

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yasemin KÖTEMEN

**KURŞUN VE KURŞUN-ÇİNKO KARIŞIMININ FARKLI DERİŞİMLERİNİN
ETKİSİNE BIRAKILAN *OREOCHROMIS NILOTICUS*'DA KURŞUNUN
DOKULARDA BİRİKİMİ VE Na^+ , K^+ -ATP az AKTİVİTESİNE ETKİSİ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2013

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KURŞUN VE KURŞUN-ÇİNKO KARIŞIMININ FARKLI DERİŞİMLERİNİN
ETKİSİNE BIRAKILAN *OREOCHROMIS NILOTICUS*'DA KURŞUNUN
DOKULARDA BİRİKİMİ VE Na⁺, K⁺-ATP az AKTİVİTESİNE ETKİSİ**

Yasemin KÖTEMEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 31/01/2013 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu
İle Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Ferit KARGIN Doç. Dr. Ramazan Bilgin Yrd. Doç. Dr. Mehmet SULANÇ
DANIŞMAN ÜYE ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

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

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FEF2009YL56**

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KURŞUN VE KURŞUN-ÇİNKO KARIŞIMININ FARKLI DERİŞİMLERİNİN
ETKİSİNE BIRAKILAN *OREOCHROMIS NILOTICUS*'DA KURŞUNUN
DOKULARDA BİRİKİMİ VE Na^+ , K^+ -ATP az AKTİVİTESİNE ETKİSİ**

Yasemin KÖTEMEN

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Ferit KARGIN

Yıl:2013 , Sayfa: 61

Jüri : Prof. Dr. Ferit KARGIN

: Doç. Dr. Ramazan BİLGİN

: Yrd.Doç. Dr. Mehmet SULANÇ

Bu araştırmada kurşun ve kurşun+çinko karışımlarına bırakılan *Oreochromis niloticus*'da kurşunun karaciğer, böbrek, solungaç ve kas dokularında birikimi ile Na^+ , K^+ -ATP az enzim aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Balıklar 7, 14 ve 21 gün sürelerle 0.1 mg/L Pb, 0.1 mg/L Pb+0.5 mg/L Zn, 0.5 mg/L Pb, 0.5 mg/L Pb+2.5 mg/L Zn 1.0 mg/L Pb, 1.0 mg/L Pb+5.0 mg/L Zn ortam derişimlerinin etkisine bırakılarak dokularında kurşun birikimi ile Na^+ , K^+ -ATP az enzim aktivitesine etkisi belirlenmiştir.

Bu çalışmada dokularda kurşun birikimi ortamda kurşun derişiminin artışı ve etkide kalınan sürenin uzamasıyla artmıştır. Kurşun birikimi en fazla böbrek dokusunda bulunmuş, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlemiştir. Denenen tüm şartlarda *O. niloticus*'un tüm dokularında kurşun birikimi çinkonun varlığında azalmıştır. Çalışılan tüm derişimlerde Zn *O. niloticus*'un böbrek, solungaç, karaciğer ve kas dokularında Pb birikimini önemli ölçüde azaltmıştır.

O. niloticus'da Pb ve Pb+Zn karışımı dokularda Na^+ , K^+ -ATP az aktivitesinde değişikliğe neden olmuştur. Denenen tüm ortam derişimlerinde, kurşunun etkisinde Na^+ , K^+ -ATP az aktivitesi solungaç, böbrek ve kas dokusunda azalmış, karaciğerde ise artış göstermiştir. Pb+Zn karışımlarında Na^+ , K^+ -ATP az enzim aktivitesi tüm dokularda azaldığı, veya değişmediği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kurşun, Çinko, Birikim, Na^+ , K^+ -ATPaz, *Oreochromis niloticus*

ABSTRACT

MSc THESIS

EFFECTS OF LEAD ON Na⁺, K⁺-ATP ase ACTİVİTY AND ACCUMULATION OF LEAD IN TISSUES OF *OREOCHROMIS NILOTICUS* EXPOSED TO DIFFERENT CONCENTRATIONS OF LEAD AND LEAD- ZİNC MİXTURE

Yasemin KÖTEMEN

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES ACTİVİTY
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Supervisor : Prof. Dr. Ferit KARGIN
Year:2013 , Pages: 61
Jury : Prof. Dr. Ferit KARGIN
: Assoc. Prof. Dr. Ramazan BİLGİN
: Asst Prof. Dr. Mehmet SULANÇ

In this study, effects of lead on Na⁺, K⁺-ATP ase enzyme activity and accumulation in kidney, liver, gill and muscle of *Oreochromis niloticus* were investigated in both Pb and Pb+Zn mixtures. The fish were exposed to 0.1 mg/L Pb, 0.1 mg/L Pb+0.5 mg/L Zn, 0.5 mg/L Pb, 0.5 mg/L Pb+2.5 mg/L Zn and 1.0 mg/L Pb, 1.0 mg/L Pb+5.0 mg/L Zn mixtures for 7, 14 and 21 days to observe lead accumulation and Na⁺, K⁺-ATP ase enzyme activities in tissues.

Lead accumulation increased with increasing concentrations of lead in the medium and with increasing periods of exposure tissues studied. Highest accumulation occurred in the kidney followed by gill, liver, and muscle. In all exposure period, accumulation of lead in whole tissues of *O. niloticus* decreased in the presence of zinc. In all mixed exposure concentrations, zinc significantly reduced the accumulation of lead in the kidney, gill, liver and muscle of *O. niloticus*.

In tissues of *O. niloticus*, Na⁺,K⁺-ATP ase activities were altered by exposure Pb and Pb+Zn mixtures. In all the concentrations tested, lead caused a decrease in Na⁺,K⁺-ATP ase activity in the gill, kidney and muscle while it caused an increase in liver tissues. In Pb+Zn mixtures have been determined to decrease or to have no effect Na⁺,K⁺-ATP ase activity in all tissue of exposed fish.

Keywords: Lead, Zinc, Accumulation, Na⁺,K⁺-ATP ase, *Oreochromis niloticus*

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın her aşamasında bilimsel desteğini ve öngörülerini hiç esirgemeyen sayın hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Ferit KARGIN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında bana her türlü yardım ve desteğini veren sayın Arş. Gör. Dr. Gülbin GÖK'e teşekkür ederim.

Bu güne kadar bana her türlü desteği sağlayan ve kararlarımda hep yanımda olan aileme de teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
3. MATERYAL VE METOD	11
3.1. Doku Homojenatların Hazırlanışı	12
3.2. İnorganik Fosfat Tayini	13
3.3. Na^+/K^+ ATPaz Aktivitesinin Belirlenmesi	14
3.4. Protein Yöntemi	15
4. BULGULAR	17
4.1. Kurşun Düzeyleri	17
4.2. Pb ve Pb+Zn Karışımının Na^+ , K^+ -ATPaz Aktivitesi Üzerine Etkisi	27
4.2.1. Solungaç Dokusunda Na^+ , K^+ -ATPaz Aktivitesi	27
4.2.2. Böbrek Dokusunda Aktivitesi Na^+ , K^+ -ATPaz	32
4.2.3. Karaciğer Dokusunda Na^+ , K^+ -ATPaz Aktivitesi	36
4.2.4. Kas Dokusunda Na^+ , K^+ -ATPaz Aktivitesi	40
5. TARTIŞMA	45
KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Na^+, K^+ -ATPaz Yöntemi	14
Çizelge 3.2. Lowry Yöntemi ile Protein Tayini	16
Çizelge 4.1. <i>O. niloticus</i> 'da farklı ortam derişimlerinde 7. günde doku ve organlarındaki kurşun birikimi ($\mu\text{g/g}$ k.a.)	18
Çizelge 4.2. <i>O. niloticus</i> 'da farklı ortam derişimlerinde 14. günde doku ve organlarındaki kurşun birikimi ($\mu\text{g/g}$ k.a.)	18
Çizelge 4.3. <i>O. niloticus</i> 'da farklı ortam derişimlerinde 21. günde doku ve organlarındaki kurşun birikimi ($\mu\text{g/g}$ k.a.)	19
Çizelge 4.4. Kurşun ve kurşun + çinko karışımının etkisine 7 günlük süreyle bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g}$ k.a.).	20
Çizelge 4.5. Kurşun ve kurşun + çinko karışımının etkisine 14 günlük süreyle bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g}$ k.a.).	21
Çizelge 4.6. Kurşun ve kurşun + çinko karışımının etkisine 28 günlük süreyle bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g}$ k.a.).	22
Çizelge 4.7. <i>O. niloticus</i> 'da 0.1 mg/L Pb ve 0.1 mg/L Pb+0.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin solungaç Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.....	28
Çizelge 4.8. <i>O. niloticus</i> 'da 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin solungaç Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.....	28
Çizelge 4.9. <i>O. niloticus</i> 'da 1.0 mg/L Pb ve 1.0 mg/L Pb+5.0 mg/L Zn ortam derişimlerinin solungaç Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.....	29
Çizelge 4.10. <i>O. niloticus</i> 'da 0.1 mg/L Pb ve 0.1 mg/L Pb+0.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin böbrek Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.....	32
Çizelge 4.11. <i>O. niloticus</i> 'da 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin böbrek Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.....	33

Çizelge 4.12. <i>O. niloticus</i> 'da 1.0 mg/L Pb ve 1.0 mg/L Pb+5.0 mg/L Zn ortam derişimlerinin böbrek Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.....	33
Çizelge 4.13. <i>O. niloticus</i> 'da 0.1 mg/L Pb ve 0.1 mg/L Pb+0.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin karaciğer Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.....	36
Çizelge 4.14. <i>O. niloticus</i> 'da 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin karaciğer Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.....	37
Çizelge 4.15. <i>O. niloticus</i> 'da 1.0 mg/L Pb ve 1.0 mg/L Pb+5.0 mg/L Zn ortam derişimlerinin karaciğer Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.....	37
Çizelge 4.16. <i>O. niloticus</i> 'da 0.1 mg/L Pb ve 0.1 mg/L Pb+0.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin kas Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi	40
Çizelge 4.17. <i>O. niloticus</i> 'da 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin kas Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi	41
Çizelge 4.18. <i>O. niloticus</i> 'da 1.0 mg/L Pb ve 1.0 mg/L Pb+5.0 mg/L Zn ortam derişimlerinin kas Na^+, K^+ -ATPaz Aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1. Fosfat derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki.....	14
Şekil 4.1. <i>O.niloticus</i> 'da böbrek dokusunda kurşun birikimine çinko ortam derişimleri ve sürenin etkisi	24
Şekil 4.2. <i>O.niloticus</i> 'da solungaç dokusunda kurşun birikimine çinko ortam derişimleri ve sürenin etkisi	25
Şekil 4.3. <i>O.niloticus</i> 'da karaciğer dokusunda kurşun birikimine çinko ortam derişimleri ve sürenin etkisi	26
Şekil 4.4. <i>O.niloticus</i> 'da kas dokusunda kurşun birikimine çinko ortam derişimleri ve sürenin etkisi	27
Şekil 4.5. <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusunda Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi üzerine ortamdaki Pb ve Pb+Zn derişimlerinin etkisi gün	31
Şekil 4.6. <i>O. niloticus</i> 'un böbrek dokusunda Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi üzerine ortamdaki Pb ve Pb+Zn derişimlerinin etkisi	35
Şekil 4.7. <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi üzerine ortamdaki Pb ve Pb+Zn derişimlerinin etkisi	39
Şekil 4.8. <i>O. niloticus</i> 'un kas dokusunda Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi üzerine ortamdaki Pb ve Pb+Zn derişimlerinin etkisi gün	43

1. GİRİŞ

İnsan aktivitelerindeki artış kimyasalların sayısında bir artışa ve bunların su ortamlarında belirmesine neden olmuş buda ekosisteme ve dolayısıyla canlılar üzerinde zararlı etkilere yol açmıştır. Ağır metaller potansiyel zararlılardır ve organizmalar ağır metallerin düşük düzeylerinin etkisinde kalmalarında ve bunları absorblamaları durumunda sağlıkları ciddi bir şekilde bozulmaktadır. Ağır metaller, kağıt, petrokimya, gübre, rafineriler, otomobil endüstrisi gibi sanayi kuruluşları tarafından üretilmekte ve çevredeki organizmalar üzerine toksik etkiler yapmaktadırlar. Ağır metal iyonları tarafından bazı enzimlerin dönüşümsüz inhibisyonu nedeniyle organizmaların çoğu için ağır metal konsantrasyonları mgL^{-1} düzeylerinde toksik olduğu belirtilmiştir (Henczova ve ark., 2008). Pb, Cd, Hg gibi gerekli olmayan metaller canlılar için çok tehlikelidirler, özellikle su canlıları bunların düşük konsantrasyonlarının etkisinde sürekli kalmaları sonucu bu metalleri biriktirerek besin yoluyla insanlara transfer ettikleri belirtilmiştir (Gaspic ve ark., 2002).

Kurşun (Pb) çevrede her zaman bulunabilen bir metaldir ve doğal olarak iz miktarlarda toprakta, suda ve havada bulunmaktadır. Pb antropojenik aktiviteler esnasında geniş bir şekilde kullanımı ortamda Pb residülerinde bir artışa neden olmuş buda Pb'nin biyokimyasal siklusundaki dengeyi bozmuştur (Labrot ve ark., 1999). Pb gerekli olmayan toksik bir metal olup doğal olarak kayalarda ve toprakta antropojenik olarak madencilik, gübre, benzin, kaplama sanayi gibi çeşitli endüstri kuruluşlarından su ortamına girmektedir. Kirlenmemiş sularda $0.02 \mu\text{Pb/L}$ düzeyinde olduğu tahmin edilmektedir (Alves ve ark., 2006). Pb fiziksel ve kimyasal özellikleriyle endüstride oldukça faydalı bir metaldir ancak organizmaların dokularında birikebilme özelliği nedeniyle su organizmaları bu metalin etkisinde kaldıklarında dokularında biriktirerek besin zincirinin son halkasını oluşturan insanlara taşımaktadırlar (Henczova ve ark., 2008). Kirlenmemiş ortamlarda balıklar Pb'yi su, besin ve az miktarlarda da deri yoluyla aldıkları belirtilmiştir. (Dallinger ve ark., 1987; Köck ve ark., 1988; Rogers ve ark., 2003, 2005). Pb balıklarda iyon regülasyonunun bozulmasına, kemik deformasyonuna ve hemoglobinin sentezinin

bozulmasına neden olduğu saptanmıştır (Rogers ve ark., 2003, 2005; Patel ve ark., 2006).

Balıklar, kirleticilerin düzeylerinin çevredeki değişimlerinin biyolojik olarak izlenmesinde hemen her yerde geniş bir şekilde kullanıldıkları belirtilmektedir (Henczova ve ark., 2008).

Endüstriyel ve şehir atık suları genelde Cu, Pb ve Zn gibi metal kombinasyonlarını ve organik kirleticileri birlikte içerdiği ve bunların hemen tümü direkt veya indirekt olarak akuatik sisteme bırakıldığı belirtilmiştir (Cooper ve ark., 2009). Kirlenmiş sular tek bir metalden ziyade birçok metal karışımını içermektedir, bunun bir sonucu olarak da su organizmalarının karışık metallerin etkisi altında olduğu saptanmıştır (Weltje, 1998).

Organizmalarda metal karışımının etkisinde vücutta metal birikiminin belirlenmesi, metalin etkisinin belirlenmesi açısından faydalıdır. Bununla birlikte metaller arasındaki etkileşim birikim ve toksisiteyi etkileyebilir. Bundan dolayı dokularda birikim üzerine metallerin birbirlerine etkilerinin belirlenmesi gerekmektedir. Çünkü bir çok metalin çevrede artan derişimleri birlikte bulunmaktadır (Norwood ve ark., 2007). Genelde bir metal ile diğer metalin biyotik ligandlar üzerinde bağlanma yeri için rekabetlerinde metallerden biri diğer metalin bağlanmasını engelleyebilir (Playle, 1998).

Bazı toksik ve gerekli metallerin kimyasal özelliklerinin ortak olması nedeniyle bir metalin toksisitesi diğer metallerle yapacağı etkileşim ile önemli düzeyde değişebilir (Goyer, 1995). Gerekli ağır metaller, gerekli olmayan metallerin etkisindeki organizmaların durumunu pozitif olarak etkileyebilir (Allonso ve ark., 2004). Balıklarda Zn'nun Cd'un toksisitesini azalttığı belirtilmiştir (Kargın ve Coğun, 1999; Remya ve ark., 2008). Organizmalarda besinde gerekli metallerin (Fe, Zn, Ca) eksikliği toksik metallerin toksisitesini ve birikimini arttırabilmektedir. Zn, Ca ve Fe'in eksikliği, Pb ve Cd gibi metallerin toksik etkilerinde bir artışa neden olduğu saptanmıştır (Goyer, 1995). Toksik ve gerekli metaller arasındaki kimyasal etkileşim genelde yüksek düzeylerde metallerin etkisine deneysel olarak bırakılan birçok hayvanda araştırılmıştır (Kargın ve Coğun, 1999; Gök, 2006; Jemai ve ark., 2007; Remya ve ark., 2008). Organizmalarda düşük metal düzeylerinin etkisi altında

metaller arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde, metalin etki mekanizmasının ve organizmada toksik metalin birikiminde gerekli metalin durumunun belirlenmesi gereklidir.

Metaller arasındaki etkileşimler, organizmalarda tek bir metale göre, metalin alınımını, dağılımını ve atılımını etkileyebildiği belirtilmiştir (Zidar ve ark., 2009). Organizmalarda metallerin birikimi üzerine metallerin birlikte etkisi sinergistik veya antagonistik şekilde olduğu belirtilmiştir (Daka ve Hawkins, 2006).

