote, M. D., Rodríguez-Romero, A., Riba, I., 2014, Effects on the mobility of metals from acidification caused by possible CO₂ leakage from sub-seabed geological formations, *Science of the total environment*, 470, 356–363.
- Dickson, A.G., Sabine, C.L., Christian, J.R., 2007, Guide to Best Practices for Ocean CO₂ Measurements.
- Dickinson, G.H., Matoo, O.B., Tourek, R.T., Sokolova, I.M., Beniash, E., 2013, Environmental salinity modulates the effects of elevated CO₂ levels on juvenile hard shell clams *Mercenaria mercenaria*. *Journal of experimental biology*, 216, 2607–2618.
- Dickinson, G.H., Ivanina, A.V., Matoo, O.B., Pörtner, H.O., Lannig, G., Bock, C., Beniash, E., Sokolova, I.M., 2012, Interactive effects of salinity and elevated CO₂ levels on juvenile eastern oysters, *Crassostrea virginica*. *The journal of experimental biology*, 215, 29–43.
- Dissanayake, A., Ishimatsu, A., 2011, Synergistic effects of elevated CO₂ and temperature on the metabolic scope and activity in a shallow-water coastal decapod (*Metapenaeus joyneri*; Crustacea: Penaeidae). *ICES Journal of marine science*, 68, 1147–1154.
- Doney, S. C., Schimel, D. S., 2007, Carbon and climate system coupling on timescales from the Precambrian to the Anthropocene, *Annual review of environment and resources*, 32, 31–66.
- Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A., Kleypas, J., 2009, Ocean acidification: the other CO₂ problem, *Annual review of marine science*, 1, 169–192.
- Dorey, N., Lançon, P., Thorndyke, M., Dupont, S., 2013, Assessing physiological tipping point of sea urchin larvae exposed to a broad range of pH, *Global change biology*, 19, 3355–3367.
- Dove, M.C., Sammut, J., 2007, Impacts of estuarine acidification on survival and growth of Sydney rock oysters *Saccostrea glomerata* (Gould 1850). *Journal of shellfish research*, 26, 519–527.
- Du Bois, P. B., Laguionie, P., Boust, D., Korsakissok, I., Didier, D., Fiévet, B., 2012, Estimation of marine source-term following Fukushima Dai-ichi accident, *Journal of environmental radioactivity*, 114, 2–9.
- Dunn, M.R., 1999, Aspects of the stock dynamics and exploitation of cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758), in the English Channel, *Fisheries research*, 40, 277–293.

- Dupont, S., Havenhand, J., Thorndyke, W., Peck, L., Thorndyke, M., 2008, Near-future level of CO₂-driven ocean acidification radically affects larval survival and development in the brittlestar *Ophiothrix fragilis*, *Marine ecology progress series*, 373, 285–294
- Dupont, S., Ortega-Martinez, O., Thorndyke, M., 2010, Impact of near-future ocean acidification on echinoderms, *Ecotoxicology*, 19, 449–462.
- Dupont, S., Thorndyke, M., 2012, Relationship between CO₂-driven changes in extracellular acid–base balance and cellular immune response in two polar echinoderm species, *Journal of experimental marine biology and ecology*, 424, 32–37.
- Eberlee, J.C., Storey, K.B., 1984, Buffering capacities of the tissues of marine molluscs, *Physiological Zoology*, 57, 567–572.
- Elprince, A. M., 1978, Effect of pH on the adsorption of trace radioactive cesium by sediments, *Water resources research*, 14(4), 696–698.
- Erdner, D. L., Dyble, J., Parsons, M. L., Stevens, R. C., Hubbard, K. A., Wrabel, M. L., Moore, S.K., Lefebvre, K.A., Anderson, D.M., Bienfang, P., Bidigare, R. R., Parker, M.S., Moeller, P., Brand, L.E., Trainer, V.L., 2008, Centers for Oceans and Human Health: a unified approach to the challenge of harmful algal blooms, In *Environmental Health* (Vol. 7, No. 2, p. S2). BioMed Central.
- Esbaugh, A. J., Heuer, R., Grosell, M., 2012, Impacts of ocean acidification on respiratory gas exchange and acid–base balance in a marine teleost, *Opsanus beta*, *Journal of comparative physiology B*, 182(7), 921–934.
- Fabry, V.J., 1990, Shell growth rates of pteropod and heteropod mollusks and aragonite production in the open ocean—implications for the marine carbonate system, *Journal of marine research*, 48, 209–22
- Fabry, V. J., Seibel, B. A., Feely, R. A., Orr, J. C., 2008, Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes, *ICES Journal of marine science*, 65, 414–432.
- Fabry, V.J., 2008, Marine calcifiers in a high-CO₂ ocean, *Science*, 320, 1020–1022.
- Feely, R.A., Chen, C.T.A., 1982, The effect of excess CO₂ on the calculated calcite and aragonite saturation horizons in the northeast Pacific, *Geophysical research letters*, 9, 1294–97.
- Feely, R.A., Byrne, R.H., Acker, J.G., Betzer, P.R., Chen, C.T.A., Gendron, J.F., Lamb, M.F., 1988, Winter summer variations of calcite and aragonite saturation in the northeast Pacific, *Marine chemistry*, 25, 227–41.
- Feely, R.A., Sabine, C.L., Lee, K., Berelson, W., Kleypas, J., Fabry, J.V., Millero, F.J., 2004, Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans, *Science*, 305, 362–366.

- Feely, R.A., Sabine, C.L., Hernandez-Ayon, J.M., Ianson, D., Hales, B., 2008, Evidence for upwelling of corrosive “acidified” water onto the continental shelf, *Science*, 320, 1490–1492.
- Fegan, M., Currihan, L., Dowdall, A., Hanley, O., Hayden, E., Kelleher, K., Long, S., McKittrick, L., Somerville, S., Wong, J., Pollard, D., 2010, Radioactivity Monitoring of the Irish Environment 2008. RPII 01/10, Radiological Protection Institute of Ireland, Dublin.
- Fisher, P., Abrahart, R. J., Herbinger, W., 1997, The sensitivity of two distributed non-point source pollution models to the spatial arrangement of the landscape, *Hydrological processes*, 11(3), 241-252.
- Fitzer, S.C., Caldwell, G.S., Clare, A.S., Upstill-Goddard, R.C., Bentley, M.G., 2013, Response of copepods to elevated $p\text{CO}_2$ and environmental copper as co-stressors: A multigenerational study, *PLoS ONE*, 8, e71257.
- Form, A. U., Riebesell, U., 2012, Acclimation to ocean acidification during long-term CO_2 exposure in the cold-water coral *Lophelia pertusa*, *Global change biology*, 18(3), 843-853.
- Fowler, S.W., Oregioni, B., 1976, Trace metals in mussels from the N.W. Mediterranean, *Marine pollution bulletin*, 7, 26–29.
- Fraser, K.P., Rogers, A., 2007, Protein metabolism in marine animals: The underlying mechanism of growth, *Advances in marine biology*, 51, 267–363.
- Friedlander, B.R., Gochfeld, M., Burger, J., Powers, C.W., 2005, Radionuclides in the marine environment: a CRESO science review. In: Consortium for Risk Evaluation with Stakeholder Participation, pp. 95 Nashville, TN.
- Fries, G.R., Tripp, M.R., 1980, Depression of phagocytosis in *Mercenaria* following chemical stress, *Developmental & comparative immunology*, 4, 233–244
- Fukuda, T., Kino, Y., Abe, Y., Yamashiro, H., Kuwahara, Y., Nihei, H., Sano, Y., Irisawa, A., Shimura, T., Fukumoto, M., Shinoda, H., Obata, Y., Saigusa, S., Sekine, T., Isogai, E., Fukumoto, M., 2013, Distribution of artificial radionuclides in abandoned cattle in the evacuation zone of the Fukushima Daiichi nuclear power plant, *PLoS one*, 8(1), e54312.
- Garnier-Laplace, J., Baudin, J. P., Foulquier, L., 1992, Experimental study of $^{110\text{m}}\text{Ag}$ transfer from sediment to biota in a simplified freshwater ecosystem, In *Sediment/Water Interactions* (pp. 393-406), Springer, Dordrecht.
- Gattuso, J.P., Frankignoulle, M., Bourge, I., Romaine, S., Buddemeier, R.W., 1998, Effect of calcium carbonate saturation of seawater on coral calcification, *Global and planetary change*, 18, 37–46.

- Gattuso, J.-P., Brewer, P.G., Hoegh-Guldberg, O., Kleypas, J.A., Pörtner, H.O., Schmidt, D.N., 2014, Cross-chapter Box on Ocean Acidification. Pp. OA1–oa3 in Climate Change.
- Gazeau, F., Gattuso, J.-P., Greaves, M., Elderfield, H., Peene, J., Heip, C. H. R., and Middelburg, J. J., 2011, Effect of carbonate chemistry alteration on the early embryonic development of the pacific oyster (*Crassostrea gigas*), *PLoS ONE*, 6: e23010.
- Gazeau, F., Gattuso, J.P., Dawber, C., Pronker, A.E., Peene, F., Peene, J., Heip, C.H.R., Middelburg, J.J., 2010, Effect of ocean acidification on the early life stages of the blue mussel *Mytilus edulis*, *Biogeosciences*, 7, 2051–2060.
- Gazeau, F., Quiblier, C., Jansen, J.M., Gattuso, J.P., Middelburg, J.J., Heip, C.H.R., 2007, Impact of elevated CO₂ on shellfish calcification, *Geophysical research letters*, 34, L07603, doi:10.1029/2006GL028554.
- Gazeau, F., Parker, L.M., Comeau, S., Gattuso, J.-P., O'Connor, W.A., Martin, S., Pörtner, H.-O., Ross, M.P., 2013, Impacts of ocean acidification on marine shelled molluscs, *Marine biology*, 160, 2207–2245.
- Gazeau, F., Alliouane, S., Bock, C., Bramanti, L., Correa, M.L., Gentile, M., Hirse, T., Pörtner, H.O., Ziveri, P., 2014, Impact of ocean acidification and warming on the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*), *Frontiers in marine science*, 1, 1–12.
- Giari, L., Manera, M., Simoni, E., Dezfuli, B.S., 2007, Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to cadmium, *Chemosphere*, 67, 1171–1181.
- Gómez-Mendikute, A., Cajaraville, M.P., 2003, Comparative effects of cadmium, copper, paraquat and benzo[a]pyrene on the actin cytoskeleton and production of reactive oxygen species (ROS) in mussel haemocytes, *Toxicology in Vitro*, 17, 539–546.
- Gooding, R.A., Harley, C.D.G., Tang, E., 2009, Elevated water temperature and carbon dioxide concentration increase the growth of a keystone echinoderm, *Proceedings of the national academy of sciences*, 106, 9316–9321.
- Goldberg, E.D., Koide, M., Hodge, V., Flegal, A.R., Martin, J.H., 1983, U.S. Mussel Watch: 1977–1978 results on trace metals and radionuclides, *Estuarine, coastal and shelf science*, 16, 69–93.
- Götze, S., Matoo, O. B., Beniash, E., Saborowski, R., and Sokolova, I. M., 2014, Interactive effects of CO₂ and trace metals on the proteasome activity and cellular stress response of marine bivalves *Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*, *Aquatic toxicology*, 149, 65–82.
- Gran, G., 1952, Determination of the equivalence point in potentiometric titrations, Part II, *Analyst*, 77(920), 661–671.

- Green, M.A., Jones, M.E., Boudreau, C.L., Moore, R.L., Westman, B.A., 2004, Dissolution mortality of juvenile bivalves in coastal marine deposits, *Limnology and oceanography*, 49, 727–734.
- Green, M. A., Waldbusser, G. G., Reilly, S. L., Emerson, K., O’Donnella, S., 2009, Death by dissolution: sediment saturation state as a mortality factor for juvenile bivalves, *Limnology and oceanography*, 54, 1037–1047.
- Grundy, M.M., Moore, M.N., Howell, S.M., Ratcliffe, N.A., 1996, Phagocytic reduction and effects on lysosomal membranes by polycyclic aromatic hydrocarbons, in haemocytes of *Mytilus edulis*, *Aquatic toxicology*, 34, 273–290.
- Guay, C., Regazzi, R., 2013, Circulating microRNAs as novel biomarkers for diabetes mellitus, *Nature reviews endocrinology*, 9(9), 513.
- Gutowska, M.A., Melzner, F., Langenbuch, M., Bock, C., Claireaux, G., Pörtner, H.O., 2010, Acid-base regulatory ability of the cephalopod *Sepia officinalis* in response to environmental hypercapnia, *Journal of comparative physiology b-biochemical systemic and environmental physiology*, 180, 323–335.
- Güngör, N., Tuğrul, B., Topcuoğlu, S., Güngör, E., 2001, Experimental studies on the biokinetics of Cs-134 and Am-241 in mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Environment international*, 27, 259–264
- Hales, B., Emerson, S., Archer, D., 1994, Respiration and dissolution in the sediments of the western North Atlantic: estimates from models of in situ microelectrode measurements of porewater oxygen and pH, *Deep sea research part I: oceanographic research papers*, 41(4), 695-719.
- Hall-Spencer, J.M., Rodolfo-Metalpa, R., Martin, S., Ransome, E., Fine, M., Turner, S.M., Rowley, S.J., Tedesco, D., Buia, M.C., 2008, Volcanic carbon dioxide vents show ecosystem effects of ocean acidification, *Nature*, 454, 96–99.
- Hall-Spencer, J.M., Allen, R., 2015, The impact of ocean acidification on “nuisance” species, *Research and reports in biodiversity studies*, 4, 33-46.
- Hammond, K. S., Hollows, J. W., Townsend, C. R., Lokman, P. M., 2006, Effects of temperature and water calcium concentration on growth, survival and moulting of freshwater crayfish, *Paranephrops zealandicus*, *Aquaculture*, 251(2-4), 271-279.
- Han, Z. X., Wu, D. D., Wu, J., Lv, C. X., Liu, Y. R., 2014, Effects of ocean acidification on toxicity of heavy metals in the bivalve *Mytilus edulis* L. *Synthesis and reactivity in inorganic, metal-organic, and nano-metal chemistry*, 44(1), 133-139.
- Handy, R.D., 2003, Chronic effects of copper exposure versus endocrine toxicity: Two sides of the same toxicological process? *Comparative biochemistry and physiology-part A: molecular & integrative physiology*, 135, 25.

- Harley, C.D.G., Hughes, A.R., Hultgren, K.M., Miner, B.G., Sorte, C.J.B., Thornber, C.S., Rodriguez, L.F., Tomanek, L., Williams, S.L., 2006, The impacts of climate change in coastal marine systems, *Ecology letters*, 9, 228–241.
- Harrison, P.J.H., Cate, H.S., Steullet, P., Derby, C.D., 2001, Structural plasticity in the olfactory system of adult spiny lobsters: post-embryonic development permits lifelong growth, turnover and regeneration, *Marine and freshwater research*, 52, 1357–1365.
- Hartnoll, R., 2001, Growth in Crustacea – twenty years on, *Hydrobiologia*, 449, 111–122.
- Harvey, R. W., Luoma, S. N., 1985, Effect of adherent bacteria and bacterial extracellular polymers upon assimilation by *Macoma balthica* of sediment-bound Cd, Zn and Ag, *Marine ecology progress series*, 22(3), 281–289.
- Harvey, B.P., Gwynn-Jones, D., Moore, P.J., 2013, Meta-analysis reveals complex marine biological responses to the interactive effects of ocean acidification and warming, *Ecology and evolution*, 3, 1016–1030.
- Harvey, B.P., Al-Janabi, B., Broszeit, S., Cioffi, R., Kumar, A., Aranguren-Gassis, M., Bailey, A., Green, L., Gsottbauer, C.M., Hall, E.F., Lechler, M., Mancuso, F.P., Pereira, C.O., Ricevuto, E., Schram, J.B., Stapp, L.S., Stenberg, S., Rosa, L.T.S., 2014, Evolution of marine organisms under climate change at different levels of biological organisation, *Water*, 6, 3545–3574.
- Hattink, J., Boeck, G.D., Blust, R., 2005, The toxicokinetics of cadmium in carp under normoxic and hypoxic conditions, *Aquatic toxicology*, 75, 1–15.
- Hattink, J., De Boeck, G., Blust, R., 2006, Toxicity, accumulation, and retention of zinc by carp under normoxic and hypoxic conditions, *Environmental toxicology and chemistry*, 25, 89–96.
- Hawkins, C., Sokolova, I., 2017, Effects of elevated CO₂ levels on subcellular distribution of trace metals (Cd and Cu) in marine bivalves, *Aquatic toxicology*, 192, 251–264.
- Hedouin, L., Metian, M., Teyssie', J.-L., Fowler, S.W., Fichez, R., Warnau, M., 2006, Allometric relationships in the bioconcentration of heavy metals by the edible tropical clam *Gafrarium tumidum*, *Science of the total environment*, 366, 154–163.
- Hedouin, L., Metian, M., Teyssie', J.-L., Fichez, R., Warnau, M., 2010, Delineation of heavy metal contamination pathways (seawater, food and sediment) in tropical oysters from New Caledonia using radiotracer techniques, *Marine pollution bulletin*, 61, 542–553.
- Heise, K., Puntarulo, S., Poertner, H.O., Abele, D., 2003, Production of reactive oxygen species by isolated mitochondria of the Antarctic bivalve *Laternula elliptica* (King and Broderip) under heat stress, *Comparative biochemistry and physiology*, 134, 79–90.
- Heisler, N., 1986, Buffering and transmembrane ion transfer processes, In: Heisler N (ed) Acid–base regulation in animals. Elsevier, New York, p 3–47

- Hendriks, I.E., Duarte, C.M., Alvarez, M., 2010, Vulnerability of marine biodiversity to ocean acidification: a meta-analysis, *Estuarine, coastal and shelf science*, 86, 157–164.
- Henry, R.P., Lucu, C., Onken, H., Weihrauch, D., 2012, Multiple functions of the crustacean gill: Osmotic/ionic regulation, acidbase balance, ammonia excretion, and bioaccumulation of toxic metals, *Frontiers in physiology*, 3.
- Herlihy, A. T., Mills, A. L., 1986, The pH regime of sediments underlying acidified waters, *Biogeochemistry*, 2(1), 95-99.
- Hervé-Fernández, P., Houlbrèque, F., Boisson, F., Mulsow, S., Teyssié, J. L., Oberhänsli, F., Azemard, S., Jeffree, R., 2010, Cadmium bioaccumulation and retention kinetics in the Chilean blue mussel *Mytilus chilensis*: seawater and food exposure pathways, *Aquatic toxicology*, 99(4), 448-456.
- Hettinger, A., Sanford, E., Hill, T.M. Hosfelt, J.D., Russel, A.D., Gaylord, B., 2013, The influence of food supply on the response of Olympia oyster larvae to ocean acidification, *Biogeosciences*, 10, 6629–6638.
- Heyraud, M., Fowler, S. W., Beasley, T. M., Cherry, R. D., 1976, Polonium-210 in euphausiids: a detailed study, *Marine biology*, 34(2), 127-136.
- Hilmi, N., Allemand, D., Dupont, S., Safa, A., Haraldsson, G., Nunes, P.A.L.D., Moore, C., Hattam, C., Reynaud, S., Hall-Spencer, J.M., Fine, M., Turley, C., Jeffree, R., Orr, J., Munday, P.L., Cooley, S.R., 2012, Towards improved socio-economic assessments of ocean acidification's impacts, *Marine biology*, 160, 1773-1787.
- Hong, Y., Yang, X., Cheng, Y., Liang, P., Zhang, J., Li, M., Shen, C., Yang, Z., Wang, C., 2013, Effects of pH, temperature, and osmolarity on the morphology and survival rate of primary hemocyte cultures from the Mitten Crab, *Eriocheir sinensis*, *In vitro cellular & developmental biology-animal*, 49(9), 716-727.
- Horwitz, R., Borell, E.M., Fine, M., Shaked, Y., 2014, Trace element profiles of the sea anemone *Anemonia viridis* living nearby a natural CO₂ vent, *PeerJ*, 2, e538.
- Houlbrèque, F., Reynaud, S., Godinot, C., Oberhänsli, F., Rodolfo-Metalpa, R. Ferrier-Pages, C., 2015, Ocean acidification reduces feeding rates in the scleractinian coral *Stylophora pistillata*, *Limnology and oceanography*, 60, 89–99.
- Houlbreque, F., Rodolfo-Metalpa, R., Jeffree, R., Oberhansli, F., Teyssie, J-L., Boisson, F., Al-Trabeen, K., R. Ferrier-Pages, C., 2011, Effects of increased pCO₂ on zinc uptake and calcification in the tropical coral *Stylophora pistillata*, *Coral reefs*, 31, 101–109.

- Hönisch, B., Ridgwell, A., Schmidt, D. N., Thomas, E., Gibbs, S. J., Sluijs, A., Zeebe, R., Kump, L., Martindale, R.C., Greene, S.E., Kiessling, W., Ries, J., Zachos, J.M., Royer, D.L., Barker, S., Marchitto, T.M., Moyer, R., Pelejero, C., Ziveri, P., Foster, G.L., Williams, B., 2012, The geological record of ocean acidification, *Science*, 335(6072), 1058-1063.
- Hu, M. Y., Guh, Y-J., Stumpp, M., Lee, J-R., Chen, R-D., Sung, P-H., Chen, Y-C., Hwang, P.-P., Theng, Y.C., 2014, Branchial NH_4^+ -dependent acid–base transport mechanisms and energy metabolism of squid (*Sepioteuthis lessoniana*) affected by seawater acidification, *Frontiers in zoology*, 11, 55.
- IAEA, 2004, Sediments Distribution Coefficients and Concentration Factors for Biota in the Marine Environment, International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, Austria, 95 p.
- Iglesias-Rodriguez, M.D., Halloran, P.R., Gittins, J.R., Green, D.R.H., Tyrrell, T. Gibbs, S.J., von Dassov, P., Rehm, E., Armbrust, E.V., Boessenkool, K.P., 2008, Phytoplankton calcification in a high- CO_2 world, *Science*, 320, 336–340.
- Ishimatsu, A., Kikkawa, T., Hayashi, M., Lee, K.S., Kita, J., 2004, Effects of CO_2 on marine fish: larvae and adults, *Journal of oceanography*, 60,731–741.
- Ishimatsu, A., Hayashi, M., Lee, K.S., 2005, Physiological effects on fishes in a high- CO_2 world, *Journal of geophysical research*, 110, C09S09.
- Ishimatsu, A., Hayashi, M., Kikkawa, T., 2008, Fishes in high- CO_2 , acidified oceans, *Marine ecology progress series*, 373, 295–302.
- Israel, A., Hophy, M., 2002, Growth, photosynthetic properties and Rubisco activities and amounts of marine macroalgae grown under current and elevated seawater CO_2 concentrations, *Global change biology*, 8(9), 831-840.
- IPCC, 2007, Climate Change 2007: synthesis report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. IPCC, Geneva (104 pp.).
- Ivanina, A., Sokolova, I., 2008, Effect of cadmium exposure on P-glycoprotein expression and activity in eastern oysters *Crassostrea virginica*, *Aquatic toxicology*, 88, 19–28.
- Ivanina, A.I., Sokolova, I.M., Sukhotin, A.A., 2008, Oxidative stress and expression of chaperones in aging mollusks, *Comparative biochemistry and physiology part A*, 150, 53–61.
- Ivanina, A.I., Taylor, C., Sokolova, I.M., 2009, Effects of elevated temperature and cadmium exposure on stress protein response in eastern oysters *Crassostrea virginica* (Gmelin), *Aquatic toxicology*, 91, 245–254.