Çinko (Zn), Fe'den sonra vücutta bulunması gereken ikinci önemli iz elementtir. Balıklar ve diğer su organizmaları için önemli bir mikronütrienttir (Zhang ve Wang, 2005). Birçok enzim ve proteinlerin yapısına katılmaktadır (Maity ve ark., 2008). Zn'nun Cd iyonlarıyla rekabete girmesi nedeniyle Zn'nun Cd'un toksik etkisini yok ettiği, doku nekrosisinin oluşumunu engellediği belirtilmiştir (Remyla ve ark., 2008).

Balıklarda organ/dokularda ağır metallerin etkisi ve birikimi metalin etki süresinin uzunluğuna, derişime ve verilış şekline bağılı olarak değışim gösterir. Metallerin toksik etkileri, dokuların işlevsel ve fizyolojik durumuyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (Campana ve ark., 2003). Karaciğer ve böbrek dokusu, iz elementlerin metabolizmasındaki önemleri ve metal birikiminde hasar görebilen başlıca dokular olması nedeniyle bu dokularda metaller arasındaki etkileşimin çalışılması gerektiğı belirtilmiştir (Alonso ve ark., 2004). Alves ve Wood, (2006) *Oncorhynchus mykiss*'de en yüksek Pb birikiminin böbreklerde olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmaların çoğunda Pb'nun akut etkisinde, solungaçlarda önemli miktarlarda Pb biriktiğı saptanmıştır (Alves ve ark., 2006; Patel ve ark., 2006). Bu nedenle solungaçlar Pb toksisitesinin oluştuğı büyük bir doku olarak kabul edilmektedir. Balıkların farklı dokuları (böbrek, karaciğer, solungaç) deniz ortamındaki ağır metal kirliliğinin derecesinin indikatörü olarak kullanılmaktadırlar (Gaspic ve ark., 2002).

Kirlenmiş ortamlarda kimyasal kirleticilerin karışımlarının olumsuz etkilerinin belirlenebilmesi için sadece kimyasal analiz tek başına yeterli olmayabilir. Aynı zamanda farklı doğal türlerde biyomarkır parametrelerinin belirlenerek izlenmesinin gerekli olduğu belirtilmektedir (De La Torre ve ark., 2005). Biyomarkırlar, ksenobiyotiklerin hücrel veya biyokimyasal proseslerde yapısal ve

işlevsel değişiklikler oluşturması olarak tanımlanır ve biyolojik sistemlerde veya örneklerde ölçülebilmektedir. Diğer bir ifadeyle biyomarkır terimi, ksenobiyotiklerin etkisindeki organizmalarda biyokimyasal değişikliklerin belirlenmesi olarak ifade edilmektedir (Vijayavel ve ark., 2007). Biyomarkırlar üzerindeki çalışmaların çoğu organizmalarda laboratuvar koşullarında seçilen stres etkenlerinin altında yürütülmektedir.

Organizmalarda ATP az düzeyindeki değişikliklerin belirlenmesi çevresel kirleticilerin neden olduğu sağlığa zararlı etkilerin belirlenmesinde çok önemlidir ayrıca stres biyomarkırı olarak ta kullanılmaktadır. Membran enzimlerindeki ATP az değişiklikleri fizyolojik işlevsel bozuklukları yansıtmaktadır.

Adenosin trifosfataz (ATP az) enzimi omurgalı hayvanlarda oksidatif fosforilasyon regülasyonunda, iyon taşınımında, kas işlevlerinde ve diğer membran taşınımlarıyla ilgili olaylarda hayati bir önem taşımaktadır (Prashanth ve David, 2010). ATP azlar membranlar arasında iyon taşınmasından sorumlu enzimlerdir, bundan dolayı hücresel volümü, osmotik basıncı ve membran permeabilitesini düzenleme yeteneğine sahip enzimlerdirler. Metaller ATP az sistemine bağlı kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla plazma membranından transfer edilirler (Vijayavel ve ark., 2007).

Na^+/K^+ ATP az bir membran enzimidir, yapısında sülfidril içermesi nedeniyle hücrenin yaşamını sürdürmesinde çok önemli işlevi bulunmaktadır. Buna ek olarak Na^+ ve K^+ iyonlarının taşınmasını sağlar, ayrıca hücrelere zarar veren oksijen radikallerinin oluşumundan etkilenen enzimler arasında ilk sırada yer almaktadır (Sayeed ve ark., 2000). Na^+/K^+ ATP az balıklarda solungaçlarda iyon taşınımında önemli bir rol oynamaktadır. Bu enzim tüm omurgalıların hücre membranlarında özellikle iyonik ve osmotik regülasyon yapılan dokularda bulunmaktadır. Na^+/K^+ ATP az hücrelerde Na^+ ve K^+ iyonlarının taşınmasının biyokimyasal bir ifadesidir ve mitokondriyal sistemde ATP'nin biyosentezinde Mg^{+2} ATP az ile ilgisi bulunmaktadır (Prashanth ve David, 2010). Pelgrom ve ark. (1995) 6 gün boyunca Cu'nun etkisine bıraktıkları *Oreochromis mossambicus*'da solungaç Na^+/K^+ ATP az aktivitesinin azaldığını belirtmişlerdir. Cu'nun etkisine bırakılan *Fundulus heteroclitus*'un solungaçlarında Na^+/K^+ ATP az'ın inhibe olduğu ve iyon

regölasyonunun bozulduğu belirtilmiştir (Blanchard ve Grosell, 2006). Pb sülfidril gruplarına yüksek ilgisi nedeniyle proteinlere bağlanır. İyon taşıyıcı enzimler Na^+/K^+ ATP az, Ca^{+2} ATP az ve karbonik anhidraz gibi enzimlerin solungaçlarda ve böbreklerde Pb tarafından inhibe olduğu saptanmıştır (Rogers ve ark., 2003; Rogers ve Wood, 2004; Rogers ve ark., 2005).

Bu çalışmada *Oreochromis niloticus*'un karaciğer, böbrek, solungaç ve kas dokularında kurşun birikimi üzerine çinkonun koruyucu etkisi ile bu dokularda kurşun ve kurşun+çinkonun ATP az aktivitesine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tulasi ve ark. (1992), *Anabas testudineus* balıklarının dokularında Pb birikimi ile ilgili yapılan bir çalışmada 30. gününün sonunda en yüksek kurşun birikiminin böbrek dokusunda saptanmış olup, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusunun izlediği belirtilmiştir.

Anderson ve ark. (1997), Kurşun birikimi ile ilgili yaptıkları bir araştırmada, *Procambarus clarkii*'nin dokularında kurşun birikiminin ortam derişimindeki artışa ve sürenin uzamasına bağlı olarak arttığını saptamışlardır.

Blasco ve Puppo, (1999), *Ruditapes philippinarium*'da farklı dokularda kurşunun birikimi ile ilgili yapılan bir çalışmada solungaç ve sindirim bezinde birikimin diğer dokulara oranla yüksek düzeylerde olduğunu belirtmişlerdir.

Hogstrand ve ark. (1999) Ag'nin etkisine bıraktıkları *Platichthys stellatus*'da solungaç ve barsak Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesinin kontrole göre artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesindeki bu artışın Cl ve Na düzeylerinde bir işlev bozukluğundan kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Kargın ve Çoğun (1999), *Tilapia nilotica*'da çinko ve kadmiyum karışımının etkisinde doku ve organlarda metal birikimi ve eliminasyonu ile ilgili yaptıkları bir araştırmada, çinkonun kadmiyum birikimi üzerine negatif bir etki yaptığını ve çinko bulunan ortamda dokularda kadmiyum birikiminin oldukça azaldığını belirtmişlerdir.

Labrot ve ark. (1999), *Bracydanio rerio*, *Corbicula Sp.* ve *Eisenia felida andrei* gibi türler ile yapılan araştırmada Pb birikiminin türe göre değişim gösterdiğini, *B. reiro*'da diğer türlere göre Pb birikiminin daha hızlı olduğunu belirlemişlerdir.

De la Torre ve ark. (2000) 1.6 mg/L Cd etkisine 14 gün süreyle bıraktıkları *C. carpio*'yu daha sonra Cd içermeyen suya 19 gün süre ile bekletmişlerdir. Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesinin %30 düzeyinde azaldığını saptamışlardır.

Sayed ve ark. (2000) Kağıt fabrikası atık sularının etkisine bıraktıkları *Channa punctatus*'da beyin Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesinin kontrol balıklarına göre azaldığını saptamışlardır. 30 günden sonra Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesindeki kısmi

restorasyonun bazı adaptasyon mekanizmalarının devreye girmesi sonucu olduğunu belirtmişlerdir.

Tao ve ark. (2000), Kurşunun etkisine bırakılan *Carassius auratus*'da kurşunun mukus oluşumunu hızlandırdığı, oluşan mukusun kurşun ile rekabete girerek kurşunun alınımını engellediğini belirtmişlerdir.

Rashed (2001), Doğal ortamlarda yakalanan tatlı su balığı *T. nilotica*'da solungaçlarda Pb düzeyinin karaciğer ve kas dokusundan daha yüksek düzeylerde olduğunu saptamıştır. Pb birikiminin solungaç>karaciğer >kas şeklinde bir dağılım göstermiştir.

Wicklund Glynn (2001), *Danio rerio*'da dokularda kadmiyum birikimine çinkonun etkisiyle ilgili yapılan bir araştırmada solungaçlarda kadmiyum birikiminin çinkonun varlığında azaldığını belirtmişlerdir

Campana ve ark. (2003), Kurşunun etkisine bırakılan *Holobatrachus didactylus* balıklarında Pb birikiminin böbrek dokusunda diğer dokular göre daha fazla olduğu ve böbrek dokusunda ALA-D aktivitesi kurşunun etkisiyle artış göstermiştir.

Alves ve ark. (2006), Besinle verilen Pb'nin etkisinde kalan *O.mykiss*'de Pb ince bağırsakta yüksek düzeylerde birikmiş ve buradan karaciğer, böbrek gibi organlara taşınarak bu organlarda önemli miktarlarda biriktiğini saptamışlardır.

Blanchard ve ark. (2006) 4, 12 ve 30 gün süreyle Cu'nun etkisine bıraktıkları *Fundulus heteroclitus*'da solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde inhibüsyonun görülmediğini saptamışlardır.

Wu ve ark. (2007) subletal Cu'nun etkisine 48-72 saat süreyle bıraktıkları *O.niloticus*'da solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin azaldığını belirtmişlerdir. 96 saatte Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin kontrol düzeylerine ulaştığını, 120-144 saatte ise tekrar azaldığını belirtmişlerdir.

Bervoets ve ark. (2009), *C. carpio*'da kurşun birikim ile ilgili yaptıkları bir çalışmada dokularda kurşun birikiminin farklılık gösterdiğini ve böbrek ile karaciğer gibi organlarda kurşun birikiminin diğer dokulara kıyasla yüksek düzeylere ulaştığını saptamışlardır.

Heier ve ark. (2009) Pb etkisine bıraktıkları *Salmo trutta*'da ilk 4 günde Pb birikiminin solungaçlarda arttığını ve bu artışın 11. güne kadar devam ettiğini belirtmişlerdir. 11. günün sonunda karaciğerde de Pb birikiminin yüksek düzeylere ulaştığını saptamışlardır. Araştırmacılar solungaçlarda depolanan Pb'nin zamanla karaciğere geçerek burada depolandığını belirtmişlerdir. Dokularda ALA-D aktivitesinin Pb'nin etkisinde inhibe olduğu belirtilmiştir.

Dai ve ark. (2010), Tilapiarda kurşun birikimiyle ilgili yaptıkları bir araştırmada dokulardaki Pb birikiminin böbrek> barsak> kemik> mide> solungaç> karaciğer> kas> beyin şeklinde bir dağılım gösterdiğini belirlemişlerdir.

Pereira ve ark. (2010), Portekiz kıyılarında avladıkları *Liza aurata* balıklarının dokularındaki Pb düzeyleri ile ilgili araştırmalarında böbrek dokusundaki Pb düzeyinin karaciğerden daha yüksek düzeyde olduğunu saptamışlardır.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada kullanılan *O. niloticus*'lar Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından alınarak 2 ay süre ile $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sabit sıcaklıkta laboratuvar koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre sonunda balıklar 13.12 ± 0.27 cm boy ve 29.16 ± 0.58 g ağırlığa ulaşmışlardır. Adaptasyon ve deney süresince akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmış, günde 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyodu uygulanmıştır. Balıklar laboratuvar koşullarına adaptasyon ve deney süresince, günde 2 defa vücut ağırlıklarının % 1-2 g.'ı kadar hazır balık yemi (Pınar Balık Yemi, Türkiye) ile beslenmişlerdir.

Deney süresince metabolik atıklar, buharlaşma ve çökme gibi nedenlerle deney akvaryumlarında kullanılan kurşun ve çinko çözeltilerinin derişimlerinde zaman içerisinde bir değişim olabileceği dikkate alınarak çözeltiler 2 günde bir yeniden hazırlanan taze stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiştir.

Deneylerde kullanılan kurşun çözeltileri 1M kurşun nitrat $[(\text{PbNO}_3)_2]$ (Merck, 2011) stok çözeltisinden, çinko çözeltileri 1M çinko klorür $[\text{ZnCl}_2]$ (Merck, 1.08816.0250) stok çözeltisinden seri seyreltme yöntemi ile hazırlanmıştır. Deneylerde kullanılan kurşunun akvaryumlarda cama yapışmadan ve tabana çökmeden homojen dağılması için kurşun nitrat ve çinko klorüre trisodyumsitrat $[\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ (Merck, 0101773) eklenerek çözeltiler hazırlanmıştır.

Deney ortam suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri:

Toplam sertlik:	374.11 ± 10.14 ppm CaCO_3
Toplam alkalinite:	365 ± 4.21 ppm CaCO_3
Çözünmüş oksijen:	7.33 ± 0.22 mg/L
pH:	8.10 ± 0.54

Deneyler iki seri halinde yürütülmüştür. Birinci seride balıklar kurşunun 0.1mg Pb/L, 0.5 mg Pb/L ve 1.0 mg Pb/L derişimlerine 7, 14 ve 21 gün sürelerle

bırakılmıştır. İkinci seride metallerin 0.1 mg Pb/L+0.5 mg Zn/L, 0.5 mg Pb/L+2.5 mg Zn/L ve 1.0 mg Pb/L+5.0 mg Zn/L derişimlerine aynı sürelerle bırakılmıştır. Bu amaçla 40x120x40cm. boyutlarında olan ve her birinin içersinde 18 balık olacak şekilde ve her seride dört akvaryum olacak şekilde toplam 8 akvaryum kullanılmıştır.

Birinci seride bulunan 4 akvaryumdan üçüne 100 L farklı Pb derişimleri, ikinci serideki akvaryumların üçüne 100'er L farklı derişimdeki Pb + Zn karışımları konulmuş, her serideki dördüncü akvaryum ise 100 L çeşme suyu konarak kontrol akvaryumu olarak kullanılmıştır. Deneyler denenen her derişim için üç tekrarlı olarak yürütölmüş ve her tekrarda iki balık kullanılmıştır. Belirtilen süreler sonunda deneyden çıkartılan balıkların dokularından kurşun analizi yapılmıştır.

Balıklar kurşun analizine hazırlamak amacıyla çeşme suyunda iyice yıkanıp kurutma kağıdı ile kurulandıktan sonra disekte edilerek karaciğer, böbrek, solungaç ve kas dokuları çıkarılmıştır. Daha sonra doku ve organlar etüvde 150 °C'de 48 saat süreyle kurutulmaya bırakılmışlardır. Etüvden çıkarılan doku ve organlar, hassas terazide kuru ağırlıkları alındıktan sonra tüp içine alınarak üzerlerine 2 mL nitrik asit (Merck, %65, Ö.A. 1.40) ve 1 mL perklorik asit (Merck, %60, Ö.A. 1.53) eklenmiş (Muramoto, 1983) ve çeker ocakta 120 °C'de 3 saat süreyle yakılmıştır. Yakım işlemleri tamamlanan örnekler polietilen tüplere aktarılmış ve üzerleri damıtık su ile 5 ml'ye tamamlanarak kurşun analizine hazır hale getirilmiştir. Doku ve organlardaki kurşun analizleri Perkin Elmer 3100 Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrik yöntemlerle saptanmıştır.

Deneylerden elde edilen verilerin istatistik analizleri SPSS 10.0 bilgisayar paket programı kullanılarak "Regresyon analizi" ve "Student – Newman Keul's Test (SNK)" testleri uygulanarak yapılmıştır.

3.1. Doku Homojenatların Hazırlanışı

Na⁺/K⁺ ATPaz enzim aktivitesinin belirlenmesi için derin dondurucudan çıkartılan dokular üzerine ağırlıklarının 1/10'u oranında homojenizasyon tamponu eklenerek (250 mM sukroz, 20 mM Trizma-Baz, 1mM EDTA- pH 7.8) ile 9500 rpm'de 1.5 dk süreyle buz üstünde homojenize edildi. Ependorf tüplerine aktarılan

homojenatlar 13.000 g'de +4⁰C'de 20 dk santrifüj edildi ve elde edilen süpernantlarda Na⁺/K⁺ ATPaz enzim aktivitesi ve protein tayini spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi.