- Ivanina, A.V., Sokolov, E.P., Sokolova, I.M., 2010, Effects of cadmium on anaerobic energy metabolism and mRNA expression during air exposure and recovery of an intertidal mollusk *Crassostrea virginica*, *Aquatic toxicology*, 99, 330–342.
- Ivanina, A.V., Sokolova, I.M., 2013, Interactive effect of pH and metals on mitochondrial function of intertidal bivalves *Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*, *Aquatic toxicology*, 144–145, 303–309.
- Ivanina, A.V., Beniash, E., Etzkorn, M., Meyers, T. B., Ringwood, A. H., Sokolova, I. M., 2013, Short-term acute hypercapnia affects cellular responses to trace metals in the hard clams *Mercenaria mercenaria*, *Aquatic toxicology*, 140–141, 123–133.
- Ivanina, A.V., Hawkins, C., and Sokolova, I. M., 2014, Immunomodulation by the interactive effects of cadmium and hypercapnia in marine bivalves *Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*, *Fish and shellfish immunology*, 37, 299–312.
- Ivanina, A.V., Sokolova, I.M., 2015, Interactive effects of metal pollution and ocean acidification on physiology of marine organisms, *Current zoology*, 61, 653–668.
- Jacob, H., Pouil, S., Lecchini, D., Oberhänsli, F., Swarzenski, P., Metian, M., 2017, Trophic transfer of essential elements in the clownfish *Amphiprion ocellaris* in the context of ocean acidification, *PloS one*, 12(4), e0174344.
- Jeffree, R. A., Warnau, M., Teyszié, J. L., Markich, S. J., 2006, Comparison of the bioaccumulation from seawater and depuration of heavy metals and radionuclides in the spotted dogfish *Scyliorhinus canicula* (Chondrichthys) and the turbot *Psetta maxima* (Actinopterygii: Teleostei), *Science of the total environment*, 368(2-3), 839-852.
- Jezierska, B., Ługowska, K., Witeska, M., 2009, The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review), *Fish physiology and biochemistry*, 35, 625–640.
- Jonsson, B., Jonsson, N., 2009, A review of the likely effects of climate change on anadromous Atlantic salmon *Salmo salar* and the brown trout *Salmo trutta*, with particular reference to water temperature and flow, *Journal of fish biology*, 75, 2381–2447.
- Johnson, V. R., Brownlee, C., Rickaby, R. E. M., Graziano, M., Milazzo, M., & Hall-Spencer, J. M., 2013, Responses of marine benthic microalgae to elevated CO₂, *Marine biology*, 160(8), 1813-1824.
- Jørgensen, C.B., Larsen, P.S., Riisgård, H.U., 1990, Effects of temperature on the mussel pump, *Marine ecology progress series*, 64, 89–97.
- Kádár, E., Salánki, J., Powell, J., & et al. (2002). Effect of sub-lethal concentrations of aluminium on the filtration activity of the freshwater mussel *Anodonta cygnea* L. at neutral pH. *Acta Biologica Hungarica*, 53(4), 485-494.

- Kalaycı, G., Belivermiş, M., Kılıç, Ö., Topcuoğlu, S., Çotuk, Y., 2013, Investigation of radiocesium biokinetics in Manila clam (*Ruditapes philippinarum*), *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry*, 295(1), 239-244.
- Kelly, M.W., Hofmann, G.E., 2012, Adaptation and the physiology of ocean acidification, *Functional ecology*, 27, 980–990.
- Kelly, M. W., Padilla-Gamiño, J. L., Hofmann, G. E., 2013, Natural variation and the capacity to adapt to ocean acidification in the keystone sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*, *Global change biology*, 19(8), 2536-2546.
- Kılıç, O., Çotuk, Y., 2011, Radioactivity concentrations in sediment and mussel of Bosphorus and Golden Horn, *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry*, 289, 627–635.
- Kılıç, Ö., Belivermiş, M., Çotuk, Y., Topcuoğlu, S., 2014, Radioactivity concentrations in mussel (*Mytilus galloprovincialis*) of Turkish Sea coast and contribution of ^{210}Po to the radiation dose, *Marine pollution bulletin*, 80(1), 325-329.
- Kılıç, Ö., Belivermiş, M., Gönülal, O., Sezer, N., Carvalho, F. P., 2018, ^{210}Po and ^{210}Pb in fish from northern Aegean Sea and radiation dose to fish consumers, *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry*, 318(2), 1189-1199.
- Kitidis, V., Laverock, B., McNeill, L. C., Beesley, A., Cummings, D., Tait, K., Osborn, M.A., Widdicombe, S., 2011, Impact of ocean acidification on benthic and water column ammonia oxidation, *Geophysical research letters*, 38(21).
- Kleypas, J.A., Langdon, C., 2006, Coral reefs and changing seawater carbonate chemistry, *The coastal and estuarine studies series*, 206, 7–110.
- Kleypas, J.A., Buddemeier, R.W., Archer, D., Gattuso, J.-P., Langdon, C., Opdyke, B.N., 1999, Geochemical consequences of increased atmospheric carbon dioxide on coral reefs, *Science*, 284, 118–120.
- Knol, M., 2011, The uncertainties of precaution: Zero discharges in the Barents Sea, *Marine policy*, 35, 399-404.
- Kraak, M. H., Toussaint, M., Lavy, D., Davids, C., 1994, Short-term effects of metals on the filtration rate of the zebra mussel *Dreissena polymorpha*, *Environmental pollution*, 84(2), 139-143.
- Kroeker, K.J., Kordas, R.L., Crim, R.N., Singh, G.G., 2010, Meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms, *Ecology letters*, 13, 1419–1434.
- Kroeker, K.J., Micheli, F., Gambi, M.C., Martz, T.R., 2011, Divergent ecosystem responses within a benthic marine community to ocean acidification, *Proceedings of the national academy of sciences*, 108, 14515-14520.

- Kroeker, K.J., Kordas, R.L., Crim, R., Hendriks, I.E., Ramajo, L., Singh, G.S., Duarte, C.M., Gattuso, J.P., 2013, Impacts of ocean acidification on marine organisms: quantifying sensitivities and interaction with warming, *Global change biology*, 19, 1884–1896.
- Koch, L.M., Patullo, B.W., Macmillan, D.L., 2006, Exploring with damaged antenna: do crayfish compensate for injuries? *The journal of experimental biology*, 209, 3226–3233.
- Kobayashi, N., Okamura, H., 2004, Effects of heavy metals on sea urchin embryo development, 1. Tracing the cause by the effects, *Chemosphere*, 55, 1403–1412.
- Kobayashi, N., Okamura, H., 2005, Effects of heavy metals on sea urchin embryo development. Part 2. Interactive toxic effects of heavy metals in synthetic mine effluents, *Chemosphere*, 61, 1198–1203.
- Kuffner, I.B., Andersson, A.J., Jokiel, P.L., Rodgers, K.S., Mackenzie, F.T., 2008, Decreased abundance of crustose coralline algae due to ocean acidification, *Nature geoscience*, 1, 177–180.
- Kuranchie-Mensah, H., Pouil, S., Teyssié, J. L., Oberhänsli, F., Warnau, M., Metian, M., 2018, Allometric relationship in the bioaccumulation of radionuclides (^{134}Cs & ^{241}Am) and delineation of contamination pathways (food and seawater) in bloody cockle *Anadara senilis* using radiotracer techniques, *Journal of environmental radioactivity*, 192, 448–453.
- Kurihara, H., Shirayama, Y., 2004, Effects of increased atmospheric CO_2 on sea urchin early development, *Marine ecology progress series*, 274, 161–69.
- Kurihara, H., Kato, S., Ishimatsu, A., 2007, Effects of increased seawater $p\text{CO}_2$ on early development of the oyster *Crassostrea gigas*, *Aquatic biology*, 1, 91–98.
- Kurihara, H., 2008, Effects of CO_2 -driven ocean acidification on the early developmental stages of invertebrates, *Marine ecology progress series*, 373, 275–284.
- Kurihara, H., Matsui, M., Furukawa, H., Hayashi, M., Ishimatsu, A., 2008, Long-term effects of predicted future seawater CO_2 conditions on the survival and growth of the marine shrimp *Palaemon pacificus*, *Journal of experimental marine biology and ecology*, 367, 41–46.
- Kuwatani, Y., Nishii, T., 1969, Effects of pH of culture water on the growth of the Japanese pearl oyster, *Bulletin of the japanese society for the science of fish*, 35(4), 342–350.
- Lacoue-Labarthe, T., Metian, M., Warnau, M., Oberhänsli, F., Rouleau, C., Bustamante, P., 2009a, Biokinetics of Hg and Pb accumulation in the encapsulated egg of the common cuttlefish *Sepia officinalis*: radiotracer experiments, *Science of the total environment*, 407, 6188–6195.

- Lacoue-Labarthe, T., Martin, S., Oberhänsli, F., Teyssié, J.L., Markich, S.J., Jeffree, R., Bustamante, P., 2009b, Effects of increased $p\text{CO}_2$ and temperature on trace element (Ag, Cd and Zn) bioaccumulation in the eggs of the common cuttlefish, *Sepia officinalis*, *Biogeosciences*, 6, 2561–2573.
- Lacoue-Labarthe, T., Reveillac, E., Oberhänsli, F., Teyssié, J.-L., Jeffree, R., Gattuso, J., 2011, Effects of ocean acidification on trace element accumulation in the early-life stages of squid *Loligo vulgaris*, *Aquatic toxicology*, 105, 166–176.
- Lacoue-Labarthe, T., Martin, S., Oberhänsli, F., Teyssié, J.-L., Jeffree, R., Gattuso, J.-P., Bustamante, P., 2012, Temperature and $p\text{CO}_2$ effect on the bioaccumulation of radionuclides and trace elements in the eggs of the common cuttlefish *Sepia officinalis*, *Journal of experimental marine biology and ecology*, 413, 45–49.
- Lacoue-Labarthe, T., Oberhänsli, F., Teyssié, J.-L., Metian, M., 2018, The absence of the $p\text{CO}_2$ effect on dissolved ^{134}Cs uptake in select marine organisms, *Journal of environmental radioactivity*, 192, 10–13.
- Lande, R., Shannon, S., 1996, The role of genetic variation in adaptation and population persistence in a changing environment, *Evolution*, 50, 434–437.
- Langdon, C., Takahashi, T., Sweeney, C., Chipman, D., Goddard, J., Marubini, F., Aceves, H., Barnett, H., Atkinson, M.J., 2000, Effect of calcium carbonate saturation state on the calcification rate of an experimental coral reef, *Global biogeochemical cycles*, 14, 639–654.
- Langdon, C., Broecker, W.S., Hammond, D.E., Glenn, E., Fitzsimmons, K., Nelson, S.G., Peng, T.H., Hajdas, I., Bonani, G., 2003, Effect of elevated CO_2 on the community metabolism of an experimental coral reef, *Global biogeochemical cycles*, 17, 1–14.
- Langdon, C., Atkinson, M.J., 2005, Effect of elevated $p\text{CO}_2$ on photosynthesis and calcification of corals and interactions with seasonal change in temperature/irradiance and nutrient enrichment, *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 110, C09S7.
- Lannig, G., Bock, C., Cherkasov, A., Pörtner, H.O., Sokolova, I.M., 2008, Cadmium-dependent oxygen limitation affects temperature tolerance in eastern oysters (*Crassostrea virginica* Gmelin), *American journal of physiology, regulation, integrative and comparative physiology*, 294, R1338–R1346.
- Lannig, G., Eilers, S., Pörtner, H.O., Sokolova, I. M., Bock, C., 2010, Impact of ocean acidification on energy metabolism of oyster, *Crassostrea gigas*—changes in metabolic pathways and thermal response, *Marine drugs*, 8, 2318–2339.
- Larsen, B.K., Pörtner, H.O., Jensen, F.B., 1997, Extra- and intracellular acid- base balance and ionic regulation in cod *Gadus morhua* during combined and isolated exposures to hypercapnia and copper, *Marine biology*, 128, 337–346.

- Lawson, S.L., Jones, M.B., Moate, R.M., 1995, Effect of copper on the ultrastructure of the gill epithelium of *Carcinus maenas* (Decapoda: Brachyura), *Marine pollution bulletin*, 31, 63–72.
- Leclercq, N., Gattuso, J.P., Jaubert, J., 2000, CO₂ partial pressure controls the calcification rate of a coral community, *Global change biology*, 6, 329–34.
- Leclercq, N., Gattuso, J. P., Jaubert, J., 2002, Primary production, respiration, and calcification of a coral reef mesocosm under increased CO₂ partial pressure, *Limnology and oceanography*, 47(2), 558-564.
- Lee, Y.H., Chang, Y.J., Lim, H.K., Chung, G.S., 1996, Comparison of growth and survival rate in shortnecked clams, *Ruditapes philippinarum* from different seedling production areas, *Journal of aquaculture*, 9(3), 223-232.
- Le Moullac, G., Soyeux, C., Vidal-Dupiol, J., Belliard, C., Fievet, J., Sham-Koua, M., Lo-Yat, A., Saulnier, D., Gaertner-Mazouni, N., Gueguen, Y., 2016, Impact of pCO₂ on the energy, reproduction and growth of the shell of the pearl oyster *Pinctada margaritifera*, *Estuarine, coastal and shelf science*, 182, 274–282.
- Leon, S. A., Shapiro, B., Sklaroff, D. M., Yaros, M. J., 1977, Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy, *Cancer research*, 37(3), 646-650.
- Levitus, S., Antonov, J., Boyer, T. P., 2005, Warming of the world ocean, 1955-2003, *Geophysical research letters*, 32, 1-4.
- Lewis, C., Clemow, K., Holt, W.V., 2013, Metal contamination increases the sensitivity of larvae but not gametes to ocean acidification in the polychaete *Pomatoceros lamarckii* (Quatrefages), *Marine biology*, 160, 2089–2101.
- Lima, A.R., Curtis, C., Hammermeister, D.E., Call, D.J., Felhaber, T.A., 1982, Acute toxicity of silver to selected fish and invertebrates, *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 29, 184-189.
- Lionetto, M.G., Maffia, M., Cappello, M.S., Giordano, M.E., Storelli, C., Schettino, T., 1998, Effect of cadmium on carbonic anhydrase and Na⁺-K⁺-ATPase in eel *Anguilla anguilla* intestine and gills, *Comparative biochemistry and physiology - part A: molecular & integrative physiology*, 120, 89–91.
- Lima, M. F., Mazzilli, B. P., 1994, Determination of the distribution coefficients for ¹³⁴Cs, ⁶⁰Co and ²³⁴Th in the Pinheiros River sediment-water, *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry*, 177(1), 139-147.
- Liu, W., He, M., 2012, Effects of ocean acidification on the metabolic rates of three species of bivalve from southern coast of China, *Chinese journal of oceanology and limnology*, 30(2), 206-211.

- Loayza-Muro, R., Elías-Letts, R., 2007, Responses of the mussel *Anodonta trapesialis* (Unionidae) to environmental stressors: effect of pH, temperature and metals on filtration rate, *Environmental pollution*, 149(2), 209-215.
- Lopes, T.M., Barcarolli, I.F., de Oliveira, C.B., de Souza, M.M., Bianchini, A., 2011, Effect of copper on ion content in isolated mantle cells of the marine clam *Mesodesma mactroides*, *Environmental toxicology and chemistry*, 30, 1582–1585.
- López, I. R., Kalman, J., Vale, C., Blasco, J., 2010, Influence of sediment acidification on the bioaccumulation of metals in *Ruditapes philippinarum*, *Environmental science and pollution research*, 17(9), 1519-1528.
- Lowe, D.M., Fossato, V.U., Depledge, M.H., 1995, Contaminant-induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Venice lagoon: an in vitro study, *Marine ecology progress series*, 129, 189–196.
- Lowery, R.S., 1988, Growth, moulting and reproduction. In: *Freshwater Crayfish; Biology, Management and Exploitation* (ed. by D.M. Holdich & R.S. Lowery), pp. 83-99. Croom Helm, London, USA.
- Luoma, S.N., 1989, Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements? *Hydrobiologia*, 176–177, 379–396.
- Luoma, S.N., Bryan, G.W., 1982, A statistical study of environmental factors controlling concentrations of heavy metals in the burrowing bivalve *Scrobicularia plana* and the polychaetae *Nereis diversicolor*, *Estuarine, coastal and shelf science*, 15, 95-108.
- Lüthi, D., Le Floch, M., Bereiter, B., Blunier, T., Barnola, J.-M., Siegenthaler, U., Raynaud, D., Jouzel, J., Fischer, H., Kawamura, K., Stocker, T.F., 2008, High-resolution carbon dioxide concentration record 650,000-800,000 years before present, *Nature* 453, 379–82.
- Madhavan, K., Madhavan, M.M., 1981, Regeneration of antennae and its control of molting in the terrestrial isopod, *Armadillidium vulgare*, *Journal of experimental zoology*, 216, 277–284.
- Maier, C., Schubert, A., Sánchez, M. M. B., Weinbauer, M. G., Watremez, P., Gattuso, J. P., 2013, End of the century $p\text{CO}_2$ levels do not impact calcification in Mediterranean cold-water corals, *PloS one*, 8(4), e62655.
- Mann, M.E., Zhang, Z., Hughes, M.K., Bradley, R.S., Miller, S.K., 2008, Proxy-based reconstructions of hemispheric and global surface temperature variations over the past two millennia, *Proceedings of the national academy of sciences*, 105, 13252–13257.
- Marba, N., Duarte, C. M., 2010, Mediterranean warming triggers seagrass (*Posidonia oceanica*) shoot mortality, *Global change biology*, 16, 2366-2375.

- Marubini, F., Atkinson, M.J., 1999, Effects of lowered pH and elevated nitrate on coral calcification, *Marine ecology progress series*, 188, 117–121.
- Marubini, F., Davies, P.S., 1996, Nitrate increases zooxanthellae population density and reduces skeletogenesis in corals, *Marine biology*, 127, 319–328.
- Maulvault, A.L., Camacho, C., Barbosa, V., Alves, R., Anacleto, P., Fogaça, F., Kwadijk, C., Kotterman, M., Cunha, S.C., Fernandes, J.O., 2018, Assessing the effects of seawater temperature and pH on the bioaccumulation of emerging chemical contaminants in marine bivalves, *Environmental research*, 161, 236–247.
- Maugendre, L., Gattuso, J-P., Poulton A.J., Dellisanti, W., Gaubert, M., Guieu C., Gazeau, F., 2016, No detectable effect of ocean acidification on the plankton metabolism in the north west Mediterranean Sea: results from two mesocosm studies, *Estuarine, coastal and shelf science*, (inpress). <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2015.03.00>
- Matoo, O.B., Ivanina, A.V., Ullstad, C., Beniash, E., Sokolova, I.M., 2013, Interactive effects of elevated temperature and CO₂ levels on metabolism and oxidative stress in two common marine bivalves (*Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*), *Comparative biochemistry and physiology part A: molecular & integrative physiology*, 164, 545–553.
- Matozzo, V., Ballarin, L., Pampanin, D. M., Marin, M. G., 2001, Effects of copper and cadmium exposure on functional responses of hemocytes in the clam, *Tapes philippinarum*, *Archives of environmental contamination and toxicology*, 41(2), 163–170.
- Matozzo, V., Chinellato, A., Munari, M., Finos, L., Bressan, M., Marin, M. G., 2012, First evidence of immunomodulation in bivalves under seawater acidification and increased temperature, *PloS one*, 7(3), e33820.
- McCarthy, J.J., 2001, Climate change 2001: impacts, adaptation, and vulnerability: contribution of Working Group II to the third assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge Univ Pr (1000 pp.).
- Meehl, G.A.; Stocker, T.F.; Collins, W.D.; Friedlingstein, P.; Gaye, A.T.; Gregory, J.M.; Kitoh, A.; Knutti, R.; Murphy, J.M.; Noda, A., 2007, Global climate projections. In *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*; Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K.B., Tignor, M., Miller, H.L., Eds.; Cambridge University Press: Cambridge, UK, pp. 747–846.
- Meier, K. J. S., Beaufort, L., Heussner, S., Ziveri, P., 2014, The role of ocean acidification in *Emiliana huxleyi* coccolith thinning in the Mediterranean Sea, *Biogeosciences discussions*, 10(12), 19701–19730.

- Melatunan, S., Calosi, P., Rundle, S.D., Moody, A.J., Widdicombe, S., 2011, Exposure to elevated temperature and $p\text{CO}_2$ reduces respiration rate and energy status in the periwinkle *Littorina littorea*, *Physiological and biochemical zoology*, 84, 583–594.
- Meli, M.A., Desideri, D., Roselli, C., Feduzi, L., 2008. Natural radioactivity in the mussel *Mytilus galloprovincialis* derived from the Central Adriatic Sea (Italy), *Journal of toxicology and environmental health, part A*, 71, 1270–1278.
- Melzner, F., Gutowska, M.A., Langenbuch, M., Dupont, S., Lucassen, M., Thorndyke, M.C., Bleich, M., Pörtner, H.O., 2009, Physiological basis for high CO_2 tolerance in marine ectothermic animals: pre-adaptation through lifestyle and ontogeny? *Biogeosciences*, 6, 2313–2331.
- Melzner, F., Thomsen, J., Koeve, W., Oeschlies, A., Gutowska, M. A., Bange, H.W., Hansen, H. P., Körtzinger, A., 2013, Future ocean acidification will be amplified by hypoxia in coastal habitats, *Marine biology*, 160, 1875–1888.
- Metian, M., Hédouin, L., Barbot, C., Teyssié, J.-L., Fowler, S., Goudard, F., Bustamante, P., Durand, J.-P., Piéri, J., Warnau, M., 2005, Use of radiotracer techniques to study subcellular distribution of metals and radionuclides in bivalves from the Noumea Lagoon, New Caledonia, *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 75, 89–93.
- Metian, M., Bustamante, P., Hédouin, L., Warnau, M., 2008, Accumulation of nine metals and one metalloid in the tropical scallop *Comptopallium radula* from coral reefs in New Caledonia, *Environmental pollution*, 152, 543–552.
- Metian, M., Hédouin, L., Eltayeb, M. M., Lacoue-Labarthe, T., Teyssié, J. L., Mugnier, C., Bustamante, P., Warnau, M., 2010, Metal and metalloid bioaccumulation in the Pacific blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) from New Caledonia: Laboratory and field studies, *Marine pollution bulletin*, 61(7-12), 576-584.
- Metian, M., Warnau, M., Teyssié, J.-L., Bustamante, P., 2011, Characterization of ^{241}Am and ^{134}Cs bioaccumulation in the king scallop *Pecten maximus*: investigation via three exposure pathways, *Journal of environmental radioactivity*, 102, 543–550.
- Michaelidis, B., Ouzounis, C., Paleras, A., Pörtner, H.O., 2005, Effects of long-term moderate hypercapnia on acid–base balance and growth rate in marine mussels *Mytilus galloprovincialis*, *Marine ecology progress series*, 293, 109–118
- Milazzo, M., Fine, M., La Marca, E. C., Alessi, C., Chemello, R., 2015, Drawing the line at neglected marine ecosystems: ecology of vermetid reefs in a changing ocean, *Marine animal forests: the ecology of benthic biodiversity hotspots*, 1-23.
- Miller, G. M., Watson, S. A., McCormick, M. I., Munday, P. L., 2013, Increased CO_2 stimulates reproduction in a coral reef fish, *Global change biology*, 19(10), 3037-3045.

- Millero, F.J., 2001a, Physical Chemistry of Natural Waters, Wiley-Interscience, NY. 654 pp.
- Millero, F.J., 2001b, Speciation of metals in natural water, *Geochemical transactions*, 2(8), 56–64.
- Millero, F.J., Graham, T.B., Huang, F., Bustos-Serrano, H., Pierrot, D., 2006, Dissociation constants of carbonic acid in seawater as a function of salinity and temperature, *Marine chemistry*, 100, 80–94.
- Millero, F. J., Huang, F., Laferiere, A. L., 2002, Solubility of oxygen in the major sea salts as a function of concentration and temperature, *Marine chemistry*, 78(4), 217-230.
- Millero, F. J., Woosley, R., Ditrolo, B., Waters, J., 2009, Effect of ocean acidification on the speciation of metals in seawater, *Oceanography*, 22, 72–85.
- Miles, H., Widdicombe, S., Spicer, J.I., Hall-Spencer, J., 2007, Effects of anthropogenic seawater acidification on acid– base balance in the sea urchin *Psammechinus miliaris*, *Marine pollution bulletin*, 54, 89–96.
- Miramand, P., Germain, P., Camus, H., 1982, Uptake of americium and plutonium from contaminated sediments by three benthic species: *Arenicola marina*, *Corophium volutator* and *Scrobicularia plana*, *Marine ecology progress series*, 7, 59-65.
- Monserrat, J. M., Martínez, P. E., Geracitano, L. A., Amado, L. L., Martins, C. M. G., Pinho, G. L. L.,Chaves, I.S., Ferreira-Cravo, M., Ventura-Lima, J., Bianchini, A., 2007, Pollution biomarkers in estuarine animals: critical review and new perspectives, *Comparative biochemistry and physiology part C: toxicology & pharmacology*, 146(1-2), 221-234.
- Morgan, D.O., McMahon, B.R., 1982, Acid tolerance and effects of sublethal acid exposure on ion-regulation and acid-base status in two crayfish *Procambarus clarkii* and *Orconectes rusticus*, *Journal of experimental biology*, 97, 241-252.
- Mucci, A., 1983, The solubility of calcite and aragonite in seawater at various salinities, temperatures, and one atmosphere total pressure, *American journal of science*, 283, 780-799.
- Munday, P.L., Dixson, D.L., Donelson, J.M., Jones, G.P., Pratchett, M.S., Devitsina, G.V., Doving, K.V., 2008, Ocean acidification impairs olfactory discrimination and homing ability of a marine fish, *Proceedings of the national academy of sciences*, 106, 1848–1852.
- Navarro, J.M., Torres, R., Acuña, K., Duarte, C., Manriquez, P.H., Lardies, M., Lagos, N.A., Vargas, C., Aguilera, V., 2013, Impact of medium-term exposure to elevated $p\text{CO}_2$ levels on the physiological energetics of the mussel *Mytilus chilensis*, *Chemosphere*, 90, 1242–1248.