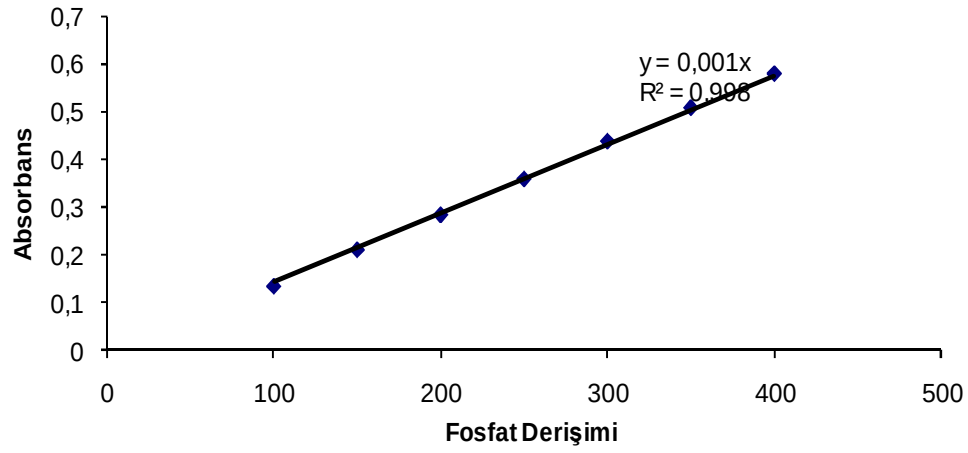
3.2. İnorganik Fosfat Tayini

Prensip: İnorganik fosfat tayini, ATP'den açığa çıkan Pi'nin Polioksietilen 10 Lauril eter ile fosfomolibdatın oluşturduğu sarı renkli kompleksin absorbansının 390 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Atkinson ve ark., 1973).

Ayıraçlar:

1. % 5 Polioksietilen 10 Lauril eter
2. % 2 Amonyum Molibdat
3. Ana ayıraç: 10 mL % 5 Polioksietilen eter, 25 mL % 2 Molibdik asit ve 65 mL saf su karıştırılarak hazırlanmıştır.

Yöntem: Na⁺/K⁺ ATPaz için inkübasyon ortamı pH:7.7'de 100 mM NaCl, 20 mM KCl, 4 mM MgCl₂, 3mM ATP, 1mM ouabain ve 40 mM tris baz olacak şekilde hazırlanıp 37 ⁰C'de 5 dakika su banyosunda tutulmuştur. Deney tüplerine 3 mL ana ayıraçtan konulduktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında bekletilerek 390 nm dalga boyunda açığa çıkan sarı renkli kompleksin absorbansının ölçülmesiyle inorganik fosfat miktarı belirlenmiştir. Sonuçlar 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 µM KH₂PO₄ çözeltisinden hazırlanarak elde edilen standart eğri üzerinden değerlendirilmiştir. Konuyla ilgili yapılan çalışmalar da dikkate alınarak (Sunny ve Oommen, 2001; Guynn ve ark., 2002) *O. niloticus*'un solungaç, böbrek, karaciğer ve kas dokularında ATPaz enzim aktivitesi belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Fosfat derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki.

3.3. Na⁺/K⁺ ATPaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Çizelge: 3.1. Na⁺/K⁺ ATPaz Yöntemi

	(Total-ATPaz)	(Mg-ATPaz)	Ör Kör	ATP Kör	Kör
- Ouabain inkb ortamı	870µL	---	870µL	870µL	870µL
+ Ouabain inkb ortamı	---	870µL	---	---	---
Örnek	30µL	30µL	-	30µL	-
H ₂ O	---	-	30µL	100µL	130µL
37 °C'de 5 dakika inkübe edilir.					
ATP	100µL	100µL	100µL	---	---
37 °C'de 30 dakika inkübe edilir.					
500 µL soğuk saf su (+4 °C) eklenir.					

Spektrofotometrede, 390 nm dalga boyunda ATPaz ve kör tüplerinin absorbans değerleri ölçülmüştür.

Hesaplama: Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi, Toplam-ATPaz (ouabain içermeyen) aktivitesinden Mg^{+2} ATPaz (Ouabain içeren) aktivitesinin çıkarılması ile hesaplanmıştır.

$$\text{ATPaz aktivitesi} = \frac{\text{OD}/0,0014^* \times 4,5 \text{ (mL)}}{1000 \times 0,03 \text{ (mL)} \times 0,5 \text{ (sa.)} \times \text{mg prot./mL}}$$

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

*= İnorganik fosfat regresyon eşitliği ($y = 0,0014x$)

3.4. Protein Yöntemi

Homojenize edilen solungaç, karaciğer, böbrek örnekleri santrifüj edildikten sonra elde edilen supernatantlar Lowry metodu (Lowry ve ark., 1951) ile protein analizi yapılmıştır.

Proteinler alkali ortamda bakır sülfat ilavesiyle fosfotungustik-fosfomolibdik asidi redükleyerek mavi renk verirler. Oluşan bu renkli bileşiğin absorbansı spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda ölçülerek kantitatif olarak protein miktarları tespit edilir (Lowry ve ark.,1951).

Ayıraçlar:

- 1 Alkali Na_2CO_3 Çözeltisi
- 2 Bakır Sülfat-Sodyum Potasyum Tartarat Çözeltisi
- %1 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- %2 Na-K tartarat

- 3 Alkali Çözelti (Günlük olarak hazırlanır.): 50 mL alkali Na_2CO_3 çözeltisi 1 mL Bakır Sülfat-Sodyum Potasyum Tartarat çözeltisi ile karıştırılarak hazırlanır.
- 4 Folin-Ciocalteu Ayracı: 1 mL Folin-Ciocalteu, 1.5 mL saf su ile seyreltilerek hazırlanır.

Yöntem :

Çizelge. 3.2. Lowry Yöntemi ile Protein Tayini

Çözeltiler	Kör (mL)	Örnek (mL)
Saf Su	0.3	-
Örnek	-	0.3
Alkali Çözeltisi	3.0	3.0
Oda sıcaklığında 15 dakika bekletilir.		
Folin-Ciocalteu	0.3	0.3

Oda ısısında 30 dakika bekletildikten sonra ve spektrofotometrede 750 nm’de absorbans değerleri ölçülür. Örneklerin içerdiği protein miktarları sığır serum albumini kullanılarak hazırlanan standart grafikten değerlendirilir.

4.BULGULAR

4.1. Kurşun Düzeyleri

O. niloticus 'da belirlenen derişim ve sürelerde bir doku için üç tekrarlı olarak saptanan kurşun düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları çizelge 4.1-3'de verilmiştir. Belirli bir süre sonunda ve aynı derişimde kurşun birikimi bakımından dokular arasındaki ayrımı belirlemek, aynı şekilde belirli bir süre sonunda artan derişimin bir doku ve organdaki kurşun birikimine etkisini belirlemek amacı ile veriler SNK testi (Student Newman Keul's Test) ile analiz edilmiş ve sonuçlar çizelge 4.1-3'de verilmiştir. Bu çizelgelerde x, y, z ve t harfleri doku ve organlardaki, a b ve c harfleri ise derişimlerin etkisini göstermek amacıyla kullanılmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Denenen her bir sürede ortamda bulunan Pb ortam derişimi arttıkça dokulardaki Pb birikiminin de arttığı saptanmıştır. Belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında doku ve organlardaki Pb birikiminin farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Denenen tüm ortam derişimlerinde en yüksek Pb birikimi böbreklerde olmuş bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlemiştir (Çizelge 4.1-4.3, SNK; $P<0.05$). Ortam derişiminde 10 katlık bir artış dokulardaki Pb birikiminde yaklaşık 1.5-2 katlık bir artışa neden olmuştur.

Belirli bir ortam derişiminde etkide kalınan sürenin uzamasıyla Pb birikiminin de arttığı belirlenmiştir. 1.0 mg/L Pb ortam derişimindeki balıkların böbrek, solungaç ve karaciğerde 21.gündeki Pb birikimi, 7.gündeki balıklara oranla yaklaşık 1.5 kat kadar daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1-4.3).

Çizelge 4.1. *O. niloticus*'da farklı ortam derişimlerinde 7. günde doku ve organlardaki kurşun birikimi ($\mu\text{g Pb/g k.a.}$).

	SÜRE (GÜN)			
	Böbrek	Solungaç	Karaciğer	Kas
DERİŞİM (mg L^{-1})	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.1 Pb	34.76 $\pm$ 1.35 ax	22.98 $\pm$ 0.88 ay	18.71 $\pm$ 0.69 az	6.671 $\pm$ 0.61 at
0.5 Pb	44.65 $\pm$ 2.60 bx	29.21 $\pm$ 0.68 by	25.53 $\pm$ 1.07 by	10.61 $\pm$ 0.50 bz
1.0 Pb	53.69 $\pm$ 1.14 cx	39.77 $\pm$ 1.01 cy	31.58 $\pm$ 1.71 cz	15.07 $\pm$ 1.07 ct

* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, y, z ve t harfleri organlar arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.01$).

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

Çizelge 4.2. *O. niloticus*'da farklı ortam derişimlerinde 14. günde doku ve organlardaki kurşun birikimi ($\mu\text{g Pb/g k.a.}$).

	SÜRE (GÜN)			
	Böbrek	Solungaç	Karaciğer	Kas
DERİŞİM (mg L^{-1})	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.1 Pb	42.17 $\pm$ 1.79 ax	27.65 $\pm$ 0.79 ay	22.99 $\pm$ 1.22 az	11.33 $\pm$ 0.43 at
0.5 Pb	48.70 $\pm$ 1.41 bx	32.04 $\pm$ 0.99 by	28.72 $\pm$ 0.30 bz	15.36 $\pm$ 0.96 bt
1.0 Pb	52.34 $\pm$ 0.33 bx	38.79 $\pm$ 1.04 cy	29.66 $\pm$ 1.12 bz	21.59 $\pm$ 1.20 ct

* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, y, z ve t harfleri organlar arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.01$).

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

Çizelge 4.3. *O. niloticus*'da farklı ortam derişimlerinde 21. günde doku ve organlardaki kurşun birikimi ($\mu\text{g Pb/g k.a.}$).

	SÜRE (GÜN)			
	Böbrek	Solungaç	Karaciğer	Kas
DERİŞİM (mg L^{-1})	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.1 Pb	51.54 $\pm$ 1.71 ax	35.83 $\pm$ 2.10 ay	27.07 $\pm$ 1.94 az	20.96 $\pm$ 0.70 at
0.5 Pb	65.08 $\pm$ 2.67 bx	46.01 $\pm$ 1.77 by	35.36 $\pm$ 0.80 bz	25.88 $\pm$ 2.14 bt
1.0 Pb	76.12 $\pm$ 1.82 cx	53.64 $\pm$ 1.84 cy	43.45 $\pm$ 0.98 cz	30.66 $\pm$ 0.64 ct

* : a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, y, z ve t harfleri organlar arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.01$).

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

Çinkonun kurşun birikimine etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizleri yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.4 - 4.6'da verilmiştir. Bu çizelgelerdeki a ve b harfleri selenyumun kurşun birikimine etkisini, x, y, z ve t harfleri dokular arasındaki ayrımı göstermek amacıyla kullanılmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır. Denenen her üç sürenin sonunda tüm ortam derişimlerinde Zn+Pb karışımına bırakılan balıkların dokularındaki Pb birikimi doğrudan Pb'nun etkisine bırakılan balıklara oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4-4.6, SNK; $P<0.05$).

7. günde denenen 0.1 mg/L Pb + 0.5 mg/L Zn, 0.5 mg/L Pb +2.5 mg/L Zn ve 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Zn karışımlarına bırakılan balıkların böbrek, karaciğer, solungaç ve kas dokularında kurşun birikimi, doğrudan kurşunun etkisine bırakılan balıklara oranla azaldığı ve bu azalmanın istatistik olarak önem taşıdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.4, SNK; $P<0.05$). Çinko ortam derişimleri dokularda kurşun birikimini önemli düzeyde düşürmüştür. 7. gün sonunda 0.1 mg/L Pb + 0.5 mg/L Zn karışımındaki balıkların dokularındaki kurşun birikimindeki azalma karaciğerde %29, solungaçta %17, kasta %35 ve böbrekte %32 düzeyinde olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.4. Kurşun ve kurşun + çinko karışımının etkisine 7 günlük süreyle bırakılan *O. niloticus*'un doku ve organlarındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g k.a}$).

	SÜRE (GÜN)			
	Böbrek	Solungaç	Karaciğer	Kas
DERİŞİM (mg L^{-1}) $\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.1 Pb	34.76 $\pm$ 1.35 ax	22.98 $\pm$ 0.88 ay	18.71 $\pm$ 0.69 az	6.67 $\pm$ 0.61 at
0.1 Pb+0.5 Zn	23.58 $\pm$ 0.88 bx	19.17 $\pm$ 0.83 by	13.36 $\pm$ 0.47 bz	4.28 $\pm$ 0.29 bt
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.5 Pb	44.65 $\pm$ 2.60 ax	29.21 $\pm$ 0.67 ay	25.53 $\pm$ 1.07 ay	10.61 $\pm$ 0.50 az
0.5 Pb+2.5 Zn	28.48 $\pm$ 1.57 bx	21.41 $\pm$ 1.19 by	17.18 $\pm$ 1.13 bz	5.17 $\pm$ 1.21 bt
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0 Pb	53.69 $\pm$ 1.14 ax	39.77 $\pm$ 1.01 ay	31.58 $\pm$ 1.71 az	15.07 $\pm$ 1.07 at
1.0 Pb+5.0 Zn	39.94 $\pm$ 0.77 bx	30.99 $\pm$ 0.81 by	25.29 $\pm$ 1.42 bz	11.46 $\pm$ 0.87 bt

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x, y, z ve t harfleri organlar arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.01$).

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

14. günün sonunda denenen tüm Pb + Zn karışımlarındaki balıkların dokularındaki kurşun birikimi, doğrudan kurşunun etkisine bırakılan balıklara oranla azaldığı saptanmıştır. Çinko ortam derişimlerinin dokularda kurşun birikimini engellemesi istatistik olarak önem taşımaktadır (Çizelge 4.5, SNK; $P<0.05$). 14. gün sonunda 0.1 mg/L Pb + 0.5 mg/L Zn karışımındaki balıkların dokularındaki kurşun birikimindeki azalma karaciğerde %15, solungaçta %30, kasta %38 ve böbrekte %29 düzeyinde olduğu saptanmıştır

Çizelge 4.5. Kurşun ve kurşun + çinko karışımının etkisine 14 günlük süreyle bırakılan *O. niloticus*'un doku ve organlarındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g k.a.}$).

	SÜRE (GÜN)			
	Böbrek	Solungaç	Karaciğer	Kas
DERİŞİM (mg L^{-1}) $\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.1 Pb	42.17 $\pm$ 1.79 ax	27.65 $\pm$ 0.78 ay	22.99 $\pm$ 1.22 az	11.33 $\pm$ 0.40 at
0.1 Pb+0.5 Zn	30.11 $\pm$ 3.33 bx	19.26 $\pm$ 0.55 by	19.44 $\pm$ 0.94 by	6.95 $\pm$ 1.01 bz
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.5 Pb	48.70 $\pm$ 1.41 ax	32.04 $\pm$ 0.99 ay	28.72 $\pm$ 0.30 az	15.36 $\pm$ 0.90 at
0.5 Pb+2.5 Zn	36.90 $\pm$ 3.34 bx	25.22 $\pm$ 0.85 by	20.69 $\pm$ 0.71 by	8.66 $\pm$ 0.72 bz
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0 Pb	52.34 $\pm$ 0.33 ax	38.79 $\pm$ 1.04 ay	29.66 $\pm$ 1.12 az	21.59 $\pm$ 1.20 at
1.0 Pb+5.0 Zn	40.93 $\pm$ 1.11 bx	34.94 $\pm$ 1.46 by	28.84 $\pm$ 0.95 az	14.76 $\pm$ 0.94 bt

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x, y, z ve t harfleri organlar arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.01$).

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

21. günün sonunda 0.1 mg/L Pb + 0.5 mg/L Zn, 0.5 mg/L Pb + 2.5 mg/L Zn ve 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Zn karışımlarına bırakılan balıkların dokularında kurşun birikimi, doğrudan kurşunun etkisine bırakılan balıklara oranla azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önem taşıdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.5, SNK; $P<0.05$). Çinko ortam derişimleri denenen tüm dokularda kurşun birikimini önemli düzeyde düşürmüştür. 21. gün sonunda 0.1 mg/L Pb + 0.5 mg/L Zn karışımındaki balıkların dokularındaki kurşun birikimindeki azalma karaciğerde %25, solungaçta %24, kasta %34 ve böbrekte %32 düzeyinde olduğu saptanmıştır

Denenen tüm ortam derişimlerinde doğrudan kurşunun etkisine bırakılan balıklarla kıyaslandığında, Pb + Zn karışımına bırakılan balıkların böbrek ve kas

dokularında kurşun birikimindeki azalma diğer dokulara göre daha yüksek oranlarda olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. Kurşun ve kurşun + çinko karışımının etkisine 21 günlük süreyle bırakılan *O. niloticus*'un doku ve organlarındaki kurşun düzeyi ($\mu\text{g Pb/g k.a}$).