- Ng, T.Y.T., Wang, W.X., 2005, Dynamics of metal subcellular distribution and its relationship with metal uptake in marine mussels, *Environmental toxicology and chemistry*, 24, 2365–2372.
- Nielsen, K.S., Mattson, K.M., Kelly, D.G., Bennett, L.G.I., 2007, Environmental radionuclide monitoring programme, *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry*, 271 (3), 621-627.
- Nolan, C. V., Fowler, S. W., Teyssie, J. L., 1992, Cobalt speciation and bioavailability in marine organisms, *Marine ecology-progress series*, 88, 105-105.
- Onat, B., Tuğrul, A. B., Topcuoğlu, S., 1999, The excretion of ^{110m}Ag by a gastropod species (*Natica intricata*), *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry*, 240(2), 677-679.
- Oomen, A. G., Rompelberg, C. J. M., Bruil, M. A., Dobbe, C. J. G., Pereboom, D. P. K. H., & Sips, A. J. A. M., 2003, Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants, *Archives of environmental contamination and toxicology*, 44(3), 0281-0287.
- Orr, J.C., Fabry, V.J., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S.C., Feely, R.A., Gnanadesikan, A., Gruber, N., Ishida, A., Joos, F., Key, R.M., Lindsay, K., Maier-Reimer, E., Matear, R., Monfray, P., Mouchet, A., Najjar, R.G., Plattner, G.K., Rodgers, K.B., Sabine, C.L., Sarmiento, J.L., Schlitzer, R., Slater, R.D., Totterdell, I.J., Weirig, M.F., Yamanaka, Y., Yool, A., 2005, Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms, *Nature*, 437, 681–686.
- Palmer, A.R., 1992, Calcification in marine molluscs: how costly is it? *Proceedings of the national academy of sciences of the united*, 89, 1379–1382.
- Pan, K., Wang, W.X., 2008, Allometry of cadmium and zinc concentrations and bioaccumulation in the scallop *Chlamys nobilis*, *Marine ecology progress series*, 365, 115–126.
- Pan, T.C.F., Applebaum, S.L., Manahan, D.T., 2015, Experimental ocean acidification alters the allocation of metabolic energy, *Proceedings of the national academy of sciences*, 112, 4696–4701.
- Pane, E.F., Barry, J.P., 2007, Extracellular acid–base regulation during short-term hypercapnia is effective in a shallowwater crab, but ineffective in a deep-sea crab, *Marine ecology progress series*, 334, 1–9.
- Pansch, C., Schaub, I., Havenhand, J., Wahl, M., 2014, Habitat traits and food availability determine the response of marine invertebrates to ocean acidification, *Global change biology*, 20, 765–777.
- Parker, L.M., Ross, P.M., O'Connor, W.A., 2010, Comparing the effect of elevated $p\text{CO}_2$ and temperature on the fertilization and early development of two species of oysters, *Marine biology*, 157, 2435–2452.

- Parker, L., Ross, P., Raftos, D., Thompson, E., O'Connor, W., 2011, The proteomic response of larvae of the Sydney rock oyster, *Saccostrea glomerata* to elevated $p\text{CO}_2$, *Australian zoologist*, 35(4), 1011-1023.
- Pascal, P.Y., Fleeger, J.W., Galvez, F., Carman, K.R., 2010, The toxicological interaction between ocean acidity and metals in coastal meiobenthic copepods, *Marine pollution bulletin*, 60, 2201–2208.
- Penicaud, V., Lacoue-Labarthe, T., Bustamante, P., 2017, Metal bioaccumulation and detoxification processes in cephalopods: a review, *Environmental research*, 155, 123–133.
- Penforida, V.D., 1999, Interaction between dietary levels of calcium and phosphorus on growth of juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, *Aquaculture*, 172, 281-289.
- Pentreath, R., 1973, The accumulation from water of ^{65}Zn , ^{54}Mn , ^{58}Co and ^{59}Fe by the mussel, *Mytilus edulis*, *Journal of the marine biological association of the United Kingdom*, 53(1), 127-143.
- Pentreath, R. J., 1981, The biological availability to marine organisms of transuranium and other long-lived nuclides, In Impacts of radionuclide releases into the marine environment, IAEA, International nuclear information, system.
- Pespeni, M.H., Sanford, E., Gaylord, B., Hill, T.M., Hosfelt, J.D., Jaris, H.K., LaVigne, M., Lenz, E.A., Russell, A.D., Young, M.K., Palumbi, S.R., 2013, Evolutionary change during experimental ocean acidification, *Proceedings of the national academy of sciences*, 110, 6937-6942.
- Petering, D.H., Fowler, B.A., 1986, Roles of metallothionein and related proteins in metal metabolism and toxicity: problems and perspectives, *Environmental health perspectives*, 65, 217.
- Phelps, H., Pearson, W.H., Hardy, J.T., 1985, Clam burrowing behaviour and mortality related to sediment copper, *Marine pollution bulletin*, 16, 309–313.
- Pipe, R.K., Coles, J.A., Carissan, F.M.M., Ramanathan, K., 1999, Copper induced immunomodulation in the marine mussel *Mytilus edulis*, *Aquatic toxicology*, 46, 43–54.
- Pohlmann, K., Koenigstein, S., Alter, K., Abele, D., Held, C., 2011, Heat-shock response and antioxidant defense during air exposure in Patagonian shallow-water limpets from different climatic habitats, *Cell stress chaperones*, 16, 621–632.
- Porzio, L., Buia, M.C., Hall-Spencer, J.M., 2011, Effects of ocean acidification on macroalgal communities, *Journal of experimental marine biology and ecology*, 400, 278–287.

- Povinec, P.P., Osvath, I., Baxter, M.S., Ballestra, S., Carroll, J., Gastaud, J., Harms, I., Huynh-Ngoc, L., Liong Wee Kwong, L., Pettersson, H., 1997, Summary of IAEA-MEL's investigation of Kara Sea radioactivity and radiological assessment, *Marine pollution bulletin*, 35(7-12), 235-241.
- Pörtner, H.O., 1993, Multicompartmental analyses of acid–base and metabolic homeostasis during anaerobiosis: invertebrate and lower vertebrate examples. In: Hochachka, P.W., Lutz, P.L., Sick, T., Rosenthal, M., van den Thillart, G. (Eds.), *Surviving Hypoxia: Mechanisms of Control and Adaptation*. CRC Press Inc., Boca Raton, FL, USA, pp. 139–156.
- Pörtner, H.O., Reipschläger, A., Heisler, N., 1998, Metabolism and acid–base regulation in *Sipunculus nudus* as a function of ambient carbon dioxide, *The journal of experimental biology*, 201, 43–55.
- Pörtner, H. O., Finke, E., Lee, P. G., 1996, Metabolic and energy correlates of intracellular pH in progressive fatigue of squid (*L. brevis*) mantle muscle, *American journal of physiology-regulatory, integrative and comparative physiology*, 271(5), R1403-R1414.
- Pörtner, H.O., Bock, C., Reipschläger, A., 2000, Modulation of the cost of pHi regulation during metabolic depression: a ³¹P-NMR study in invertebrate (*Sipunculus nudus*) isolated muscle, *Jornal of experimental biology*, 203, 2417–2428.
- Pörtner, H.O., 2004, Climate variability and the energetic pathways of evolution: the origin of endothermy in mammals and birds, *Physiological and biochemical zoology*, 77, 959–981.
- Pörtner, H.O., Langenbuch, M., Reipschlagel, A., 2004, Biological impact of elevated ocean CO₂ concentrations: lessons from animal physiology and earth history, *Journal of oceanography*, 60, 705–718.
- Pörtner, H.O., 2006, Climate-dependent evolution of Antarctic ectotherms: an integrative analysis, *Deep-sea research part II*, 53, 1071–1104.
- Pörtner, H.O., 2008, Ecosystem effects of ocean acidification in times of ocean warming: a physiologist's view, *Marine ecology progress series*, 373, 203–217.
- Pörtner, H.O., Farrell, A.P., 2008, Physiology and climate change, *Science*, 322, 690–692.
- Pörtner, H.O., 2010, Oxygen and capacity-limitation of thermal tolerance: a matrix for integrating climate-related stressor effects in marine ecosystems, *The journal of experimental biology*, 213, 881–893.
- Pörtner, H.-O., Karl, D.M., Boyd, P.W., Cheung, W., Lluch-Cota, S.E., Nojiri, Y., Schmidt, D.N., Zavialov, P.O., Alheit, J., Aristegui, J., 2014, Ocean Systems, Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, pp. 411–484.

- Prophete, C., Carlson, E. A., Li, Y., Duffy, J., Steinetz, B., Lasano, S., Zelikoff, J. T., 2006, Effects of elevated temperature and nickel pollution on the immune status of Japanese medaka, *Fish & shellfish immunology*, 21(3), 325-334.
- Qiu, J.W., Gosselin, L.A., Qian, P.Y., 1997, Effects of short-term variation in food availability on larval development in the barnacle *Balanus amphitrite*, *Marine ecology progress series*, 161, 83-91.
- Rainbow, P.S., White, S.L., 1990, Comparative accumulation of cobalt by three crustaceans: a decapod, an amphipod and a barnacle, *Aquatic toxicology*, 16(2), 113-126.
- Rainbow, P.S., 1995, Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment, *Marine pollution bulletin*, 31, 183-192.
- Rainbow, P.S., 1997, Ecophysiology of trace metal uptake in crustaceans, *Estuarine, coastal and shelf science*, 44, 169-175.
- Ramade, F., 1992, Précis d'écotoxicologie. Paris: Edition Masson; 300 p.
- Ramajo, L., Pérez-Léon, E., Hendriks, I.E., Marba, N., Krause-Jensen, D., Sejr, M.K., Blicher, M.E., Lagos, N.A., Olsen, Duarte, C.M., 2016, Food supply confers calcifiers resistance to ocean acidification, *Scientific reports*, 6, 19374.
- Rastrick, S.P., Calosi, P., Calder-Potts, R., Foggo, A., Nightingale, G., Widdicombe, S., Spicer, J.I., 2014, Living in warmer, more acidic oceans retards physiological recovery from tidal emersion in the velvet swimming crab, *Necora puber*, *Journal of experimental biology*, 217(14), 2499-2508.
- Ratte, H.T., 1999, Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: a review, *Environmental toxicology and chemistry: an international journal*, 18(1), 89-108.
- Raz, S., Hamilton, P.C., Wilt, F.H., Weiner, S., Addadi, L., 2003, The transient phase of amorphous calcium carbonate in sea urchin larval spicules: the involvement of proteins and magnesium ions in its formation and stabilization, *Advanced functional materials*, 13, 480-486.
- Reinfelder, J. R., Wang, W. X., Luoma, S. N., Fisher, N. S., 1997, Assimilation efficiencies and turnover rates of trace elements in marine bivalves: a comparison of oysters, clams and mussels, *Marine biology*, 129(3), 443-452.
- Reipschläger, A., Pörtner, H.O., 1996, Metabolic depression during environmental stress: the role of extracellular versus intracellular pH in *Sipunculus nudus*, *Journal of experimental biology*, 199, 1801-1807.
- Repetto, G., Del Peso, A., Zurita, J. L., 2008, Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity, *Nature protocols*, 3(7), 1125.

- Riebesell, U., Zondervan, I., Rost, B., Tortell, P.D., Zeebe, R.E., Morel, F.M.M., 2000, Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO₂, *Nature*, 407, 364–67.
- Riebesell, U., Czerny, J., Bröckel, K. V., Boxhammer, T., Büdenbender, J., Deckelnick, M., Fischer, M., Hoffman, D., Krug, S.A., Lentz, U., Ludwig, A., Mucche, R., Schulz, K.G., 2013, A mobile sea-going mesocosm system—new opportunities for ocean change research, *Biogeosciences*, 10(3), 1835–1847.
- Ries, J.B., Cohen, A.L., McCorkle, D.C., 2008, Marine biocalcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced ocean acidification, 11th Int. Coral Reef Symp., Ft. Lauderdale.
- Roberto, C., Giulia, L.M., Francesco, D., Aldo, V., Trifone, S., 2010, Carbonic anhydrase activity in *Mytilus galloprovincialis* digestive gland: Sensitivity to heavy metal exposure, *Comparative biochemistry and physiology part C: toxicology & pharmacology*, 152, 241–247.
- Roberts, D.A., Birchenough, S.R., Lewis, C., Sanders, M., Bolam, T., Sheahan, D., 2013, Ocean acidification increases the toxicity of contaminated sediments, *Global change biology*, 19, 340–351.
- Rodolfo-Metalpa, R., Houlbrèque, F., Tambutté, É., Boisson, F., Baggini, C., Patti, F. P., Jeffree, R., Fine, M., Foggo, A., Gattuso, J.P., Hall-Spencer, J.M., 2011, Coral and mollusc resistance to ocean acidification adversely affected by warming, *Nature climate change*, 1(6), 308.
- Rodriguez-Romero, A., Jimenez-Tenorio, N., Basallote, M.D., De Orte, M.R., Blasco, J., Riba, I., 2014, Predicting the impact of CO₂ leakage from subseabed storage: Effect of metal accumulation and toxicity on the model benthic organism *Ruditapes phillipinarum*, *Environmental science & technology*, 48, 12292–12301.
- Roessig, J.M., Woodley, C.M., Cech, J.J., Hansen, L.J., 2004, Effects of global climate change on marine and estuarine fishes and fisheries, *Reviews in fish biology and fisheries*, 14, 251–275.
- Roper, D.S., Hickey, C.W., 1994, Behavioural responses of the marine bivalve *Macomona liliana* exposed to copper- and chlordane- dosed sediments, *Marine biology*, 118, 673–680.
- Rosa, R., Marques, A., Nunes, M.L., 2012, Impact of climate change in Mediterranean aquaculture, *Reviews in aquaculture*, 4, 163–177.
- Ross, P.M., Parker, L., O'Connor, W.A., Bailey, E.A., 2011, The impact of ocean acidification on reproduction, early development and settlement of marine organisms, *Water* 3, 1005–1030.

- Rowan, D.J., Rasmussen, J.B., 1994, Bioaccumulation of radiocesium by fish: the influence of physicochemical factors and trophic structure, *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, 51(11), 2388-2410.
- Royal Society, 2005, Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. Policy document 12/05 (The Royal Society, London).
- Ryan, P.C., Wall, A.J., Hillier, S., Clark, L., 2002, Insights into sequential chemical extraction procedures from quantitative XRD: a study of trace metal partitioning in sediments related to frog malformities, *Chemical geology*, 184(3-4), 337-357.
- Sabine, C.L., Feely, R.A., Gruber, N., Key, R.M., Lee, K., Bullister, J.L., Wanninkhof, R., Wong, C.S., Wallace, D.W.R., Tilbrook, B., Millero, F.J., Peng, T.H., Kozyr, A., Ono, T., Rios, A.F., 2004, The oceanic sink for anthropogenic CO₂, *Science*, 305, 367–371.
- Sabine, C.L., Feely, R.A., 2007, The oceanic sink for carbon dioxide. In *Greenhouse Gas Sinks*, ed. D Reay, N Hewitt, J Grace, K Smith, pp. 31–49. Oxfordshire: CABI Publishing.
- Scanes, E., Parker, L.M., O'Connor, W.A., Ross, P.M., 2014, Mixed effects of elevated pCO₂ on fertilisation, larval and juvenile development and adult responses in the mobile subtidal scallop *Mimachlamys asperima* (Lamarck, 1819), *PLoS ONE*, 9, e93649.
- Scott, G.R., Sloman, K.A., Rouleau, C., Wood, C.M., 2003, Cadmium disrupts behavioural and physiological responses to alarm substance in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Journal of experimental biology*, 206, 1779–1790.
- Schneider, K., Erez, J., 2006, The effect of carbonate chemistry on calcification and photosynthesis in the hermatypic coral *Acropora eurystoma*, *Limnology and oceanography*, 51(3), 1284-1293.
- Schultz, A.G., Ong, K.J., MacCormack, T., Ma, G., Veinot, J.G., Goss, G.G., 2012, Silver nanoparticles inhibit sodium uptake in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Environmental science & technology*, 46(18), 10295-10301.
- Schwarzenbach, H., Hoon, D.S., Pantel, K., 2011, Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients, *Nature reviews cancer*, 11(6), 426.
- Sethy, N.K., Sutar, A.K., Rath, P., Jha, V.N., Ravi, P.M., Tripathi, R.M., 2015, A review of radio chemical analysis and estimation of ²¹⁰Po in soil matrices, *Journal of radiation research and applied sciences*, 8(4), 590-596.
- Sezer, N., Belivermiş, M., Kılıç, Ö., Topcuoğlu, S., Çotuk, Y., 2014, Biokinetics of radiocesium in shrimp (*Palaemon adspersus*): seawater and food exposures, *Journal of environmental radioactivity*, 132, 15-20.

- Sezer, N., Kocaoğlan, H.O., Kılıç, Ö., Kalaycı, G., Lacoue-Labarthe, T., Belivermiş, M., 2018a, Acidified seawater increases accumulation of cobalt but not cesium in manila clam *Ruditapes philippinarum*, *Journal of environmental radioactivity*, 174–185, 114–121.
- Sezer, N., Kılıç, Ö., Metian, M., Belivermiş, M., 2018b, Effects of ocean acidification on ^{109}Cd , ^{57}Co , and ^{134}Cs bioconcentration by the european oyster (*Ostrea edulis*): biokinetics and tissue-to-subcellular partitioning, *Journal of environmental radioactivity*, 192, 376-384.
- Shi, W., Zhao, X., Han, Y., Che, Z., Chai, X., Liu, G., 2016, Ocean acidification increases cadmium accumulation in marine bivalves: a potential threat to seafood safety, *Scientific reports*, 6, 20197.
- Shi, W., Zhao, X., Han, Y., Guo, C., Liu, S., Su, W., Yang, H., 2017, Effects of reduced pH and elevated pCO₂ on sperm motility and fertilisation success in blood clam, *Tegillarca granosa*, *New Zealand journal of marine and freshwater research*, 51(4), 543-554.
- Shirayama, Y., Thornton, H., 2005, Effect of increased atmospheric CO₂ on shallow water marine benthos, *Journal of geophysical research*, 10, C09S08.
- Siegenthaler, U., Stocker, T.F., Monnin, E., Lüthi, D., Schwander, J., Stauffer, B., Raynaud, D., Barnola, J.-M., Fischer, H., Masson-Delmotte, V., Jouzel, J., 2005, Stable Carbon Cycle–Climate Relationship During the Late Pleistocene, *Science*, 310 (5752), 1313-1317.
- Silverman, H., Steffens, W.L., Dietz, T.H., 1983, Calcium concretions in the gills of fresh water mussel serve as a calcium reservoir during periods of hypoxia, *The journal of experimental biology*, 227, 177–189.
- Silverman, J., B. Lazar, L. Cao, K. Caldeira, J. Erez, 2009, Coral reefs may start dissolving when atmospheric CO₂ doubles, *Geophysical research letters*, 36, L05606.
- Skaggs, H.S., Henry, R.P., 2002, Inhibition of carbonic anhydrase in the gills of two euryhaline crabs *Callinectes sapidus* and *Carcinus maenas*, by heavy metals, *Comparative biochemistry and physiology part C: toxicology & pharmacology*, 133, 605.
- Skirrow, G., Whitfield, M., 1975, The effect of increases in the atmospheric carbon dioxide content on the carbonate ion concentration of surface ocean water at 25 degrees, *Limnology and oceanography*, 20(1), 103–108.
- Smith, A.D., Roth, A.A., 1979, Effect of carbon dioxide concentration on calcification in the red coralline alga *Bossiella orbigniana*, *Marine biology*, 52, 217–25.
- Smith, S.V., Buddemeier, R.W., 1992, Global change and coral reef ecosystems, *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 23, 89–118.

- Sobrino-Figueroa, A., Caceres-Martinez, C., 2009, Alterations of valve closing behavior in juvenile Catarina scallops (*Argopecten ventricosus* Sowerby, 1842) exposed to toxic metals, *Ecotoxicology*, 18, 983–987.
- Sokolova, I.M., 2004, Cadmium effects on mitochondrial function are enhanced by elevated temperatures in a marine poikilotherm *Crassostrea virginica* Gmelin (Bivalvia: Ostreidae), *Journal of experimental biology*, 207, 2639–2648.
- Sokolova, I.M., Evans, S., Hughes, F.M., 2004, Cadmium-induced apoptosis in oyster hemocytes involves disturbance of cellular energy balance but no mitochondrial permeability transition, *Journal of experimental biology*, 207, 3369–3380.
- Sokolova, I.M., Frederich, M., Bagwe, R., Lannig, G., Sukhotin, A.A., 2012, Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates, *Marine environmental research*, 79, 1–15.
- Sokolova, I.M., 2013, Energy-limited tolerance to stress as a conceptual framework to integrate the effects of multiple stressors, *Integrative and comparative biology*, 53, 597–608.
- Sokolova, I.M., Matoo, O., Dickinson, G., Beniash, E., 2015, Physiological effects of ocean acidification on animal calcifiers. In: Whiteley SN, Solan M eds. *Stressors in the Marine Environments*, Oxford: Oxford University Press.
- Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K.B., Tignor, M., Miller, H.L., 2007, IPCC, 2007: Climate Change 2007: the physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, New York.
- Sovová, T., Boyle, D., Sloman, K.A., Vanegas, Pérez, C., Handy, R.D., 2014, Impaired behavioural response to alarm substance in rainbow trout exposed to copper nanoparticles, *Aquatic toxicology*, 152, 195–204.
- Soyut, H., Beydemir, Ş., Hisar, O., 2008, Effects of some metals on carbonic anhydrase from brains of rainbow trout, *Biological trace element research*, 123, 179–190.
- Suggett, D.J., Hall-Spencer, J.M., Rodolfo-Metalpa, R., Boatman, T.G., Payton, R., Pettay, D.T., Johnson, V.R., Warner, M.E., Lawson, T., 2012, Sea anemones may thrive in a high CO₂ world, *Global change biology*, 18, 3015 – 3025.
- Stein, R.A., 1977, Selective predation, optimal foraging and the predator prey interaction between fish and crayfish, *Ecology*, 58, 1237-1253.
- Stumpp, M., Trübenbach, K., Brennecke, D., Melzner, F., 2012, Resource allocation and extracellular acid–base status in the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* in response to CO₂ induced seawater acidification, *Aquatic toxicology*, 110–111, 194–207.

- Stumpp, M., Hu, M., Casties, I., Saborowski, R., Bleich, M., Melzner, F., Dupont, S., 2013, Digestion in sea urchin larvae impaired under ocean acidification, *Natura climate change*, 3, 1044– 1049.
- Stumpp, M., Wren, J., Melzner, F., Thorndyke, M.C., Dupont, S.T., 2011, CO₂ induced seawater acidification impacts sea urchin larval development I: Elevated metabolic rates decrease scope for growth and induce developmental delay, *Comparative biochemistry and physiology A: molecular & integrative physiology*, 160, 331–340.
- Sunday, J.M., Crim, R.N., Harley, C.D., Hart, M.W., 2011, Quantifying rates of evolutionary adaptation in response to ocean acidification, *PloS one*, 6(8), e22881.
- Sunday, J.M., Calosi, P., Dupont, S., Munday, P.L., Stillman, J.H., Reusch, T.B., 2014, Evolution in an acidifying ocean, *Trends in ecology & evolution*, 29(2), 117-125.
- Swift, D. J., Smith, D. L., Allington, D. J., Winpenny, K., 1995, A laboratory and field study of ²¹⁰Po depuration by edible winkles (*Littorina littorea* L.) from the Cumbrian Coast (north-eastern Irish Sea), *Journal of environmental radioactivity*, 26(2), 119-133.
- Takata, H., Aono, T., Tagami, K., Uchida, S., 2016, A new approach to evaluate factors controlling elemental sediment–seawater distribution coefficients (K_d) in coastal regions, Japan, *Science of the total environment*, 543, 315-325.
- Talmage, S.C., Gobler, C.J., 2011, Effect of elevated temperature and carbon dioxide on the growth and survival of larvae and juveniles of three species of northwest atlantic bivalves, *PLoS ONE*, 6, 1–12.
- Talmage, S.C., Gobler, C.J., 2009, The effects of elevated carbon dioxide concentrations on the metamorphosis, size, and survival of larval hard clams (*Mercenaria mercenaria*), bay scallops (*Argopecten irradians*), and Eastern oysters (*Crassostrea virginica*), *Limnology and oceanography*, 54, 2072–2080.
- Talmage, S.C., Gobler, C.J., 2010, Effects of past, present, and future ocean carbon dioxide concentrations on the growth and survival of larval shellfish, *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 107, 17246–17251.
- Tang, B., Riisgård, H.U., 2018, Relationship between oxygen concentration, respiration and filtration rate in blue mussel *Mytilus edulis*, *Journal of oceanology and limnology*, 36(2), 395-404.
- Tateda, Y., Tsumune, D., Tsubono, T., 2013, Simulation of radioactive cesium transfer in the southern Fukushima coastal biota using a dynamic food chain transfer model, *Journal of environmental radioactivity*, 124, 1-12.
- Taugbol, T., Waevagen, S.B., Linlokken, A.N., Skurdal, J., 1996, Post-molt exoskeleton mineralization in adult noble crayfish, *Astacus astacus*, in three lakes with different calcium levels, *Freshwater crayfish*, 11, 219-226.