	SÜRE (GÜN)			
	Böbrek	Solungaç	Karaciğer	Kas
DERİŞİM (mg L^{-1}) $\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$	$\bar{X} \pm S\bar{X}^*$
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.1 Pb	51.54 $\pm$ 1.71 ax	35.83 $\pm$ 2.10 ay	27.07 $\pm$ 1.94 az	20.96 $\pm$ 0.69 at
0.1 Pb+0.5 Zn	35.26 $\pm$ 1.95 bx	27.26 $\pm$ 0.94 by	20.20 $\pm$ 0.63 bz	13.70 $\pm$ 0.76 bt
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.5 Pb	65.08 $\pm$ 2.66 ax	46.01 $\pm$ 1.77 ay	35.36 $\pm$ 0.79 az	25.88 $\pm$ 2.13 at
0.5 Pb+2.5 Zn	50.15 $\pm$ 2.86 bx	37.70 $\pm$ 2.11 by	23.09 $\pm$ 1.51 bz	15.94 $\pm$ 1.60 bt
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0 Pb	76.12 $\pm$ 1.82 ax	53.64 $\pm$ 1.84 ay	43.45 $\pm$ 0.98 az	30.66 $\pm$ 0.64 at
1.0 Pb+5.0 Zn	45.14 $\pm$ 2.18 bx	40.72 $\pm$ 0.79 by	29.34 $\pm$ 0.95 bz	21.78 $\pm$ 1.31 bt

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x,y, z ve t harfleri organlar arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.01$).

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

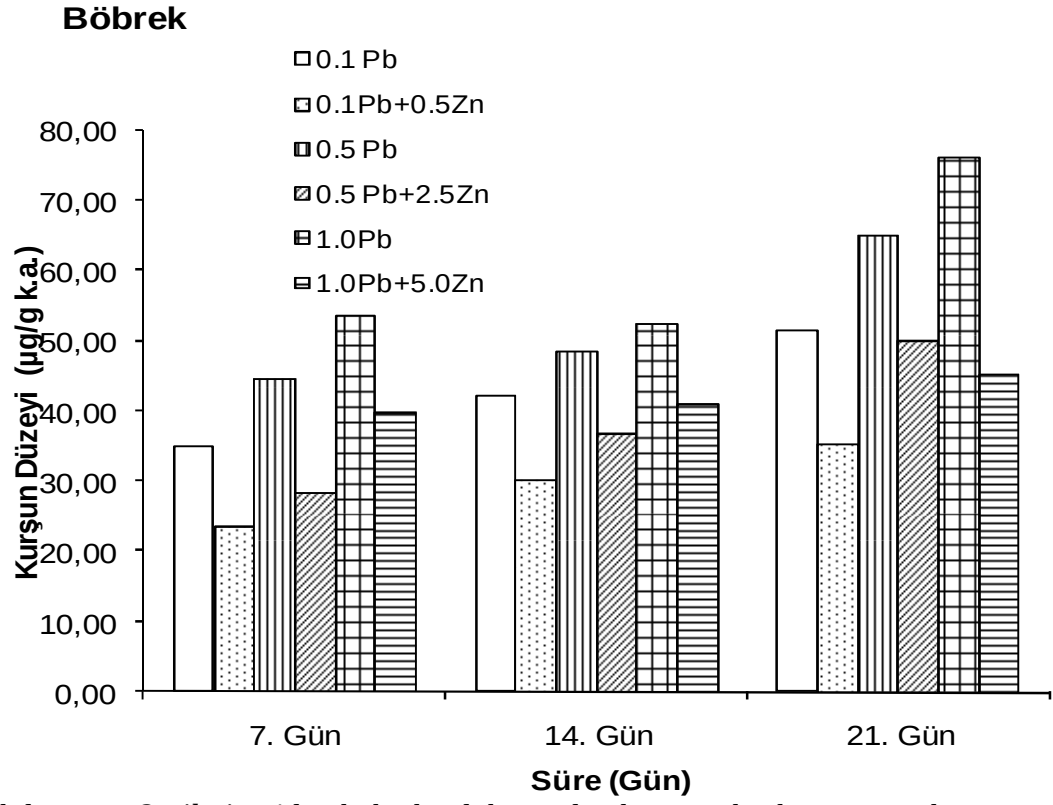
Çinko ortam derişimlerinin süreye bağlı olarak *O. niloticus* 'un doku ve organlarındaki kurşun birikimine etkisi Şekil 4.1-4.4'de verilmiştir. Belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin uzamasıyla dokulardaki kurşun birikiminin de arttığı saptanmıştır. Çalışılan tüm sürelerde Pb + Zn karışımına bırakılan balıkların dokularındaki Pb birikimi, doğrudan Pb etkisine bırakılan balıklara oranla daha düşük olduğu saptanmıştır. Çinko, denenen tüm koşullarda dokulardaki Pb birikimini önemli düzeyde düşürmüştür (Şekil 4.1- 4.4, SNK; $P<0.05$).

Böbrek dokusunda kurşun düzeyi belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin uzamasıyla artma göstermiştir. Böbrek dokusunda çinkonun kurşun birikimini engellemesi istatistiksel olarak önemli olup, tüm çinko ortam derişimlerinde de kurşun birikiminde önemli bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.1). 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Zn karışımındaki azalma 7. günde %26, 14. günde %22 ve 21. günde %41 düzeyinde gerçekleşmiştir.

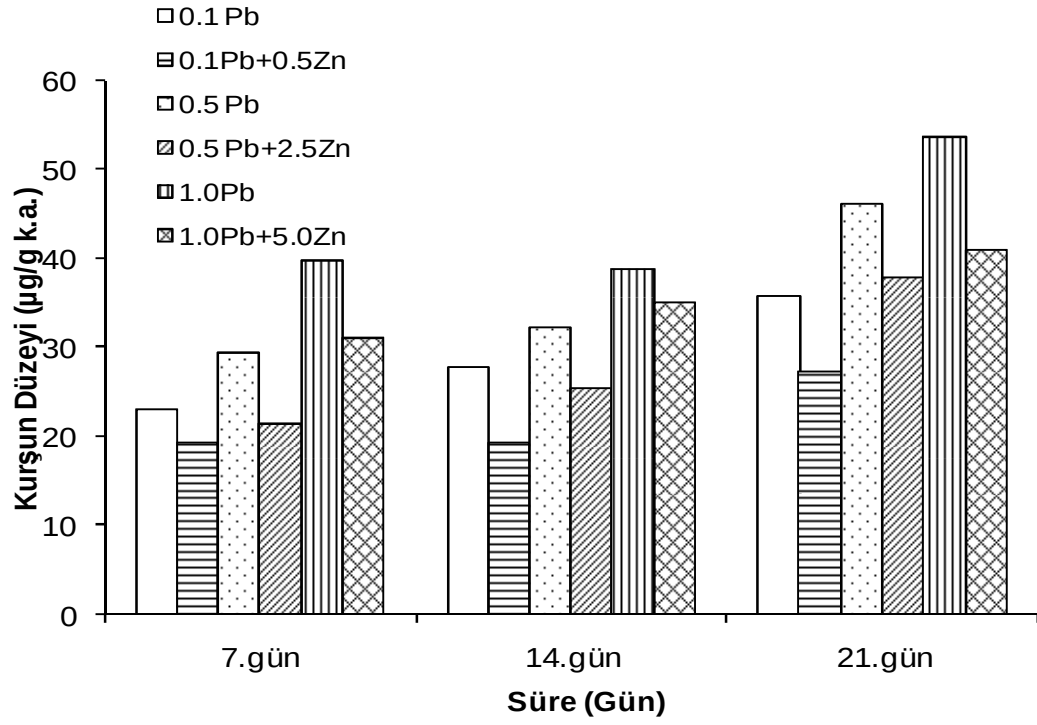
Solungaç dokusundaki kurşun düzeyleri aynı ortam derişiminde etkide kalma süresinin uzamasıyla artış göstermiştir. Solungaç dokusu kurşun düzeyleri denenen tüm çinko ortam derişimlerinin etkisinde önemli miktarlarda azalma gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.2). 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Zn karışımındaki azalma 7. günde %22, 14. günde %10 ve 21. günde %24 düzeyinde olmuştur.

Karaciğer kurşun düzeyleri denenen tüm ortam derişimlerinde de etkide kalınan sürenin uzamasıyla arttığı saptanmıştır. Karaciğer kurşun düzeyleri 14. gün 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Zn ortam derişimi hariç denenen tüm çinko ortam derişimlerinde önemli miktarlarda azalmıştır. (Şekil 4.3). Bu azalma düşük ortam derişimlerinde daha fazla olmuştur. 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Zn karışımındaki azalma 7. günde %20, 14. günde %03 ve 21. günde %32 düzeyinde gerçekleşmiştir.

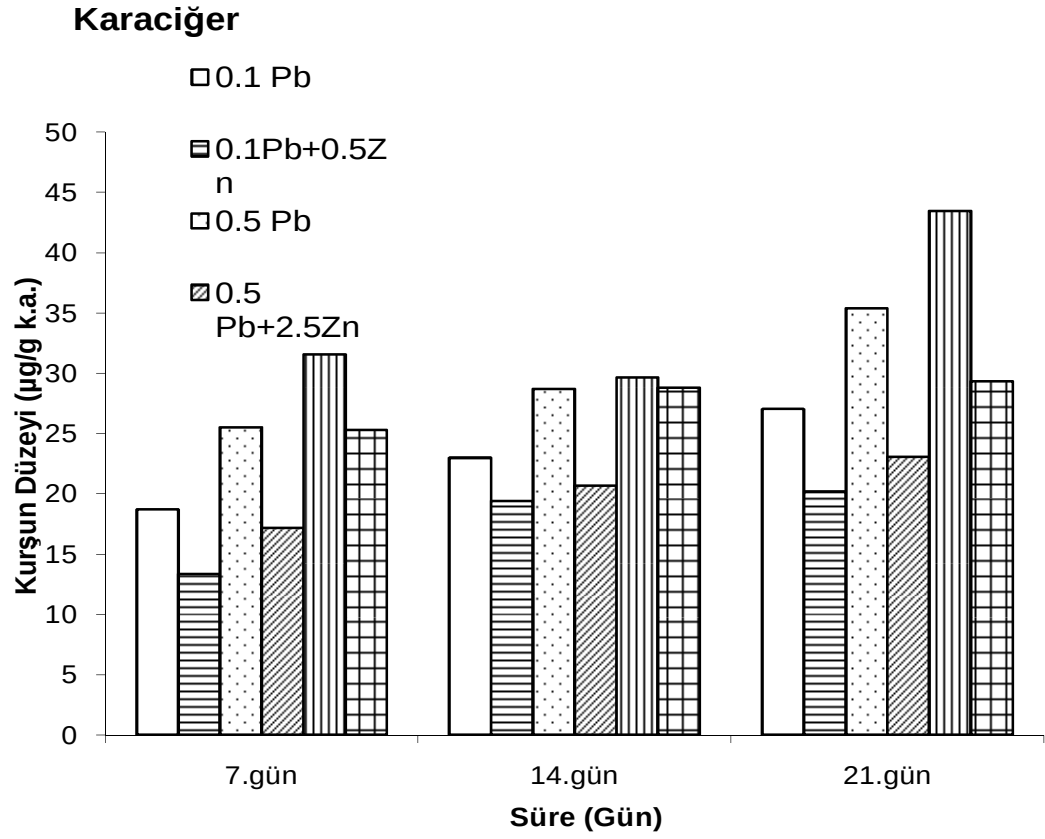
Kas dokusunda saptanan kurşun düzeyleri Şekil 4.4'de verilmiştir. Aynı ortam derişiminde etkide kalma süresinin uzamasıyla kas dokusundaki Pb birikimininde arttığı belirlenmiştir. Kas dokusu kurşun düzeyleri denenen tüm çinko ortam derişimlerinde önemli miktarlarda azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.4). 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Zn karışımındaki azalma 7. günde %24, 14. günde %31 ve 21. günde %29 düzeyinde olmuştur.



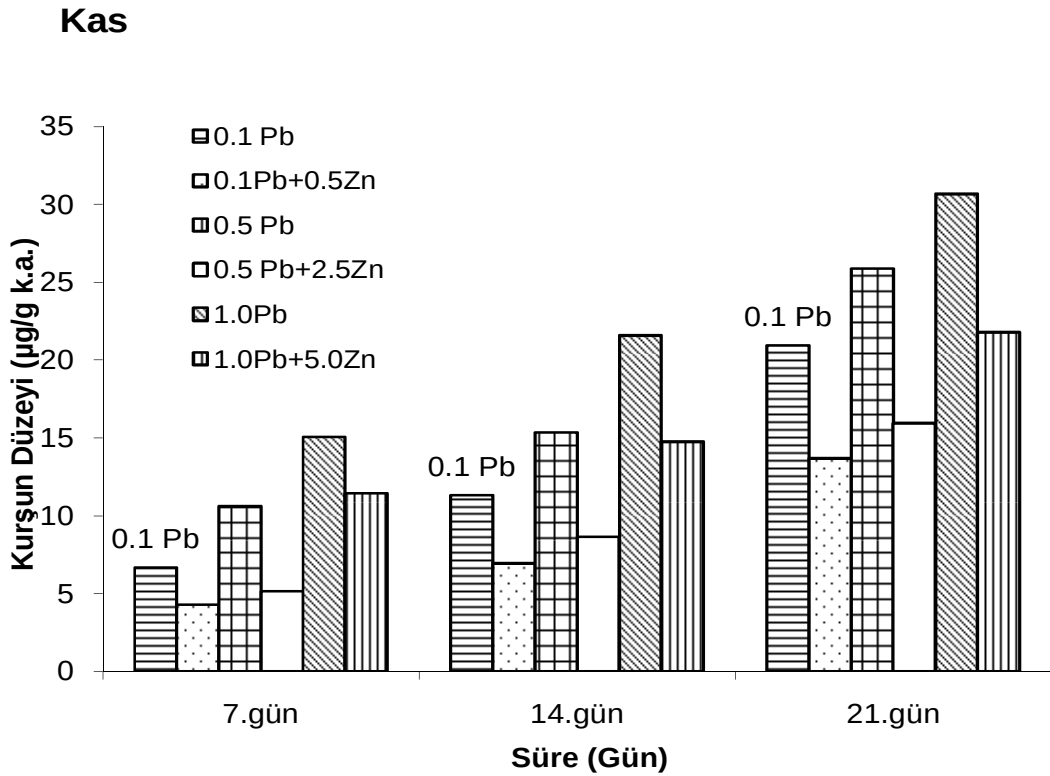
Şekil 4.1. *O.niloticus*'da böbrek dokusunda kurşun birikimine çinko ortam derişimleri ve sürenin etkisi

Solungaç

Şekil 4.2. *O.niloticus*'da solungaç dokusunda kurşun birikimine çinko ortam derişimleri ve sürenin etkisi



Şekil 4.3. *O.niloticus*'da karaciğer dokusunda kurşun birikimine çinko ortam derişimleri ve sürenin etkisi



Şekil 4.4. *O.niloticus*'da kas dokusunda kurşun birikimine çinko ortam derişimleri ve sürenin etkisi

4.2. Pb ve Pb+Zn Karışımının Na^+ , K^+ -ATPaz Aktivitesi Üzerine Etkisi

4.2.1. Solungaç Dokusunda Na^+ , K^+ -ATPaz Aktivitesi

O.niloticus'da 7, 14 ve 21. günlerde solungaç dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Zn ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.7-4.9'da gösterilmiştir.

0.1 mg/L ortam derişiminde doğrudan Pb'nin etkisinde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi denenen tüm sürelerde kontrol grubuna göre bir azalma göstermiştir. 0.1 mg/L Pb+0.5 mg/L Zn ortam derişiminde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi 7 ve 14. günlerde kontrole göre bir değişiklik göstermezken, 21. günde önemli düzeyde azalmıştır. Pb'nin etkisinde süreye bağlı olarak solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinde bir değişiklik olmazken, Pb+Zn karışımında 21. günde diğer sürelerle oranla önemli düzeyde bir azalmanın olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.7. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Pb ve 0.1 mg/L Pb+ 0.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	21. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	4,156±0,182 ax	4,741±0,366 ax	4,487±0,290 ax
0.1 Pb	2,969±0,325 bx	2,353±0,586 bx	2,753±0,422 bx
0.1 Pb+0.5 Zn	3,628±0,383 abxy	4,702±0,653 ay	2,259±0,389 bx

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.05$).

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

0.5 mg/L Pb ve Pb+Zn karışımının etkisinde (7 ve 14.gün 0.5 mg/L Pb+2.5 mg/L Zn hariç) denenen tüm sürelerde kontrole oranla önemli düzeyde azalmıştır. 0.5 mg/L Pb'nin etkisinde solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi sürenin uzamasıyla önce artmış sonra azalmıştır (Çizelge 4.8; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.8. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+ 2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	21. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	4,156±0,182 ax	4,741±0,366 ax	4,487±0,290 ax
0.5 Pb	1,338±0,623 bx	2,372±0,459 by	1,897±0,526 bx
0.5 Pb+2.5 Zn	4,512±0,720 ax	3,276±0,581 abx	2,196±0,660 bx

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.05$).

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

1.0 mg/L ortam derişiminde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi denenen her üç sürede de Pb'nin tek başına etkisinde kontrole göre önemli düzeyde azalma gösterdiği belirlenmiştir. Enzim aktivitesi 14. günde Pb+Zn karışımında kontrole göre önemli

düzeyde azalmaya neden olmuştur. Solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi Pb ve Pb+Zn ortam derişimlerinde süreye bağılı olarak istatistik ayırım göstermediğı saptanmıştır (Çizelge 4.9; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.9. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Pb ve 1.0 mg/L Pb+ 5.0 mg/L Zn ortam derişimlerinin solungaç Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)					
	7. Gün		14.Gün		21. Gün	
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	*
0.0	4,156±0,182	ax	4,741±0,366	ax	4,487±0,290	ax
1.0 Pb	1,249±0,426	bx	2,209±0,252	bx	1,160±0,261	bx
1.0 Pb+5.0 Zn	3,958±0,782	ax	3,234±0,433	cx	3,718±0,405	ax

* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x veya harfleri süreler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P<0.05$).