- Tessier, A., Campbell, P.G C., 1987, Partitioning of trace metals in sediments: relationships with bioavailability. In *Ecological Effects of In Situ Sediment Contaminants* (pp. 43-52). Springer, Dordrecht.
- Thébault, H., y Baena, A. M. R., Andral, B., Barisic, D., Albaladejo, J. B., Bologna, A. S., ... & Florou, H., 2008, ^{137}Cs baseline levels in the Mediterranean and Black Sea: a cross-basin survey of the CIESM Mediterranean Mussel Watch programme, *Marine pollution bulletin*, 57(6-12), 801-806.
- Thomsen, J., Casties, I., Pansch, C., Körtzinger, A., Melzner, F., 2013, Food availability outweighs ocean acidification effects in juvenile *Mytilus edulis*: laboratory and field experiments, *Global change biology*, 19, 1017–1027.
- Thomsen, J., Haynert, K., Wegner, K.M., Melzner, F., 2015, Impact of seawater carbonate chemistry on the calcification of marine bivalves, *Biogeosciences*, 12, 1543–1571.
- Thomsen, J., Melzner, F., 2010, Moderate seawater acidification does not elicit long-term metabolic depression in the blue mussel *Mytilus edulis*, *Marine biology*, 157, 2667–2676.
- Thor, P., Dupont, S., 2015, Transgenerational effects alleviate severe fecundity loss during ocean acidification in a ubiquitous planktonic copepod, *Global change biology*, 21, 2261–2271.
- Tomanek, L., 2011, Environmental proteomics: Changes in the proteome of marine organisms in response to environmental stress, pollutants, infection, symbiosis, and development, *Annual review of marine science*, 3, 373–399.
- Tomanek, L., Zuzow, M.J., Ivanina, A.V., Beniash, E., Sokolova, I.M., 2011, Proteomic response to elevated $p\text{CO}_2$ level in eastern oysters, *Crassostrea virginica*: evidence for oxidative stress, *The journal of experimental biology*, 214, 1836–1844.
- Topcuoğlu, S., 2001, Bioaccumulation of cesium-137 by biota in different aquatic environments, *Chemosphere*, 44, 691–695.
- Topcuoglu, S., Van Doven, A. M., 1997, A study on the elimination of ^{137}Cs in mussels under contaminated fields and laboratory conditions, *Toxicological & environmental chemistry*, 58(1-4), 217-222.
- Towle, E.K., Enochs, I.C., Langdon, C. 2015, Threatened caribbean coral is able to mitigate the adverse effects of ocean acidification on calcification by increasing feeding rate, *PLoS One*, 10, e0123394.
- Uğur, A., Yener, G., Başsarı, A., 2002, Trace metals and ^{210}Po (^{210}Pb) concentrations in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) consumed at western Anatolia, *Applied radiation and isotopes*, 57(4), 565-571.

- Waldbusser, G.G., Hales, B., Langdon, C.J., Haley, B.A., Schrader, P., Brunner, E.L., Gray, M.W., Miller, C.A., Gimenez, I., Hutchinson, G., 2015, Ocean acidification has multiple modes of action on bivalve larvae, *PLoS One*, 10, e0128376.
- Waldbusser, G.G., Brunner, E.L., Haley, B.A., Hales, B., Langdon, C.J., Prah, F.G., 2013, A developmental and energetic basis linking larval oyster shell formation to acidification sensitivity, *Geophysical research letters*, 40, 2171–2176.
- Wallace, W.G., Lee, B.-G., Luoma, S.N., 2003, Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. I. Significance of metal-sensitive fractions (MSF) and biologically detoxified metal (BDM), *Marine ecology progress series*, 249, 183–197.
- Wallace, W.G., Lopez, G.R., 1996, Relationship between subcellular cadmium distribution in prey and cadmium trophic transfer to a predator, *Estuaries*, 19(4), 923–930.
- Wallace, W.G., Luoma, S.N., 2003, Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. II. Significance of trophically available metal (TAM), *Marine ecology progress series*, 257, 125–137.
- Wang, W.X., Fisher, N.S., 1997, Modeling the influence of body size on trace element accumulation in the mussel *Mytilus edulis*, *Marine ecology progress series*, 161, 103–115.
- Wang, W.X., Fisher, N.S., Luoma, S.N., 1996, Assimilation of trace elements ingested by the mussel *Mytilus edulis*: effects of alga food abundance, *Marine ecology progress series*, 129, 165–176.
- Wang, R., Wong, M.-H., Wang, W.-X., 2011, Coupling of methylmercury uptake with respiration and water pumping in freshwater tilapia *Oreochromis niloticus*, *Environmental toxicology and chemistry*, 30, 2142–2147.
- Warnau, M., Iaccarino, M., De Biase, A., Temara, A., Jangoux, M., Dubois, P., Pagano, G., 1996, Spermiotoxicity and embryotoxicity of heavy metals in the echinoid *Paracentrotus lividus*, *Environmental toxicology and chemistry*, 15, 1931–1936.
- Warnau, M., Bustamante, P., 2007, Radiotracer techniques: a unique tool in marine ecotoxicological studies, *Environmental bioindicators*, 2, 217–218.
- Watson, S.A., Lefevre, S., McCormick, M.I., Domenici, P., Nilsson, G.E., Munday, P.L., 2013, Marine mollusk predator-escape behavior altered by near-future carbon dioxide levels, *Proceeding of the royal society B*, 281, 2013-2377.
- Watson, G.J., Leach, A., Fones, G., 2008, Effects of copper and other metals on fertilization, embryo development, larval survival and settlement of the polychaete *Nereis (Neanthes) virens*, *Invertebrate reproduction & development*, 52, 101–112.

- Weis, J.S., Weis, P., Smith, G., Zhou, T., Santiago-Bass, C., 2001, Effects of contaminants on behavior: biochemical mechanisms and ecological consequences, *BioScience*, 51, 209–217.
- Whicker, F.W., Schultz, V., 1982, *Radioecology: Nuclear Energy and the Environment*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- White, S.L., Rainbow, P.S., 1984, Regulation of zinc concentration by *Palaemon elegans* (Crustacea:Decapoda): zinc flux and effects of temperature, zinc concentration and moulting, *Marine ecology progress series*, 16, 135–147.
- Wickins, J.F., 1984, The effect of hypercapnic sea water on growth and mineralization in penaeid prawns, *Aquaculture*, 41, 37–48.
- Widdicombe, S., Needham, H.R., 2007. Impact of CO₂-induced seawater acidification on the burrowing activity of *Nereis virens* and sediment nutrient flux, *Marine ecology progress series*, 341, 111–122.
- Widdicombe, S., Spicer, J. I., 2008, Predicting the impact of ocean acidification on benthic biodiversity: What can animal physiology tell us?, *Journal of experimental marine biology and ecology*, 366, 187-197.
- Widdicombe, S., Dashfield, S.L., McNeill, C.L., Needham, H.R., Beesley, A., McEvoy, A., Qxnvad, S., Clarke, K.R., Berge, J.A., 2009, Effects of CO₂ induced seawater acidification on infaunal diversity and sediment nutrient fluxes, *Marine ecology progress series*, 379, 59-75.
- Widdicombe, S., Spicer, J. I., Kitidis, V., 2011, Effects of ocean acidification on sediment fauna, *Ocean acidification*, 176-191.
- Wilde, K.L., Stauber, J.L., Markich, S.J., Franklin, N.M., Brown, P.L., 2006, The effect of pH on the uptake and toxicity of copper and zinc in a tropical freshwater alga (*Chlorella* sp.), *Archives of environmental contamination and toxicology*, 51, 174–185.
- Winans, A.L., Purcell, J.E., 2010, Effects of pH on asexual reproduction and statolith formation of the scyphozoan, *Aurelia labiata*, *Hydrobiologia*, 645, 39-52.
- Winkler, A., 1986, Effects of inorganic seawater constituents on branchial Na K ATPase activity in the shore crab *Carcinus maenas*, *Marine biology*, 92, 537-544.
- Witeska, M., Sarnowski, P., Ługowska, K., Kowal, E., 2014, The effects of cadmium and copper on embryonic and larval development of ide *Leuciscus idus* L., *Fish physiology and biochemistry*, 40, 151–163.
- Wolf, R.A., Farley, K.A., Silver, L.T., 1996, Helium diffusion and low-temperature thermochronometry of apatite, *Geochimica et cosmochimica acta*, 60(21), 4231-4240.

- Wood, H.L., Spicer, J.I., Widdicombe, S., 2008, Ocean acidification may increase calcification rates, but at a cost, *Proceedings of the royal society B: biological sciences*, 275, 1767–1773.
- Wood, H.L., Widdicombe, S., Spicer, J.I., 2009. The influence of hypercapnia and the infaunal brittlestar *Amphiura filiformis* on sediment nutrient flux—will ocean acidification affect nutrient exchange? *Biogeosciences*, 6, 2015–2024.
- Wood, H.L., Sundell, K., Almroth, B.C., Sköld, H.N., Eriksson, S.P., 2016, Population-dependent effects of ocean acidification, *Proceedings of the royal society B: biological sciences*, 283(1828), 20160163.
- Van Dame, H., 1986, Silver from Chernobyl, *Nature*, 324, 216.
- Vangenechten, J.H.D., Aston, S.R., Fowler, S.W., 1983, Uptake of Americium-241 from two experimentally labelled deep-sea sediments by three benthic species: a bivalve mollusc, a polychaete and an isopod, *Marine ecology progress series*, 13(2), 219–228.
- Vargas, C.A., de al Hoz, M., Aguilera, V., Martín, V.S., Manríquez, P.H., Navarro, J.M., Torres, R., Lardies, M.A., Lagos, N.A., 2013, CO₂-driven ocean acidification reduces larval feeding efficiency and changes food selectivity in the mollusk *Concholepas concholepas*, *Journal of plankton research*, 35, 1059–1068.
- Vargas, C., Aguilera, V., Martín, V., Manríquez, P., Navarro, J., Duarte, C., Torres, R., Lardies, M.A., Lagos, N.A., 2014, CO₂-driven ocean acidification disrupts the filter feeding behavior in Chilean gastropod and bivalve species from different geographic localities, *Estuaries and coasts*, 38, 1163–1177.
- Velez, C., Figueira, E., Soares, A. M., Freitas, R., 2016, Native and introduced clams biochemical responses to salinity and pH changes, *Science of the total environment*, 566, 260–268.
- Veltman, K., Huijbregts, M.A.J., Kolck, M.V., Wang, W.-X., Hendriks, A.J., 2008, Metal bioaccumulation in aquatic species: Quantification of uptake and elimination rate constants using physicochemical properties of metals and physiological characteristics of species, *Environmental science & technology*, 42, 852–858.
- Versantvoort, C.H.M., Oomen, A.G., Van de Kamp, E., Rompelberg, C.J.M., Sips, A.J.A.M., 2005, Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food, *Food and chemical toxicology*, 43, 31–40.
- Viarengo, A., Nott, J.A., 1993, Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates, *Comparative biochemistry and physiology*, 104C: 355–372.
- Viarengo, A., Pertica, M., Mancinelli, G., Burlando, B., Canesi, L., Orunesu, M., 1996, In vivo effects of copper on the calcium homeostasis mechanisms of mussel gill cell plasma membranes, *Comparative biochemistry and physiology part C: pharmacology, toxicology and endocrinology*, 113(3), 421–425.