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

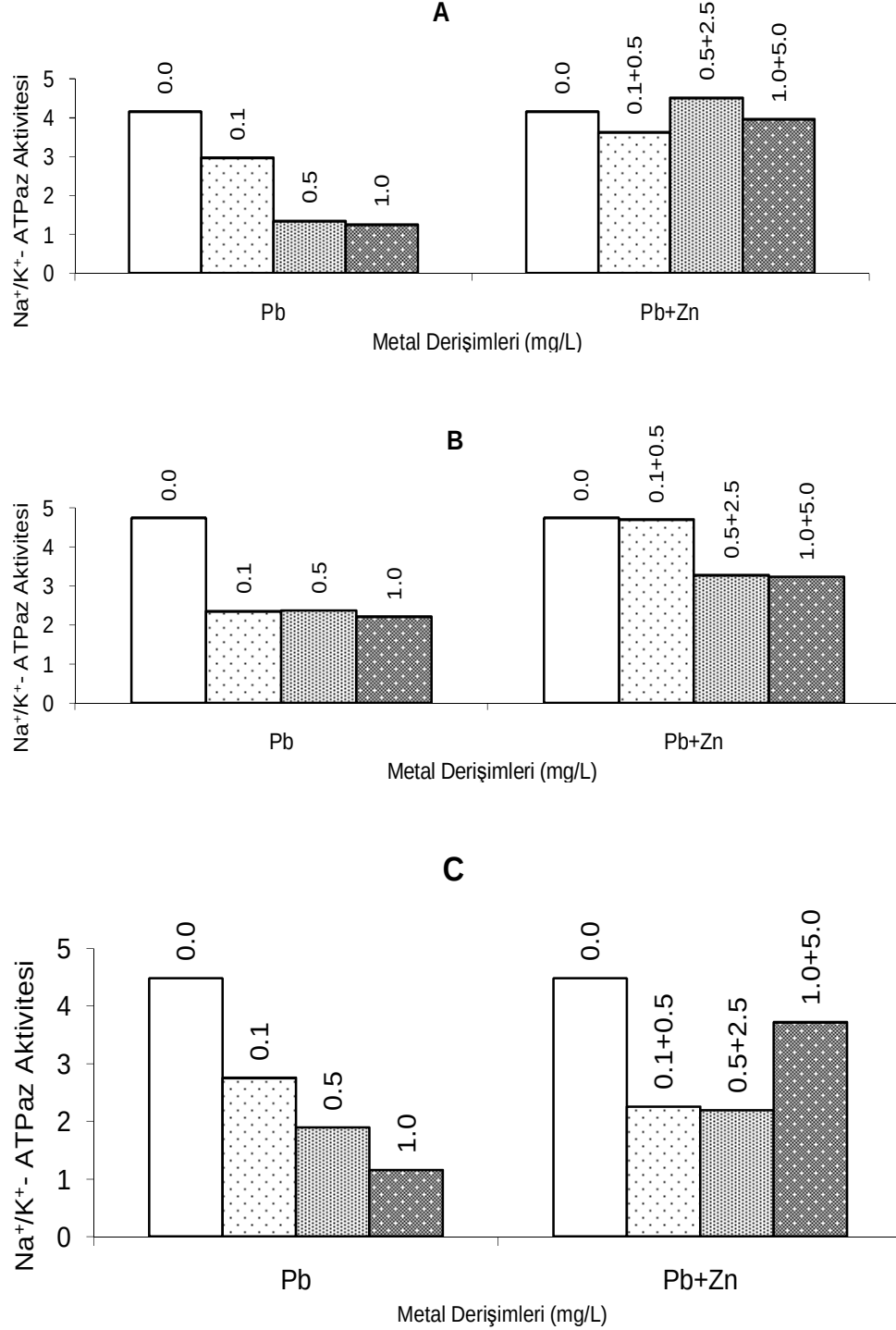
Belirli bir sürede *O.niloticus*'da solungaç dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Zn karışımlarının derişime bağılı etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizleri yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.5. A, B ve C'de verilmiştir.

7. günde doğrudan Pb derişimlerinin etkisinde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalma göstermiştir. Pb+Zn karışımında kontrol grubuna göre istatistik ayırım gözlenmemiştir. Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin 0.1 mg/L Pb ve 0.1 mg/L Pb+ 0.5 mg/L Zn ortam derişimlerinde kontrol grubuna göre sırasıyla %28 ve %12 oranında azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.5.A; SNK, $P<0.05$).

14. günde denenen tüm ortam derişimlerinde 0.1 mg/L Pb+ 0.5 mg/L Zn ortam derişimi hariç Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna oranla azaldığı belirlenmiştir. Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+ 2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin etkisinde kontrol grubuna göre sırasıyla %49 ve %30 oranında azalma göstermiştir (Şekil 4.5.B; SNK, $P<0.05$).

21. günde denenen tüm ortam derişimlerinin etkisinde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre azalma göstermiştir. Ortamda bulunan Pb derişimi arttıkça Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinde azaldığı belirlenmiştir. 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+ 2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin etkisinde kontrol grubuna göre sırasıyla %53 ve %31 oranında azalma gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.5.C; SNK, $P<0.05$).

SOLUNGAÇ



Şekil 4.5. *O. niloticus*'un solungaç dokusunda Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesi üzerine ortamdaki Pb ve Pb+Zn derişimlerinin etkisi (A: 7. gün, B: 14. gün, C:21. gün).

4.2.2. Böbrek Dokusunda Na^+ , K^+ -ATPaz Aktivitesi

O. niloticus'da 7, 14 ve 21. günlerde böbrek dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Zn ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.10-4.12'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L Pb ortam derişiminde Pb'nin doğrudan etkisinde denenen her üç sürede de böbrek Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre önemli azalma gösterirken süreler arasında ayırım gözlenmemiştir. 7.gün 0.1mg/L Pb+0.5 mg/L Zn karışımında kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalma olmuştur. Pb+Zn karışımında böbrek Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi 14 ve 21. günlerde 7. güne oranla önemli düzeyde artmış ve bu artış istatistik olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.10; SNK, , $P<0.05$).

Çizelge 4.10. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Pb ve 0.1 mg/L Pb+ 0.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin böbrek Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	21. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	4,326±0,540 ax	4,233±0,045 ax	4,273±0,353 ax
0.1 Pb	2,474±0,281 bx	2,372±0,743 bx	2,082±0,531 bx
0.1 Pb+0.5 Zn	1,158±0,461 bx	3,353±0,450 aby	3,006±0,465 aby

* : a veb harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P<0.05$).

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

0.5 mg/L ortam derişiminde böbrek Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi denenen her üç sürede de Pb'nin tek başına etkisinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalma gösterdiği belirlenmiştir. 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinde sürenin uzamasına bağlı olarak önemli bir değişikliğin olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.11; SNK, , $P<0.05$).

Çizelge 4.11 *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+ 2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin böbrek Na⁺/K⁺ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	21. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	4,326±0,539 ax	4,234±0,045 ax	4,273±0,352 ax
0.5 Pb	2,195±0,376 bx	2,586±0,309 bx	1,726±0,629 bx
0.5 Pb+2.5 Zn	3,041±0,150 abx	3,577±0,280 ax	5,564±0,696 ax

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P<0.05).

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

1.0 mg/L Pb ortam derişiminde Pb'nin doğrudan etkisinde denenen her üç sürede de böbrek Na⁺, K⁺ -ATPaz aktivitesi kontrole grubuna göre önemli oranda azalma göstermiştir. 1.0 mg/L Pb+5.0 mg/L Zn ortam derişiminde Na⁺, K⁺ -ATPaz aktivitesi 7.günde kontrole grubuna göre bir değişiklik göstermezken, 14 ve 21. günlerde önemli düzeyde artış göstermiştir (Çizelge 4.12; SNK, P<0.05). Pb'nin doğrudan etkisinde sürenin uzamasına bağlı olarak böbrek Na⁺, K⁺ -ATPaz aktivitesinde önemli bir değişiklik olmazken, Pb+Zn karışımında 14 ve 21. günlerde 7. güne oranla önemli oranda artış gözlenmiştir.

Çizelge 4.12. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Pb ve 1.0 mg/L Pb+ 5.0 mg/L Zn ortam derişimlerinin böbrek Na⁺/K⁺ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	21. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	4,326±0,540 ax	4,234±0,045 ax	4,273±0,352 ax
1.0 Pb	2,175±0,350 bx	2,854±0,225 bx	2,744±0,262 bx
1.0 Pb+5.0 Zn	3,013±0,247 abx	5,942±0,352 cy	6,217±0,365 cy

* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P<0.05).

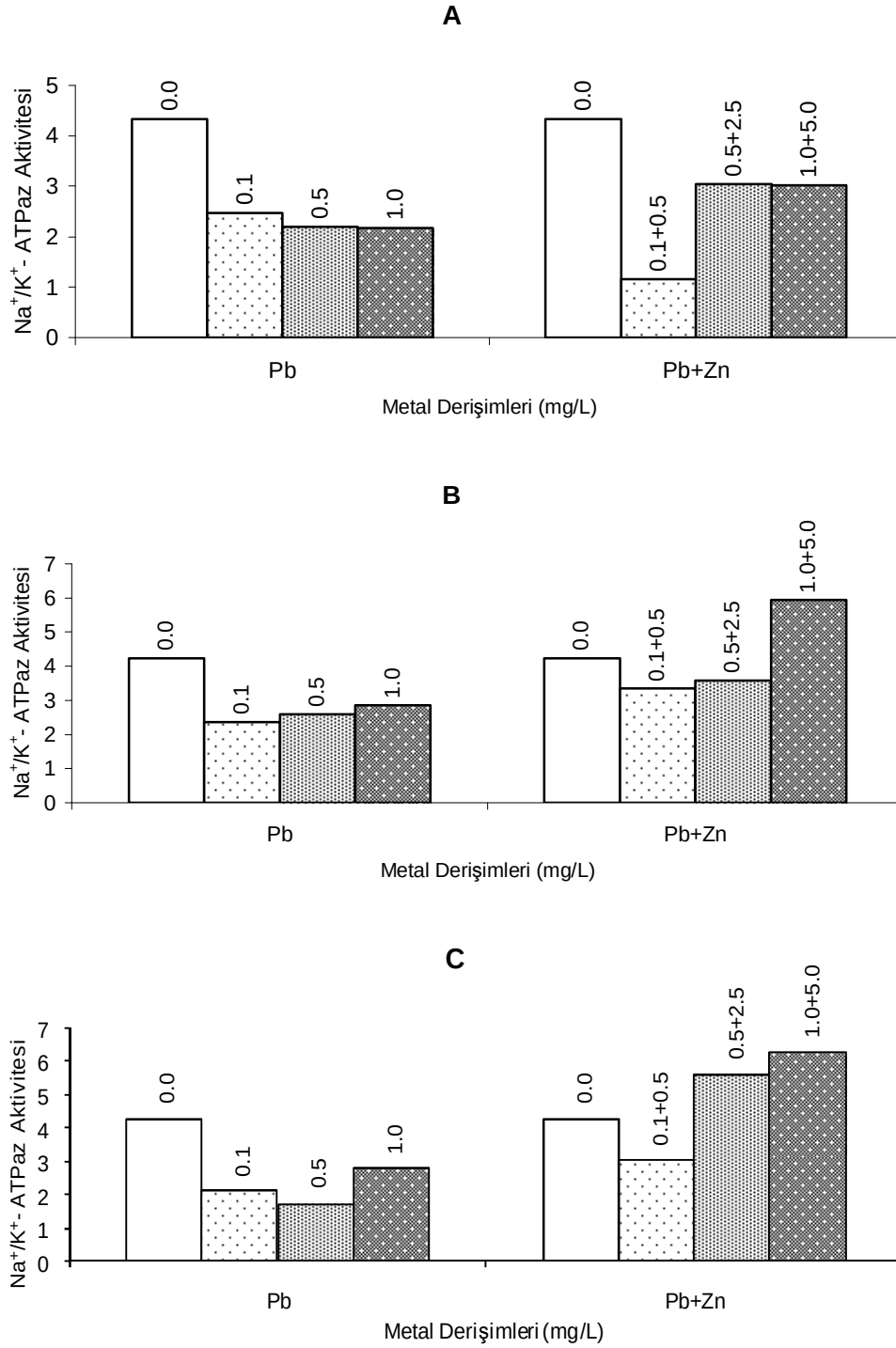
$\bar{X} \pm S\bar{X}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

Belirli bir sürede *O.niloticus*'da böbrek dokusundaki Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Zn karışımlarının derişime bağı etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizleri yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.6 A, B ve C'de verilmiştir.

7. günde denenen tüm Pb ve Pb+Zn karışımlarının etkisinde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. Düşük Pb ve Pb+Zn ortam derişimlerinin etkisinde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuyla kıyaslandığında sırasıyla %43 ve %73 düzeyinde bir azalmanın olduğu saptanmıştır (Şekil 4.6.A; SNK, $P<0.05$).

14. günde 1.0 mg/L Pb+ 5.0 mg/L Zn ortam derişimi hariç diğer ortam derişimlerinde kontrol grubuna göre Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. 0.1 mg/L Pb ve 0.1 mg/L Pb+ 0.5 mg/L Zn ortam derişimlerinde kontrol grubuna göre sırasıyla %41 ve %20 düzeyinde bir azalmanın olduğu saptanmıştır (Şekil 4.6.B; SNK, $P<0.05$).

21.günde 0.5 mg/L Pb+ 2.5 mg/L Zn ve 1.0 mg/L Pb+ 5.0 mg/L Zn ortam derişimleri hariç diğer ortam derişimlerinde kontrol grubuna göre Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. Düşük Pb ve Pb+Zn ortam derişimlerinin etkisinde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuyla kıyaslandığında sırasıyla %51 ve %29 düzeyinde bir azalmanın olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6.C; SNK, $P<0.05$).

BÖBREK

Şekil 4.6. *O. niloticus*'un böbrek dokusunda Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesi üzerine ortamdaki Pb ve Pb+Zn derişimlerinin etkisi (A: 7. gün, B: 14. gün, C:21. gün).

4.2.3. Karaciğer Dokusunda Na^+ , K^+ -ATPaz Aktivitesi

O. niloticus'da 7, 14 ve 21. günlerde karaciğer dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Zn ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.13-4.15'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L ortam derişiminde karaciğer Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi 7 ve 14. günlerde kontrol grubuna göre önemli bir değişiklik göstermezken, 21. günde önemli düzeyde artmıştır. 0.1 mg/L Pb+ 0.5 mg/L Zn ortam derişiminde denenen sürelerde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi önemli düzeyde azalmıştır. Bu azalmalar 7 ve 14. günler sonunda kontrol grubuna göre istatistik ayrım göstermiştir (Çizelge 4.13; SNK, $P<0.05$). Karaciğer Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi Pb ve Pb+Zn ortam derişimlerinde süreye bağlı olarak istatistik ayrım göstermemiştir.

Çizelge 4.13. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Pb ve 0.1 mg/L Pb+ 0.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin karaciğer Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	21. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	2,760±0,469 abx	2,790±0,521 abx	2,947±0,506 ax
0.1 Pb	3,671±0,545 ax	4,126±0,624 ax	4,959±0,473 bx
0.1 Pb+0.5 Zn	1,555±0,380 bx	1,321±0,673 bx	1,826±0,317 ax

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.05$).

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

0.5 mg/L ortam derişiminde Pb'nin doğrudan etkisinde denenen tüm sürelerde karaciğer Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre önemli oranda artarken, Pb+Zn karışımında denenen her üç sürede de Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre istatistik bir ayrım göstermemiştir. (Çizelge 4.14; SNK, $P<0.05$). Pb ve Pb+Zn karışımında süreye bağlı olarak karaciğer Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinde önemli bir değişikliğin olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.14. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+ 2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin karaciğer Na⁺/K⁺ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	21. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	2,760±0,469 ax	2,790±0,521 ax	2,947±0,506 ax
0.5 Pb	4,446±0,399 bx	4,888±0,455 bx	4,801±0,485 bx
0.5 Pb+2.5 Zn	1,717±0,208 ax	2,491±0,570 ax	1,658±0,186 ax

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P<0.05).

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

1.0 mg/L ortam derişiminde doğrudan Pb'nin etkisinde karaciğer Na⁺, K⁺ -ATPaz aktivitesi denenen tüm sürelerde kontrol grubuna göre bir artış göstermiştir. 1.0 mg/L Pb+ 5.0 mg/L Zn ortam derişiminde karaciğer Na⁺, K⁺ -ATPaz aktivitesi her üç sürede de kontrol grubuna göre istatistik ayrım göstermemiştir. (Çizelge 4.15; SNK, P<0.05). Pb ve Pb+Zn ortam derişiminde süreye bağlı olarak karaciğer Na⁺, K⁺ -ATPaz aktivitesinde önemli bir değişikliğin olmadığı saptanmıştır.

Çizelge 4.15. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Pb ve 1.0 mg/L Pb+ 5.0 mg/L Zn ortam derişimlerinin karaciğer Na⁺/K⁺ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	21. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	2,760±0,469 ax	2,79±0,521 ax	2,947±0,506 ax
1.0 Pb	4,970±0,408 bx	4,856±0,646 bx	5,150±0,544 bx
1.0 Pb+5.0 Zn	3,052±0,523 ax	2,123±0,390 ax	3,230±0,383 ax

* : a ve b harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P<0.05).

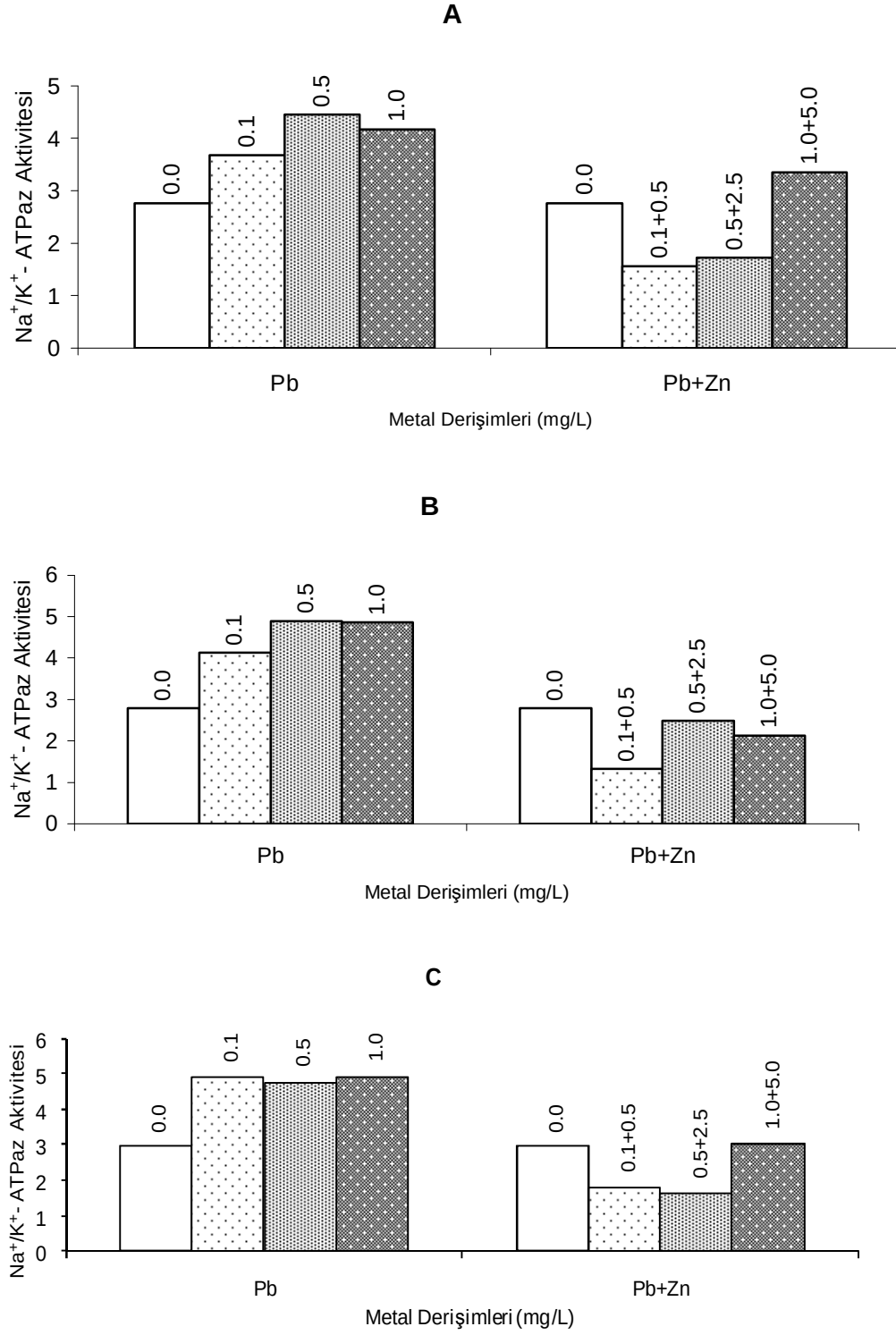
$\bar{X} \pm S\bar{X}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

Belirli bir sürede *O.niloticus*'da karaciğer dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Zn karışımlarının derişime bağı etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizleri yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.7 A, B ve C'de verilmiştir.

7. günde karaciğer Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinde Pb'nin doğrudan etkisinde kontrol grubuna kıyasla önemli artış saptanmıştır. Pb+Zn karışımında ise düşük derişimlerde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre azaldığı belirlenmiştir. 0.5 mg/L ortam derişiminde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi %61 oranında artarken, 0.5 mg/L Pb+ 2.5 mg/L Zn ortam derişiminde ise %37 oranında azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.7.A; SNK, $P<0.05$).

14. günde doğrudan Pb derişimlerinin etkisinde karaciğer Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde artış göstermiştir. Pb+Zn karışımında ise kontrol grubuna göre azaldığı saptanmıştır. 0.5 mg/L Pb ortam derişiminde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi %73 düzeyinde artarken, 0.5 mg/L Pb+ 2.5 mg/L Zn ortam derişimin de ise %11 düzeyinde azalma olduğu saptanmıştır (Şekil 4.7.B; SNK, $P<0.05$).

21.günde doğrudan Pb derişimlerinin etkisinde karaciğer Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde artış göstermiştir. Pb+Zn karışımında ise 1.0 mg/L Pb+ 5.0 mg/L Zn ortam derişimi hariç diğer ortam derişimlerinde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre azaldığı belirlenmiştir. 0.5 mg/L Pb ortam derişiminde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi %62 düzeyinde artarken, 0.5 mg/L Pb+ 2.5 mg/L Zn ortam derişimin de ise %43 düzeyinde azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.7.C; SNK, $P<0.05$).

KARACİĞER

Şekil 4.7. *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesi üzerine ortamdaki Pb ve Pb+Zn derişimlerinin etkisi (A: 7. gün, B: 14. gün, C:21. gün).

4.2.4. Kas Dokusunda Na^+ , K^+ -ATPaz Aktivitesi

O.niloticus'da 7, 14 ve 21. günlerde kas dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Zn ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.16-4.18'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L ortam derişimin de Pb'nin doğrudan etkisinde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre 7 ve 14. günlerde artarken, 21. günde önemli düzeyde azalmıştır. Pb+Zn karışımında denenen her üç sürede de Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır (Çizelge 4.16; SNK, $P<0.05$). 0.1 mg/L Pb ortam derişimin de Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi 21. günde 7 ve 14. günlere oranla önemli düzeyde azalmış ve bu azalma istatistik olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.16. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Pb ve 0.1 mg/L Pb+ 0.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin kas Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)					
	7. Gün		14.Gün		21. Gün	
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0.0	24,826 $\pm$ 0,426	ax	25,674 $\pm$ 0,587	ax	24,589 $\pm$ 0,339	ax
0.1 Pb	29,344 $\pm$ 0,763	bx	30,273 $\pm$ 0,729	bx	11,340 $\pm$ 1,218	by
0.1 Pb+0.5 Zn	11,565 $\pm$ 2,016	cx	14,141 $\pm$ 0,520	cx	13,721 $\pm$ 0,948	bx

* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.05$).

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

0.5 mg/L ortam derişimin de doğrudan Pb'nin etkisinde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre 7. günde artarken, 14 ve 21. günlerde önemli düzeyde azalmıştır. Pb+Zn karışımında Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre 7 ve 14. günlerde bir değişiklik göstermezken, 21. günde azalmıştır. 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+ 2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinde süreye bağlı olarak kas Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde istatistik ayrım gözlenmiştir (Çizelge 4.17; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.17. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Pb ve 0.5 mg/L Pb+ 2.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin kas Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	21. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	24,826±0,426 ax	25,674±0,587 ax	24,589±0,339 ax
0.5 Pb	34,515±1,320 bx	21,380±0,579 by	16,583±0,434 bz
0.5 Pb+2.5 Zn	21,106±1,359 ax	23,893±0,535 ay	12,878±0,489 cz

* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, y ve z harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.05$).

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

1.0 mg/L ortam derişimin de Pb ve Pb+Zn Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalma göstermiştir. Pb'nin doğrudan ortam derişimlerinin etkisinde süreye bağlı olarak kas Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde istatistik ayrım gözlenmiştir (Çizelge 4.18; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.18. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Pb ve 1.0 mg/L Pb+ 5.0 mg/L Zn ortam derişimlerinin kas Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi (μ mol Pi/mg prt./sa.) üzerine etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	21. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *	$\bar{X} \pm S\bar{X}$ *
0.0	24,826±0,426 ax	25,674±0,587 ax	24,589±0,339 ax
1.0 Pb	12,182±0,147 bx	13,857±0,949 by	8,321±0,545 bz
1.0 Pb+5.0 Zn	8,519±0,799 cx	13,883±1,008 by	9,568±0,430 bx

* : a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x, y ve z harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.05$).

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

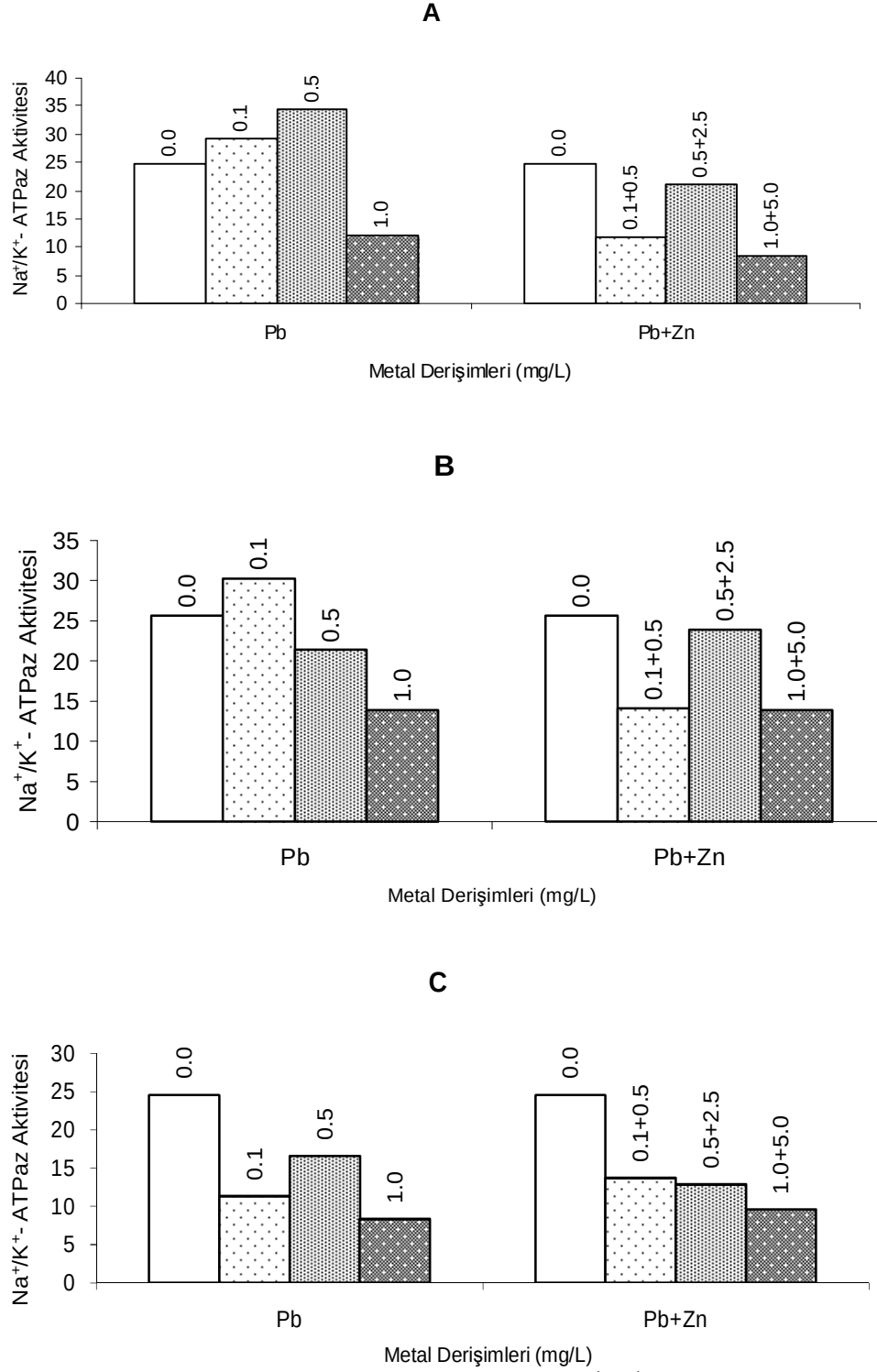
Belirli bir sürede *O.niloticus*'da kas dokusundaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi üzerine Pb ve Pb+Zn karışımlarının derişime bağı etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizleri yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.8 A, B ve C'de verilmiştir.

7.günde doğrudan Pb derişimlerinin etkisinde kas Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi 1.0 mg/L ortam derişimi hariç kontrol grubuna göre önemli düzeyde artış göstermiştir. Pb+Zn karışımında ise kontrol grubuna kıyasla tüm derişimler de bir azalma göstermiştir. 0.1 mg/L Pb ortam derişimin de Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi %18 düzeyinde artarken, 0.1 mg/L Pb+ 0.5 mg/L Zn ortam derişimin de ise %53 oranında azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.8.A; SNK, $P<0.05$).

14. günde doğrudan Pb derişimlerinin etkisinde kas Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi 0.1 mg/L Pb ortam derişiminde artış, diğer derişimlerde azalma göstermiştir. Pb+Zn karışımında denenen tüm derişimler de kontrol grubuna oranla bir azalma olduğu saptanmıştır. 0.1 mg/L Pb ortam derişiminde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi %18 düzeyinde artarken, 0.1 mg/L Pb+ 0.5 mg/L Zn ortam derişimin de ise %44 oranında azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.8.B; SNK, $P<0.05$).

21.günde denenen tüm ortam derişimlerinde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi kontrol grubuna oranla azaldığı belirlenmiştir. 0.1 mg/L Pb ve 0.1 mg/L Pb+ 0.5 mg/L Zn ortam derişimlerinin etkisinde kontrol grubuna göre sırasıyla %53 ve %44 oranında azalmanın olduğu saptanmıştır (Şekil 4.8.C; SNK, $P<0.05$).

KAS



Şekil 4.8. *O. niloticus*'un kas dokusunda Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesi üzerine ortamdaki Pb ve Pb+Zn derişimlerinin etkisi (A: 7. gün, B: 14. gün, C: 21. gün).

5. TARTIŞMA

Kurşunun letal etkilerine bırakılan *B. rerio* balıklarında davranış değişiklikleri gözlenmiş, balıklarda yüzme aktiviteleri bozulmuştur (Labrot ve ark., 1999). Bu araştırmada deney süresince kurşunun en yüksek derişiminin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un yaşayan bireyleri üzerine Pb herhangi bir akut etki yapmamıştır. Bununla birlikte balıkların davranış değişikliklerinde anormallikler, yüzme aktivitelerinde bozukluklar ve dokularda dejenerasyonların olduğu saptanmıştır. Remya ve ark. (2008) balıklarda mortalitenin, metallerin stresi nedeniyle O₂ tüketiminde bir azalma ve solungaç epitelyumunda hasar veya epitelyum zarının koagülasyonu sonucu meydana geldiğini belirtmişlerdir. Kurşunun farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *O. mykiss*'de mortalitenin oluşmadığı saptanmıştır (Alves ve Wood, 2006).

Balıklarda solungaçlar yoluyla alınan Pb membranlardaki taşıyıcı proteinlere bağlanarak metabolik olarak aktif doku ve organlara taşınmaktadır. Solungaçlar yoluyla alınan Pb'nin önemli bir kısmı karaciğer ve böbrek dokusuna taşındığı belirtilmiştir (Rogers ve ark., 2003).

Ağır metaller genelde balık dokularında değişiklikler oluşturarak balıklar üzerinde etkilerini göstermektedirler. Farklı balık türlerinde yapılan çalışmalarda Pb'nin etkisinin farklı olduğu ve bunun ancak spesifik doku analizleri sonucu belirlenebildiği saptanmıştır (Labrot ve ark., 1999). Balık dokularında ağır metaller birçok biyolojik ve kimyasal faktörler nedeniyle farklılık göstermektedir (Linde ve ark., 1999). Balıkların metabolik olarak aktif dokularında ağır metallerin daha çok biriktiği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (De Conto Cinier ve ark., 1999).

Balıklarda Pb birikimi derişime ve etkide kalma süresine bağlı olarak artış göstermektedir. *Salmo trutta*'da Pb birikimi sürenin uzamasına bağlı olarak arttığı saptanmıştır (Heier ve ark., 2009). Pb'nin etkisine 21 gün süre ile bırakılan *O. mykiss*'de Pb birikimi ortamda metal birikiminin artışına bağlı olarak arttığı saptanmıştır (Alves ve ark., 2006). Bu araştırmada *O. niloticus*'un çalışılan dokularında Pb birikimi etkide kalınan süre ve ortam derişimindeki artışa bağlı olarak artma göstermiştir.

Su canlılarında ağır metal birikimi dokulara göre ayırım göstermektedir ve genelde böbrek, karaciğer ve solungaç gibi dokularda birikim yüksek düzeylerde olmaktadır. Qiao-qiao ve ark. (2007) karaciğer, böbrek ve solungaç gibi dokuların metabolik olarak aktif oldukları ve ağır metalleri yüksek düzeyde biriktirdiklerini belirtmişlerdir. Cd, Cu, Pb, Zn ve Fe gibi metallerin balıklarda birikimiyle ilgili yapılan çalışmalarda karaciğer, böbrek ve solungaçların metalleri yüksek düzeylerde biriktirdikleri belirtilmiştir (Kargın, 1996; Rashed, 2001; Campana ve ark., 2003; Bervoets ve ark., 2009).