- Viarengo, A., Abele-Oeschger, D., Burlando, B., 1998, Effects of Low Temperature on Pro-oxidant Processes and Antioxidant Defense Systems in Marine Organisms, Cambridge University Press, Cambridge.
- Vives i Battle, J., Wilson, R.C., Watts, S.J., McDonald, P., Craze, A., 2009, Derivation of allometric relationships for radionuclides in marine phyla, *Radioprotection*, 44, 47-52.
- Völker, C., Kämpken, I., Boedicker, C., Oehlmann, J., Oetken, M., 2015, Toxicity of silver nanoparticles and ionic silver: comparison of adverse effects and potential toxicity mechanisms in the freshwater clam *Sphaerium corneum*, *Nanotoxicology*, 9(6), 677-685.
- Vuković, Ž., 2002, Environmental impact of radioactive silver released from nuclear power plant, *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry*, 254(3), 637-639.
- Xian, J.A., Wang, A.L., Ye, C.X., Chen, X.D., Wang, W.N., 2010, Phagocytic activity, respiratory burst, cytoplasmic free-Ca²⁺ concentration and apoptotic cell ratio of haemocytes from the black tiger shrimp *Penaeus monodon* under acute copper stress, *Comparative biochemistry and physiology*, Part C, 152, 182–188.
- Yin, Q., Wang, W.X., 2018, Uniquely high turnover of nickel in contaminated oysters *Crassostrea hongkongensis*: biokinetics and subcellular distribution, *Aquatic toxicology*, 194, 159–166.
- Yue, C. F., Wang, T. T., Wang, Y. F., Peng, Y., 2009, Effect of combined photoperiod, water calcium concentration and pH on survival, growth, and moulting of juvenile crayfish (*Procambarus clarkii*) cultured under laboratory conditions, *Aquaculture research*, 40(11), 1243-1250.
- Zervoudaki, S., Frangoulis, C., Giannoudi, L., Krasakopoulou, E., 2014, Effects of low pH and raised temperature on egg production, hatching and metabolic rates of a Mediterranean copepod species (*Acartia clausi*) under oligotrophic conditions, *Mediterranean marine science*, 15(1), 74-83.
- Zhang, H., Shin, P.K.S., Cheung, S.G., 2015, Physiological responses and scope for growth upon medium-term exposure to the combined effects of ocean acidification and temperature in a subtidal scavenger *Nassarius conoidalis*, *Marine environmental research*, 106, 51–60.
- Ziveri, P., Passaro, M., Incarbona, A., Milazzo, M., Rodolfo-Metalpa, R., Hall-Spencer, J.M., 2014, Decline in coccolithophore diversity and impact on coccolith morphogenesis along a natural CO₂ gradient, *The biological bulletin*, 226(3), 282-290.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Narin SEZER
Doğum Yeri	Kırcaali
Doğum Tarihi	23.12.1985
Uyruğu	X T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	0536 844 56 14
E-Posta Adresi	narın_sezer@yahoo.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri

Lisans

Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	02.07.2010

Yüksek Lisans

Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Fakültesi
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Radyobiyojoloji

Doktora

Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Genel Biyoloji Programı

Makale ve Bildiriler

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

Önder Kılıç, Murat Belivermiş, Ercan Sıkdokur, Narin Sezer, Sema Akyıl Erentürk, Sevilay Hacıyakupoğlu, Afag Madadzada, Marina Frontasyeva (2019) Assessment of ^{210}Po and ^{210}Pb by moss biomonitoring technique in Thrace region of Turkey, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 322, 1-8.

Murat Belivermiş, Önder Kılıç, Ebru Efe, Narin Sezer, Onur Gönülal, Tuğçe Nagihan Arslan Kaya (2019) Mercury and Po-210 in mollusc species in the island of Gökçeada in the north-eastern Aegean Sea: Bioaccumulation and risk assessment for human consumers, *Chemosphere*, 235, 876-884.

Önder Kılıç, Murat Belivermiş, Narin Sezer, Gülşah Kalaycı, Furkan Gözel (2019) Multi-pollutant Monitoring in a Rehabilitated Estuary: Elements and Radionuclides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 102, 1-8.

Önder Kılıç, Murat Belivermiş, Onur Gönülal, Narin Sezer, Fernando P. Carvalho (2018) ^{210}Po and ^{210}Pb in fish from northern Aegean Sea and radiation dose to fish consumers. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 318, 1189-1199.

Narin Sezer, Önder Kılıç, Marc Metian, Murat Belivermiş (2018) Effects of Ocean Acidification on ^{109}Cd , ^{57}Co , and ^{134}Cs Bioconcentration by the European Oyster (*Ostrea Edulis*): Biokinetics and Tissue-to-Subcellular Partitioning. *Journal Of Environmental Radioactivity*, 192, 376-384.

Önder Kılıç, Murat Belivermiş, Narin Sezer, Gülşah Kalaycı (2018) Delineation of Radionuclide Bioaccumulation in Golden Horn, Istanbul, Using Bioindicator Mussel (*Mytilus galloprovincialis*): Passive Monitoring and Transplantation. *Nuclear Technology and Radiation Protection*, vol:33(1), 125-132.

Erol Sarı, M. Namıl Çağatay, Dursun Acar, Murat Belivermiş, Önder Kılıç, Tuğçe Nagihan Arslan, Ali Tutay, Mehmet Ali Kurt, Narin Sezer (2018) Geochronology and sources of heavy metal pollution in sediments of Istanbul Strait (Bosporus) outlet area, SW Black Sea, Turkey. *Chemosphere*, vol:205, 387-395.

Narin Sezer, Hasan Oğuz Kocaoğlu, Önder Kılıç, Thomas Lacoue-Labarthe, Murat Belivermiş (2018) Acidified seawater increases accumulation of cobalt but not cesium in manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Journal of Environmental Radioactivity*, vol.1, no.1, pp.1-8.

Murat Belivermiş, Önder Kılıç, Narin Sezer, Gülşah Kalaycı, Marc Metian (2017) Trophic transfer of radiocesium, ^{134}Cs , in Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Journal of Environmental Radioactivity*, vol:177, pp.165-168.

Narin Sezer, Murat Belivermiş, Önder Kılıç, Sayhan Topçuoğlu, Yavuz Çotuk (2014) Biokinetics of radiocesium in shrimp (*Palaemon adspersus*): seawater and food exposures. *Journal of Environmental Radioactivity*, vol:132, p:15-20.

Uluslar arası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceeding) basılan bildiriler.

Kılıç, Ö., Belivermiş, M., Sezer, N., Sıkdokur, E., Erentürk, S., Hacıyakupoğlu, S., “Determination of ^{210}Po and ^{210}Pb by moss monitoring technique in Thrace region of Turkey” BioMAP8, Dubna, Russia, 2-7 July 2018, pp.31.

Sarı E., Belivermiş M., Kılıç Ö., Arslan T.N., Sezer N., Çağatay N., et al., “Sedimentation rate and heavy metal pollution in core sediments from south western Black Sea derived from ^{210}Pb and ^{137}Cs chronogy” ENVIRA-2017, Vilnius, LITVANYA, 29 Mayıs-2 Haziran 2017, pp. 114-114.

Kocaoğlan H.O., Sezer N., Kılıç Ö., Belivermiş M., “Impacts of ocean acidification on ^{57}Co and ^{134}Cs bioconcentrationin manila clam *Ruditapes philippinarum*”, International Conference on Environmental Radioactivity (ENVIRA, 2107), Vilnius, LITVANYA, 29 Mayıs-2 Haziran 2017, pp. 1-3.

Kılıç Ö., Belivermiş M., Gönülal O., Sezer, N., “ ^{210}Po and ^{210}Pb in various fish species from Gökçeada island, North Aegean Sea and contribution of ^{210}Po to radiation dose”, International Conference on Environmental Radioactivity (ENVIRA, 2107), Vilnius, LITVANYA, 29 Mayıs-2 Haziran 2017, pp. 50-51.

Belivermiş M., Kılıç Ö., Sezer N., Kalaycı G., “Bioaccumulation of metals by using mussel *Mytilus galloprovincialis* in rehabilitated estuary: Golden Horn”, 18th International Conference on Heavy Metals in the Environment (ICHMET, 2016), Ghent, BELÇİKA, 12-15 Eylül 2016, pp. 749-750.

Kılıç Ö., Belivermiş M., Sezer N., Kalaycı G., “Determination of metal concentration in surface and trapped sediment of the Golden Horn estuary, Istanbul”, 18th International Conference on Heavy Metals in the Environment (ICHMET, 2016), Ghent, BELÇİKA, 12-15 Eylül 2016, pp. 39-40.

Sezer, N., Belivermiş, M., Kılıç, Ö., Kalaycı, G., Kılıç, K.D., 2015. Bioaccumulation of Radiocesium in *Isochrysis galbana* and *Phaeodactylum tricorutum* and Its Assimilation in Manila Clam *Ruditapes philippinarum*, ENVİRA, Thessaloniki, Greece.

Kılıç, Ö., Kalaycı, G., Belivermiş, M., Sezer, N., Gözel, F., 2015. Seasonal and Spatial Distributions and Fluxes of ^{137}Cs , ^{226}Ra , ^{228}Ra , and ^{40}K in the Golden Horn Estuary, İstanbul, ENVİRA, Thessaloniki, Greece.

Kılıç, Ö., Belivermiş, M., Kalaycı, G., Sezer, N., Gözel, F., 2015. Spatial and Temporal Variations of ^{210}Po and ^{210}Pb Activity Concentrations in Surface Sediment and Settling Particles of the Golden HornEstuary, 3rd International Conference on Po and Radioactive Pb Isotopes, Kuşadası, Turkey.

Belivermiş, M., Kılıç, Ö., Sezer, N., Kalaycı, G., Çotuk, Y., 2015. Delineation of ^{210}Po and ^{210}Pb Bioaccumulation in the Golden Horn Estuary by Using Bioindicator

Mussel (*Mytilus galloprovincialis*): Passive Monitoring and Transplantation, 3rd International Conference on Po and Radioactive Pb Isotopes, Kuşadası, Turkey.

Sezer, N., Kalaycı, G., Topçuoğlu, S., Kılıç, Ö., Belivermiş, M., 2015. Bioconcentration of ^{210}Po in Rapa Whelk, *Rapana venosa* in Laboratory Conditions, 3rd International Conference on Po and Radioactive Pb Isotopes, Kuşadası, Turkey.

Sezer, N., Belivermiş, M., Kılıç, Ö., Topçuoğlu, S., Çotuk, Y., 2013, Biokinetics of Radiocesium in Prawn (*Palaemon adspersus*): Seawater and Food Exposures, CIESM Congress, Marseille, France.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan bildiri kitabında basılan bildiriler

Kalaycı, G., Kılıç, O., Belivermiş, M., Çotuk, Y., Sezer N., Topçuoğlu, S., 2011, İstanbul Kocaeli ve Düzce toprak örneklerinde ^{137}Cs radyonüklidinin dikey dağılımının belirlenmesi, Düzce Üniversitesi, Ekoloji Sempozyumu, Düzce.

Kalaycı, G., Belivermiş, M., Kılıç, O., Topçuoğlu, S., Çotuk, Y., Sezer N., Gözel F., 2012, Manila kum midyesinde (*Ruditapes philippinarum*) radyosezyum biyokinetiğinin araştırılması, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir.

Pestrelı, D., Kalaycı, G., Gözel F., Sezer N., Topçuoğlu, S., Çotuk, Y., 2012, Deniz salyangozunda (*Rapana venosa*) radyosezyum biyobirikim kinetiğinin araştırılması, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir.

Acar D., Örcen S., Sakınç M., Kılıç Ö., Belivermiş M., Sarı E., Çağatay N., Vardar, M., Sezer, N., “ İstanbul Haliç’inde *Balanus* sp. türünün çevresel adaptasyonu”, 18. Paleontoloji-Stratigrafi Çalıştayı, Tekirdağ, Türkiye, 28 Eylül-1 Ekim 2017, ss.27-28.

Projeler

Tübitak 1001 projesi, 112Y060 nolu “Haliç’te Kısa ve Uzun Vadede Meydana Gelen Kimyasal ve Radyoaktif Kirlenmenin, ^{210}Pb Sediment Tarihleme, Sediment Tuzağı ve Biyomonitöring Yöntemleri Kullanılarak Araştırılması” projesinde Bursiyer, 2013-2015.

İstanbul Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Birimi, “Haliç’te Kısa ve Uzun Vadede Meydana Gelen Kimyasal ve Radyoaktif Kirlenmenin, ^{210}Pb Sediment Tarihleme, Sediment Tuzağı ve Biyomonitöring Yöntemleri Kullanılarak Araştırılması” projesinde Araştırmacı, 2013-2015.