Doğal ve laboratuvar koşullarında yapılan çalışmalarda böbreklerin yüksek düzeyde Pb biriktirdiği belirtilmiştir (Alves ve Wood, 2006; Dai ve ark., 2010; Pereira ve ark., 2010). Balıklarda böbrek dokusu, toksikantların metabolik oranlarını ve metal birikim düzeyini gösteren indikatör bir dokudur. Böbrekler, ksenobiyotiklerin atılımında ve homeostasisin sürdürülmesinde önemli bir rol oynadığı, buna ek olarak haemotopoietic, endokrin ve immun sistemlerde önemli işlevlere sahip olduğu belirlenmiştir (Peraira ve ark., 2010). Kurşunun etkisine bırakılan *O. mykiss*'de Pb'nin büyük bir kısmının böbreklerde biriktiği belirtilmiştir (Patel ve ark., 2006). *Holobatrachus didactylus*'da Pb birikimi en fazla böbrek dokusunda birikmiş, bunu karaciğer ve kan dokusu izlemiştir (Campana ve ark., 2003). Bu çalışmada *O. niloticus*'da diğer dokulara oranla denenen tüm koşullarda en yüksek Pb birikimi böbrek dokusunda olmuştur. Rainbow trout ile yapılan bir çalışmada böbreğin yüksek biriktirme kapasitesi nedeniyle Pb birikiminin bir denge durumuna ulaşmadığı belirtilmiştir (Patel ve ark., 2006). Bu çalışmada deneylerin sona erdirildiği 21. gün sonunda denenen tüm derişimlerde *O. niloticus*'un böbrek dokusundaki Pb birikiminde bir denge durumu gözlenmemiştir.

Karaciğer balıklarda kirleticilerin etkilerinin ve oksidatif stresin belirlenmesinde çok çalışılan bir organdır. Karaciğer, temel metabolizma işlevlerinin yerine getirilmesinde merkezi bir role sahip olup, kirleticilerin birikimi, biyotransformasyonu ve atılımında görev yapan önemli bir organdır (Pereira ve ark., 2010). Doğal ve laboratuvar koşullarında çeşitli balık türleriyle yapılan çalışmalarda Pb birikiminin karaciğerde yüksek düzeylerde olduğu saptanmıştır (Rashed, 2001; Campana ve ark., 2003). Bu çalışmada *O. niloticus*'da böbrek ve solungaçlara

oranla karaciğerde Pb birikiminin daha düşük olduğu saptanmıştır. *O. mykiss* ile yapılan bir araştırmada böbrek, barsak ve solungaçlara oranla karaciğerde Pb birikiminin daha düşük olduğu ve bunun diğer metallerin aksine Pb'nin karaciğerde metallothionein ve metal bağlayıcı ptoteinlerin oluşumunu indüklememesinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Alves ve ark., 2006).

Balık solungaçları gaz değişimi, asit-baz dengesi, iyon taşınımı ve azot atıklarının atılması gibi multi işlev yapan önemli bir organdır (Wong ve Wong, 2000). Solungaçlar Pb'nin ekskresyonunu ve detoksifikasyonu için diğer dokulara tekrar dağılımını yapma yeteneğindedir (Alves ve Wood, 2006). Solungaçlar Pb alınımında ilk hedef doku olup, solungaçlar yoluyla alınan Pb'nin önemli bir kısmı böbrek ve karaciğerde birirmektedir (Rogers ve ark., 2003). Pb'nin etkisine bırakılan *S. trutta*'da ilk 4 günde solungaçlarda Pb birikimi olmuş ve bu birikim 11.güne kadar artarak devam etmiştir, Pb birikiminin karaciğerden yüksek olduğu saptanmıştır (Heier ve ark., 2009). Farklı balık türleriyle yapılan çalışmalar, Pb'nin solungaçlarda çok yüksek düzeylerde biriktiği belirtilmiştir (Rashed, 2001; Rogers ve ark., 2003). Bu araştırmada *O. niloticus*'da karaciğer ve kas dokusuna oranla solungaçlardaki Pb birikiminin daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Balıklarda kas dokusu, diğer dokulara oranla metal biriktirmede belirleyici bir doku olmadığı belirtilmektedir (Kargın ve Erdem, 1992; Anderson ve ark., 1997; Kargın ve Çoğun, 1999). Bu araştırmada denenen tüm ortam derişimlerinde balıkların kaslarındaki Pb birikimi diğer dokulara kıyasla düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. *T. nilotica*'da kas dokusundaki Pb birikiminin diğer dokulara oranla düşük düzeyde olduğu belirtilmiştir (Rashed, 2001).

Zn gerekli bir element olup canlılarda hayati öneme sahip hücre bileşenlerinde ve bir çok enzimin yapısında bulunması gereken bir elementtir (Qiao-qiao ve ark., 2007). Zn organizmaların büyümesinde, gelişmesinde ve canlılardaki tüm hücrelerin işlevlerinde önemli rol oynamaktadır (Jemai ve ark., 2007).

Çinko gerekli olmayan ağır metalleri bağlamada ve olası zararlı etkilerini azaltmada önemli bir rol oynamaktadır. Zn'nin bir çok su organizmasında ağır metal toksisitesini azalttığı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Kargın ve Çoğun, 1999; Remya ve ark., 2008; Cooper ve ark., 2009). Cooper ve ark. (2009) Pb ve

Pb+Zn'nin etkisine bıraktıkları *Cerodaphnia dubai* ve *Daphnia craniata* gibi türlerde, doğrudan Pb'ye oranla Pb+Zn karışımının etkisinin daha düşük olduğu ve çinkonun, kurşunun toksik etkisini azalttığını belirtmişlerdir. Cd'un etkisine bırakılan *Catla catla* balığında hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde büyük değişiklikler olurken, Cd+Zn karışımının etkisinde bu değişikliklerin en az düzeye indiği belirtilmiştir (Remyla ve ark., 2008). Kurşun ve diğer metaller arasındaki etkileşimle ilgili yapılan araştırmalarda, Ca ve Fe eksikliğinde Pb absorpsiyonunun arttığı, ortama Ca ve Fe ilave edildiğinde Pb toksisitesinin azaldığı belirtilmiştir (Alonso ve ark., 2004).

Canlıların dokularında metal birikimini engelleyen önemli bir elementte çinkodur. 28 gün süre ile Cd ve Zn+Cd karışımının etkisine bırakılan *Porcellio scaber*'de Cd'un doğrudan etkisine bırakılan bireylere oranla Cd+Zn karışımındaki bireylerin dokularında Cd birikiminin oldukça azaldığı belirtilmiştir (Zidar ve ark., 2009). *B. reiro* balıklarında Zn dokularda Cd alınımlı üzerine antagonistik bir etki yaptığı belirtilmiştir (Wicklund ve ark., 1988). Tatlı su balığı *T. nilotica*'da Zn dokularda Cd birikimini oldukça azalttığı belirtilmiştir (Kargın ve Çoğun, 1999).

O. niloticus'da denenen tüm sürelerde doğrudan Pb etkisine bırakılan balıklara oranla Pb+Zn karışımındaki balıkların böbrek, karaciğer, solungaç ve kas dokularında Pb birikiminin önemli düzeylerde azaldığı saptanmıştır. 21.gün sonunda en yüksek ortam derişiminde balıkların dokularındaki Pb birikimi, 1.0 mg/L Pb + 5.0 mg/L Zn karışımındaki balıklarda 1.0 mg/L Pb etkisindeki balıklara oranla böbrekte %41, karaciğerde %32, kasta %28 ve solungaçlarda %24 düzeyinde bir azalma olduğu saptanmıştır. Çinkonun dokularda kurşun birikimini engellemesi büyük bir olasılıkla çinkonun kurşun ile rekabete girerek kurşunun taşınma sistemini bozması sonucu olabileceği düşünülmektedir. *O. niloticus* ile yapılan bu araştırmada denenen tüm ortam derişimlerinde dokulardaki Pb birikimi Zn'nin varlığında azaldığı belirlenmiştir. *Littorina saxatilis*'de Pb birikimi ile ilgili yapılan bir araştırmada Zn'nin varlığında Pb birikiminin oldukça azaldığı belirtilmiştir (Daka ve Hawkins, 2006).

Çoğunlukla bazal lateral membranlarında bulunan ATP azlar Na, K, Ca iyonlarının hücre membranlarından taşınmalarından sorumludurlar. Na⁺,K⁺-ATP

azlar α ve β alt ünitelerini içeren membran iyon taşıyıcı enzimlerdir. Balıklarda çeşitli kirletici maddeler difüzyonla solungaçların yüzeyinden girmektedirler. Membranlardaki bu etkileşim sonucu solungaç epitelyum hücrelerindeki ATP azların inaktivasyonu nedeniyle membran permabilitesinin osmotik ve iyonik regülasyonu bozulmaktadır (Prashanth ve ark., 2010). Na^+, K^+ -ATP azlar plazma membranında Na^+ ve K^+ 'un karşılıklı transferi, potansiyel membran oluşumlarında ve doku osmolaritesinin sürdürülmesinden sorumlu enzimlerdir (Vijayavel ve ark., 2007).

Ağır metallere tepki olarak ATP az aktivitesinde değişikliklerin oluştuğu ve ATP az enziminin metallere duyarlılık gösterdiği bir çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Hogstrand ve ark., 1999; De La Torre ve ark., 2000; Vijayavel ve ark., 2007). Ksenobiyotiklerin etkisinde Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin azalabildiği, artabildiği veya herhangi bir değişiklik gösteremeyebildiği belirtilmiştir (De La Torre ve ark., 2007).

Bu çalışmada elde edilen bulgular Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin doku, metal derişimi ve etkide kalınan süreye bağlı olarak önemli düzeyde değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Dokular arasında Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi incelendiğinde en çok etkilenen dokunun solungaçlar olduğunu bunu böbrek, kas ve karaciğerin izlediği belirlenmiştir. Pb'nin doğrudan etkisinde solungaç Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi denenen tüm ortam derişimlerinde azalma göstermiştir. Böbrek ve kas dokusunda azalma, karaciğer de ise genelde artış gözlenmiştir. Pb+Zn karışımında solungaç dokusunda azalma, böbrek dokusunda 7. günde azalma 14. günde artış gözlenirken, kas dokusunda azalma ve karaciğer de genelde azalmanın olduğu saptanmıştır. ATP az enziminin inhibüsyonun ölçülebilir düzeyleri fizyolojik işlev bozukluklarını yansıtmaktadır.

Bu araştırmada Pb toksisitesinin solungaç Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi üzerine oldukça etkili olduğu görülmektedir. Solungaç dokusu Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin Pb toksisitesine duyarlı olduğunu belirleyen çalışmalar çeşitli araştırmacılar tarafından belirlenmiştir (Satyavathi ve Rao, 2000; Rogers ve ark., 2003).

Balıklarda özellikle solungaç, böbrek ve karaciğer gibi organlara özgü bir enzim olan Na^+, K^+ -ATP azlar hücre içi homeostazisin korunmasından sorumludur ve ağır metallerin toksik etkilerinin belirlenmesinde Na^+, K^+ -ATP az enziminin önemli

bir biyolojik gösterge olduğu kabul edilmektedir (Vijayavel ve ark., 2007). Na^+, K^+ -ATP az katalitik fonksiyonel gurubunda bulunan $-\text{SH}$ grupları nedeniyle metallere duyarlılık göstermektedir. Pb gibi toksik metaller bu fonksiyonel gruplara bağlanarak dokularda enzim aktivitesinde değişikliklere neden olabileceği belirtilmiştir (De La Torre ve ark., 2007). Balıklarda Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi metallerin etkisinde artış veya azalış göstermektedir.

Solungaçlar osmotik regülasyon ve solunumda önemli işlevleri olan bir dokudur. Bu çalışmada denenen tüm Pb ve Pb+Zn ortam derişimlerinde solungaç Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi kontrole göre azalma göstermiştir. 0.1 mg/L Pb ortam derişiminde solungaç Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi 7. günde %28, 14. günde %49 ve 21. günde %53 oranında bir azalma göstermiştir. 21. günde solungaç Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinde derişim artışına paralel olarak azalma daha yüksek düzeylere ulaşmıştır. Pb'nin etkisinde 48 saat süreyle kalan *O. mykiss*'de solungaç Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi %48 oranında azalma göstermiştir (Rogers ve ark., 2003). Araştırmacılar Na^+, K^+ -ATP az aktivitesindeki bu inhibüsyonun Pb'nin enzimdeki karboksil guruplarına bağlanması ve fosfirilasyon aktivitesinde bir azalmaya neden olması sonucu olduğunu belirtmişlerdir. Pb'nin farklı derişimlerine bırakılan *Penaues indicus*'da Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi derişim ve süreye bağlı olarak azalmıştır (Satyavathi ve Rao, 2000). Quabius ve ark. (1998) bakırın etkisine bıraktıkları *Oreochromis mossambicus*'da süreye bağlı olarak solungaç Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin azaldığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu azalmanın hayvanlarda Na^+ taşınımının bozulması ve plazma Na^+ düzeyinin azalmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Thaker ve ark. (1996) Cr'nin etkisinde *Periophthalmus dips*'de Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin inhibüsyon mekanizmasında, Cr'nin solungaç epitelindeki aktif taşıma sistemini bloke ederek balıkların osmoregülasyon mekanizmasını bozduklarını belirtmişlerdir. Cd'nin etkisine bir hafta süreyle bırakılan *Anguilla anguilla*'da solungaç Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi derişime bağlı olarak azaldığı ve en büyük azalmanın (%80) en yüksek Cd derişiminde olduğu belirtilmiştir (Lionetto ve ark., 1998). 150 μL Cu'nun etkisine bırakılan *Carassius auratus gibelio*'da 3. gün sonunda solungaç Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi azalmış ve bu azalmanın Na^+ iyonunun azalmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Eyckmans ve

ark., 2010). Cu'nun etkisine bırakılan *Clarias gariopinus*'da solungaç Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin kontrole göre azaldığı belirtilmiştir (Hoyle ve ark., 2007). Arjantinde kirlenmiş kıyılardan alınan *Cnesterodon decemmaculatus*'da solungaç Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin %43 düzeyinde azaldığı belirtilmiştir (De La Torre ve ark., 2005).

Balıklarda böbrekler iyon regülasyonunda önemli görev yapan bir dokudur. Bu çalışmada Pb'nin doğrudan etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde böbrek Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi kontrole göre azalmıştır. 0.1 mg/L Pb ortam derişiminde böbrek Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi 7. günde %43, 14. günde %41 ve 21. günde %51 oranında bir azalma göstermiştir. Süre ve derişim artışına paralel olarak böbrek Na^+, K^+ -ATP az aktivitesindeki azalmada daha yüksek olmuştur. Thaker ve ark. (1996) Cr'nin etkisine bıraktıkları *P. dipes*'de böbrek dokusunda Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin azaldığını ve bu azalmanın süre ve derişim artışına bağlı olarak daha yüksek düzeylere ulaştığını belirtmişlerdir. *O. niloticus*'da etoxazole'nin Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi üzerine etkisiyle ilgili yapılan bir çalışmada böbrek Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin 15.günün sonunda azaldığı belirtilmiştir (Üner ve ark., 2005).

O. niloticus'un kas dokusu Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi düşük derişimlerde 7 ve 14. günlerde artış, 21. günde ise azalma göstermiştir. 0.1 mg/L ortam derişimde kas Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi 7. günde %18 oranında artarken, 21. günde %53 oranında azalma göstermiştir. Endüstri atıkları ve metallerin etkisinde *P. dipes*'de kas dokusu Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin azaldığı belirtilmiştir. (Chhaya ve ark., 1997). Prashanth ve David (2010) cypermetrinin letal dozlarına 1 ve 7 günlük sürelerle bıraktıkları *Cirrhinus mrigala*'da kas dokusu Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin %48 düzeyinde azaldığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar ATP az aktivitesindeki inhibüsyonun $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pompasındaki bozulma nedeniyle olabileceğini belirtmişlerdir.

Bu araştırmada dokularda Na^+, K^+ -ATP az aktivitesindeki azalmalar iyon regülasyonunda bozulma ve metalin $-\text{SH}$ gruplarına bağlanarak enzimin yapısını değiştirmesi sonucu olabileceği düşünülmektedir. İyon dengesindeki bozulma pasif iyon hareketi üzerine Pb'nin toksik etkisi nedeniyle olabilir. Vijayavel ve ark. (2007) metallerin etkisinde Na^+, K^+ -ATP az aktivitesindeki azalmaların serbest radikallerin oluşumunun artışı nedeniyle olduğunu bununda membran bütünlüğünü değiştirdiğini belirtmişlerdir.

Karaciğer balıklarda kirleticilerin etkilerinin saptanması ve oksidatif stresin belirlenmesinde çok çalışılan bir organdır. Bu araştırmada Pb'nin doğrudan etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde karaciğer Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi kontrole göre artış göstermiştir. 0.5 mg/L ortam derişiminde karaciğer Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi 7. günde %61, 14. günde %73 ve 21. günde %62 düzeyinde artış göstermiştir. Karaciğerde Na^+, K^+ -ATP az aktivitesindeki bu artış balıkta bulunan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidant sistemlerin devreye girmesiyle açıklanabilir.

Solungaç dokusu Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin Pb'ye hassasiyeti böbrek ve karaciğer dokuları Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinden daha yüksek olmuştur. Buda Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi üzerine Pb'nin aksiyon mekanizmasının farklı dokularda değişik olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada Pb+Zn etkileşiminin dokularda Pb birikimine olan etkisine benzer sonuçlar Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinde de gözlenmiştir. Pb'nin tek başına etkisinde dokularda (karaciğer hariç) Na^+, K^+ -ATP az aktivitesi azalma gösterirken, Pb+Zn etkileşiminde metallerin enzimin bağlanma bölgeleri için rekabetleri sonucu Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin genelde kontrol düzeylerine yaklaştığı görülmüştür. Bu bulgular Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin metal tipi ve derişimine ek olarak metallerin etkileşiminde de önemli düzeylerde değiştiğini göstermektedir. Bu araştırmada Pb+Zn karışımında Na^+, K^+ -ATP az aktivitesindeki kısmi düzelmenin dokularda bozulan iyon dengesinin normale dönmesinde bazı adaptasyon mekanizmalarının devreye girmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Balıklarda Na^+, K^+ -ATP az aktivitesinin ölçülmesi dokular üzerinde ağır metallerin toksik etkilerinin belirlenmesinin hassas bir biyomarkırı olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- ALONSO, M.L., MONTANA, F.P., MIRANDA, M., CASTILLO, C., HERNANDEZ, J. And BENEDITO J.L. 2004. Interactions Between Toxic (As, Cd, Hg and Pb) and Nutritional essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, Zn) Elements in the Tissues of Cattle From NW Spain. *Bio. Metals*, 17: 389-394.
- ALVES L.C., GLOVER, C.N. and WOOD, C.M. 2006. Dietary Pb Accumulation in Juvenile Freshwater Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol*, 51: 615-625.
- ALVES L.C. and WOOD, C.M. 2006. The Chronic Effects of Dietary Lead in Freshwater Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed Elevated Calcium Diets. *Aquatic Toxicology*, 78: 217-232.
- ANDERSON, M. B., PRESLAN, J. E., JOLIBOS, L., BOLLINGER, J. E. and GEORGE, W. J., 1997. Bioaccumulation of Lead Nitrate in Red Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*). *Journal of Hazardous Materials*, 54: 15-29.
- ATKINSON, A., GATEMBY, A.O., and LOWE, A.G., 1973. The Determination of Inorganic Orthophosphate in Biological Systems. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 320: 195–204.
- BLANCHARD, J. And GROSELL, M. 2006. Copper Toxicity Across Salinities From Freshwater to Seawater in the Euryhaline Fish *Fundulus heteroclitus*: Is Copper an Ionoregulatory Toxicant in High Salinities. *Aquatic Toxicology*, 80: 131-139.
- BLASCO, J. and PUPPO, J., 1999. Effects of Heavy Metals (Cu, Cd and Pb) on Aspartate and Alanine Aminotransferase in *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia). *Comp. Biochem. and Physiol., Part C*, 122: 253-263.
- BERVOETS, L., CAMPENHOUT, K.V., REYNDERS; H., KNAPEN, D., COVACI, A., and BLUST, R., 2009. Bioaccumulation of Micropollutants and Biomarker Responses in Caged Carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 720-728.

- CAMPANA, O., SARASQUETE, C., and BLASCO, J., 2003. Effect of Lead on ALA-D Activity, Metallothionein Levels, and Lipid Peroxidation in Blood, Kidney, and Liver of the Toadfish *Halobatrachus didactylus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55: 116-125.
- CHHAYA, J., THAKER, J., MITTAL, R., NUZHAT, S., MANSURI, A.P. and KUNDU, R. 1997. Influence of Textile Dyeing and Printing Industry Effluent on ATPases in Liver, Brain and Muscle of Mudskipper, *Periophthalmus dipes*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 58: 793-800.
- COOPER, N.L., BIDWELL, J.R. and KUMAR, A. 2009. Toxicity of Copper, Lead and Zinc Mixtures to *Ceriodaphnia Dubai* and *Daphnia carinata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1523-1528.
- DAKA, E. R. and HAWKINS, S. J., 2006. Interactive Effects of Copper, Cadmium and Lead on Zinc Accumulation in the Gastropod Mollusc *Littorina saxatilis*. *Water, Air and Soil Pollution*, 171: 19-28.
- DAI, W., DU, H., FU, L., LIU, H. and XU, Z. 2010. Effect of Montmorillonite on Dietary Lead (Pb) Accumulation in Tissues of Tilapia (*Tilapia niloticus*). *Applied Clay Science*, 47: 193-195.
- DALLINGER, R., PROSI, F., SEGNER, H. and BACK, H. 1987. Contaminated Food and Uptake of Heavy Metals by Fish: a Review and Proposal For Further Research. *Oecologia*, 73: 91-98.
- DE CONTO CINIER, C., PETIT-RAMEL, FAURE, R., GARIN, D and BOUVET, Y., 1999. Kinetics of Cadmium Accumulation and Elimination in Carp *Cyprinus carpio* Tissues. *Comp. Biochem. and Physiol., Part C.*, 122: 345-352.
- DE LA TORRE, F. R., SALIBIAN, A. and FERRARI, L., 2000. Biomarkers Assessment in Juvenile *Cyprinus Carpio* Exposed to Waterborne Cadmium. *Environmental Pollution*, 109: 277-282.
- DE LA TORRE, F. R., FERRARI, L., and SALIBIAN, A. 2005. Biomarkers of a Native Fish Species (*Cnesterodon decemmaculatus*) Application to the Water Toxicity Assessment of a Peri-Urban Polluted River of Argentina. *Chemosphere*, 59: 577-583.

- DE LA TORRE, F. R., SALIBIAN, A. and FERRARI, L., 2007. Assessment of the Pollution Impact on Biomarkers of Effect of a Freshwater Fish. *Chemosphere*, 68: 1582-1590.
- EYCKMANS, M., TUDORACHE, C., DARRAS, V.M., BLUST, R. and BOECK, G.D. 2010. Hormonal and Ion Regulatory Response in Three Freshwater Fish Species Following Waterborne Copper Exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology C* 152: 270-278.
- HEIER, L.S., LIEN, I.B., STROMSENG, A.E., LIJONES, M., ROSSELAND, B.O., TOLLEFSEN, K. and SALBU, B. 2009. Speciation of Lead, Zinc and Antimony in Water Draining a Shooting Range-Time Dependent Metal Accumulation and Biomarker Responses in Brown Trout (*Salmo trutta* L.). *Science of the Total Environment*. 407: 4047-4055.
- HENCZOVA, M., DEER, A.K., FILLA, A., KOMLOSI, V. And MINK, J. 2008. Effects of Cu²⁺ and Pb²⁺ on Different Fish Species: Liver Cytochrome P450-Dependent Monooxygenase Activities and FTIR Spectra. *Comparative Biochemistry and Physiology C* 148: 53-60.
- HONGSTRAND, C., FERGUSON, E. A., GALVES, F., SHAW, J. R., WEBB, N. A. and WOOD, C. M., 1999. Physiology of Acute Silver Toxicity in the Starry Flounder (*Platichthys stellatus*) in Seawater. *J. Comp. Physiol., B*. 169: 461-473.
- HOYLE, I., SHAW, B.J. And HANDY, R.D. 2007. Dietary Copper Exposure in the African Walking Catfish, *Clarias gariepinus*: Transient Osmoregulatory Disturbances and Oxidative Stress. *Aquatic Toxicology*, 84: 255-267.
- GASPIC, Z.K., ZVONARIC, T., VRGOC, N., ODZAK, N. and BARIC, A. 2002. Cadmium and Lead in Selected Tissues of Two Commercially Important Fish Species from The Adriatic Sea. *Water Research*, 36: 5023-5028.
- GOYER, R.A. 1995. FACTORS Influencing Metal Toxicity. In: Goyer R.A., Klaassen C.D., Waalkes M.P. (eds) *Metal Toxicology*, San Diego: Academic press: 31-45.
- GÖK, G. 2006. *Oreochromis niloticus*'un Karaciğer, Solungaç ve Kas Dokularında Kadmiyum Birikimi Üzerine Kalsiyumun Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 50s.

- GUYNN, S., DOWD, F., and PETZEL D., 2002. Characterization of Gill Na/K-ATPase Activity and Ouabain Binding in Antarctic and New Zealand Nototheniid Fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 131: 363-374
- JEMAI, H., MESSAOUDI, I., CHAOUCHI, A. KERKENI, A. 2007. Protective Effect of Zinc Supplementation on Blood Antioxidant Defense System in Rats Exposed to Cadmium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 21: 269-273.
- KARGIN, F. ve ERDEM, C., 1992. Bakır- Çinko Etkileşiminde *Tilapia nilotica* (L.)'nın Karaciğer, solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi. *Doğa-Tr. J. of Zoology*, 16: 343-348.
- KARGIN, F., 1996. Seasonal Changes in Levels of Heavy Metals in Tissues of *Mullus barbatus* and *Sparus aurata* Collected From Iskenderun Gulf (Turkey). *Water, Air and Soil Pollution*, 90: 557-562.
- KARGIN, F. and COGUN, H. Y., 1999. Metal Interactions During Accumulation and Elimination of Zinc and Cadmium in Tissues of the Freshwater Fish *Tilapia nilotica*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 63: 511-519.
- KÖCK, G., TRIENDL, M. and HOFER, R. 1998. Lead(Pb) in Arctic Char (*Salvelinus alpinus*) From Oligotrophic Alpine Lakes: Gills Versus Digestive Tract. *Water Air Soil Pollution*, 102: 303-312.
- LABROT, F., NARBONNE, J.F., VILLE, P., DENIS, M.S. and RIBERA, D. 1999. Acute Toxicity, Toxicokinetics, and Tissue Target of Lead and Uranium in the Clam *Corbicula fluminea* and the Worm *Eisenia fetida*: Comparison With the Fish *Brachydanio rerio*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 36: 167-178.
- LINDE, A. R., SANCHEZ-GALAN, S., KLEIN, D., GARCIA-VAZQUEZ, E. and SUMMER, K. H., 1999. Metallothionein and Heavy Metals in Brown Trout (*Salmo trutta*) and European Eel (*Anguilla anguilla*): A Comparative Study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 44: 168-173.

- LIONETTO, M.G., MAFFIA, M., CAPPELLO, M.S., GIORDANO, M.E., STORELLI, C. and SCHETTINO, T. 1998. Effect of Cadmium on Carbonic Anhydrase and Na^+, K^+ -ATPase in Eel, *Anguilla anguilla*, Intestine and Gills. . Comparative Biochemistry and Physiology A 120: 89-91.
- LOWRY, O.H., ROSENBROUGH, N.J., FARR, A.L. and RANDALL, R.J., 1951. Protein Measurement With the Folin-Phenol Reagent. The Journal of Biochemistry, 193: 265-277.
- MAITY, S., ROY, S., CHAUDHURY, S. and BHATTACHARYA, S. 2008. Antioxidant Responses of the Earthworm *Lampito mauritii* Exposed to Pb and Zn Contaminated Soil. Environmental Pollution, 151: 1-7.
- MURAMOTO, S., 1983. Elimination of Copper From Cu-Contaminated Fish by Long-Term Exposure to EDTA and Fresh-Water . J. Environ. Sci. Health., A18 (3): 455-461
- NORWOOD, W.P., BORGMANN, U. and DIXON, D.G. 2007. Interactive Effects of Metals in Mixtures on Bioaccumulation in the Amphipod *Hyaella azteca*. Aquatic Toxicology, 84: 255-267.
- QIAO-QIAO, C.H.I., GUANG-WEI, Z.H.U. and LANGDON, A. 2007. Bioaccumulation of Heavy Metals in Fishes From Taihu Lake, China. Journal of Environmental Science, 19: 1500-1504.
- QUABIUS, J.L.I.E.S., BONGA, E.E.W., FLIK, G. and LOCK, R.A.C. 1998. Effects of Water-Borne Copper on Branchial Chloride Cells and Na^+, K^+ -ATPase Activities in Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Aquatic Toxicology, 43: 1-11.
- PATEL, M., ROGERS, J.T., PANE, E.F. WOOD, C.M. 2006. Renal Responses to Acute Lead Waterborne Exposure in the Freshwater Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology, 80: 362-371.
- PELGROM, S. M. G. J., LOCK, R. A. C., BALM, P. H. M. and WENDELAAR BONGA, S. E., 1995 . Effects of Combined Waterborne Cd and Cu Exposures on Ionic Composition and Plasma Cortisol in Tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Comp. Biochem. And Physiol. P. C: Toxicol. And Endocrin., 111 (2): 227-235.

- PEREIRA, P., PABLO, H., PACHECO, M. and VALE, C. 2010. The Relevance of Temporal and Organ Specific Factors on Metals Accumulation and Biochemical Effects in Feral Fish (*Liza aurata*) Under a Moderate Contamination Scenario. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73: 805-816.
- PLAYLE, R. C., 1998. Modelling Metal Interactions at Fish Gills. *The Science of the Total Environment*, 219: 147-163.
- PRASHANTH, M.S. and DAVID, M. 2010. Impact of Cypermethrin on $\text{Na}^+\text{-K}^+$, Ca^{2+} and Mg^{2+} ATPases in Indian Major Carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 84: 80-84.
- RASHED, M.N. 2001. Cadmium and Lead Levels in Fish (*Tilapia nilotica*) Tissues as Biological Indicator For Lake Water Pollution. *Environmental monitoring and assessment*, 68: 75-89.
- REMYLA, S.R., RAMESH, M., SAJWAN, K.S. and KUMAR, K.S. 2008. Influence of Zinc on Cadmium Induced Haematological and Biochemical Responses in a Freshwater Teleost Fish *Catla catla*. *Fish. Physiol. Biochem.* 34: 169-174.
- ROGERS, J. T., RICHARDS, J. G. and WOOD, C. M., 2003. Ionoregulatory Disruption as the Toxic Mechanism for Lead in the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 64(2): 215-234.
- ROGERS, J. T. and WOOD, C. M., 2004. Characterization of Branchial Lead-Calcium Interaction in the Freshwater Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.*, 207: 813-825.
- ROGERS, J. T., PATEL, M., GILMOUR, K.M. and WOOD, C.M. 2005. Mechanisms Behind Pb-Induced Disruptions of Na^+ and Cl^- Balance in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Am. J. Physiol. Roy.*, 289: 463-472.
- SATYAVATHI, C. and RAO, Y.P. 2000. Inhibition of $\text{Na}^+\text{,K}^+\text{-ATPase}$ in *Penaeus indicus* Postlarvae by Lead. *Comparative Biochemistry and Physiology C* 127: 11-22.

- SAYEED, I., AHMAD, I., FATIMA, M., HAMID, T., ISLAM, F. And RAISUDDIN, S. 2000. Inhibition of Brain Na^+, K^+ -ATPase Activity in Freshwater Catfish (*Channa punctatus* Bloch) Exposed to Paper. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 65: 161-167..
- SUNNY, F., and OOMMEN, O.V., 2001. Rapid Action of Glucocorticoids on Branchial ATPase Activity in *Oreochromis mossambicus*: An *In vivo* and *In vitro* Study. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 130: 323-330.
- TAO, S., LI, H., LIU, C. and LAM, K. C., 2000. Fish Uptake of Inorganic and Mucus Complexes of Lead. Ecotoxicol. and Environ. Safety, 46: 174-180.
- THAKER, J., CHHAYA, J., NUZHAT, S., MITTAL, R., MANSURI, A.P. and KUNDU, R. 1996. Effects of Chromium (VI) on Some Ion-Dependent ATPases in Gills, Kidney and Intestine of Coastal Teleost *Periophthalmus dips*. Toxicology, 112: 237-244.
- TULASI, S.J., REDDY, P.U., and RAO, J.V.R. 1992. Accumulation of Lead and Effects of Total Lipids and Lipid Derivates in Freshwater Fish *Anabas testudines*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 23: 33-38.
- ÜNER, N., ORUÇ, E. and SEVGİLER, Y. 2005. Oxidative Stres-Related and ATPase Effects of Etoxazole in Different Tissues of *Oreochromis niloticus*. Environmental Toxicology and Pharmacology, 20: 99-106.
- VIJAYAVEL, K., GOPALAKRISHNANS. And BALASUBRAMANIAN, M.P. 2007. Sublethal Effects of Silver and Chromium in the Gren Mussel *Perna viridis* With Reference to Alterations in Oxygen Uptake, Filtration Rate and Membrane Bound ATPase System as Biomarkers. Chemosphere, 69: 979-986.
- WELTJE, L. 1998. Mixture Toxicity and Tissues Interactions of Cd, Cu, Pb and Zn in Earthworms (Oligochaeta) in Laboratory and Field Soils: a Critical Evoluation of Data. Chemosphere, 36: 2643-2660.
- WICKLUND, A., RUNN, P., nad NORRGREN, L., 1988. Cadmium and Zinc Interactions in Fish: Effects of Zinc on the Uptake, Organ Distrubition, and Elimination of ^{109}Cd in the Zebrafish, *Brachydanio rerio*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 17: 345-354.

- WICKLUND GLYNN, D., 2001. The Influence of Zinc on Apical Uptake of Cadmium in the Gills and Cadmium Influx to the Circulatory System in Zebrafish (*Danio rerio*). Comp. Biochem. Physiol. Part C., 128: 165-172.
- WONG, C.K.C. and WONG, M.HÇ 2000. Morphological and Biochemical Changes in the Gills of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to Ambient Cadmium Exposure. Aquatic Toxicology, 48: 517-527.
- WU, S.M., DING, H.R., LIN, L.L. and LIN, Y. 2007. Juvenile Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Strive to Maintain Physiological Functions After Waterborne Copper Exposure. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 54: 482-492.
- ZHANG, L. And WANG, W. 2005. Effects of Zn Pre-Exposure on Cd and Zn Bioaccumulation and Metallothionein Levels in Two Species of Marine Fish. Aquatic Toxicology, 73: 353-369.
- ZIDAR, P., VAN GESTEL, C.A.M. and STRUS, J. 2009. Single and Joint Effects of Zn and Cd on *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda) Exposed to Artificially Contaminated Food. Ecotoxcology and Environmental Safety, 72: 2075-2082.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Adana ilinde doğdu. 2003 yılında Adana Ç.E.A.Ş Anadolu Lisesini tamamladıktan sonra 2004 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2008 yılında lisans eğitimini tamamladıktan sonra 2010 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde yüksek lisans eğitimine başladı ve halen aynı enstitüde eğitime devam etmektedir.