ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Gülbin GÖK

OREOCHROMIS NILOTICUS'DA BAKIR VE BAKIR-KALSİYUM, BAKIR-EDTA KOMPLEKSLERİNDE BAKIRIN FARKLI DOKULARDA BİRİKİMİ, ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDANTLAR VE DETOKSİFİKASYON ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİLERİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2012

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OREOCHROMIS NILOTICUS'DA BAKIR VE BAKIR-KALSİYUM, BAKIR-EDTA KOMPLEKSLERİNDE BAKIRIN FARKLI DOKULARDA BİRİKİMİ, ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDANTLAR VE DETOKSİFİKASYON ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİLERİ

Gülbin GÖK

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 27/01/2012 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

…….....	……..	…….....
Prof. Dr. Ferit KARGIN	Prof. Dr. İskender EMRE	Prof. Dr. Seyhan TÜKEL
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE
..…….....	**..**……..	
Prof.. Dr. Bedii CİCİK	Doç. Dr. Fatma ÇEVİK	
ÜYE	ÜYE	

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FEF2007D20

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

ÖZ

DOKTORA TEZİ

OREOCHROMIS NILOTICUS'DA BAKIR VE BAKIR-KALSİYUM, BAKIR-EDTA KOMPLEKSLERİNDE BAKIRIN FARKLI DOKULARDA BİRİKİMİ, ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDANTLAR VE DETOKSİFİKASYON ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİLERİ

Gülbin GÖK

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Ferit KARGIN
Yıl: 2012, Sayfa 219
Jüri : Prof. Dr. Ferit KARGIN
: Prof. Dr. İskender EMRE
: Prof. Dr. Seyhan TÜKEL
: Prof. Dr. Bedii CİCİK
: Doç. Dr. Fatma ÇEVİK

Bu araştırmada Cu, Cu+EDTA ve Cu+Ca karışımlarına bırakılan *Oreochromis niloticus*'da bakırın dokularda birikimi ile enzimatik olmayan antioksidantlar ve detoksifikasyon enzim aktiviteleri üzerine etkisi incelenmiştir. Balıklar 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L Cu ve 0.1 mg/L Cu+1.0 mg/L Ca, 0.5 mg/L Cu+5.0 mg/L Ca, 1.0 mg/L Cu+10.0 mg/L Ca ve 0.1 mg/L Cu+0.3 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu+1.5 mg/L EDTA ve 1.0 mg/L Cu+3.0 mg/L EDTA karışımlarına 7, 14 ve 28 günlük sürelerle bırakılarak dokularında bakır birikimi ve enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

Bu çalışmada 7, 14 ve 28 günlük sürelerle doğrudan bakırın etkisine bırakılan balıkların dokularında yüksek düzeyde bakır birikmiştir. Ortamdaki Cu+EDTA ve Cu+Ca derişimlerinin etkisine bırakılan balıkların dokularında bakır birikimi, yalnız Cu'nun etkisine bırakılan balıklara oranla daha düşük olduğu bulunmuştur.

O. niloticus'da Cu, Cu+EDTA ve Cu+Ca karışımı dokularda enzimatik olmayan antioksidantlar (total glutatyon (tGSH), bilirubin, albumin, transferrin, hemoglobin, haptoglobin, glukoz, ürik asit) ve detoksifikasyon enzimlerinden asetilkolinesteraz (AChE), glutatyon S-transferaz (GST) aktivitelerinde değişikliğe neden olmuştur.

Denenen tüm ortam derişimlerinde, bakırın etkisinde AChE aktivitesi karaciğer ve böbrek dokusunda azalmış, solungaç ve beyin dokusunda ise artış göstermiştir. *O.niloticus*'da denenen tüm ortam derişimlerinde bakır, karaciğer ve solungaç dokusu GST aktivitesini artırmış, böbrek ve beyin dokusu GST aktivitesini ise düşürmüştür. Bakırın etkisine bırakılan balıklarda GSH düzeyi, karaciğer, böbrek ve solungaç dokusunda artmış beyin dokusunda ise azalmıştır. Cu, Cu+EDTA ve Cu+Ca karışımlarının etkisindeki balıkların kan dokusunda bilirubin, albumin, transferrin, hemoglobin, glukoz ve ürik asit düzeylerinde bir artış, haptoglobin düzeylerinde bir azalma gerçekleşmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bakır, Birikim, Balık, Enzimatik Olmayan Antioksidantlar, Detoksifikasyon Enzimleri

ABSTRACT

PhD THESIS

ACCUMULATION AND EFFECTS OF COPPER ON DETOXIFICATION ENZYME ACTIVITIES AND NONENZYME ANTIOXIDANTS IN VARIOUS TISSUES OF *OREOCHROMIS NILOTICUS* EXPOSED TO COPPER, COPPER-CALCIUM AND COPPER-EDTA COMPLEX

Gülbin GÖK

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Supervisor: Prof. Dr. Ferit KARGIN
Year: 2012, Pages 219
Jury : Prof. Dr.Ferit KARGIN
: Prof. Dr. İskender EMRE
: Prof. Dr. Seyhan TÜKEL
: Prof. Dr. Bedii CİCİK
: Assoc. Prof. Dr. Fatma ÇEVİK

In this study, effects of copper on detoxification enzyme activities and nonenzymatic antioxidants and accumulation in tissues of *Oreochromis niloticus* were investigated in Cu, Cu+EDTA and Cu+Ca mixtures. Fish were exposed to 0.1, 0.5 and 1.0 mg/L Cu and 0.1 mg/L Cu+1.0 mg/L Ca, 0.5 mg/L Cu+5.0 mg/L Ca, 1.0 mg/L Cu+10.0 mg/L Ca and 0.1 mg/L Cu+0.3 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu+1.5 mg/L EDTA and 1.0 mg/L Cu+3.0 mg/L EDTA mixtures for 7, 14 and 28 days to observe copper accumulation and enzyme activities in tissues.

Copper accumulated significantly in all the tissues after exposure to copper for 7, 14 and 28 days. Copper accumulation in the tissues of fish exposed to Cu+EDTA and Cu+Ca mixtures were lower when compared to those exposed to copper only.

In tissues of *O. niloticus*, nonenzymatic antioxidants (total glutathione (tGSH), bilirubin, albumin, transferrin, hemoglobin, haptoglobin, glucose, uric acid) and detoxification enzyme activities like acetylcholinesterase (AChE), glutathione S-transferase (GST) were altered by exposure Cu, Cu+EDTA and Cu+Ca mixtures.

In all the concentrations tested, copper caused a decrease in AChE activity in the liver and kidney while it caused an increase in gill and brain tissues. In all concentrations of tested copper caused an increase GST activity in liver and gill and a decrease in brain and kidney tissues of *O. niloticus*. GSH levels increased in liver, kidney and gill tissues and decreased significantly in brain of the Cu exposed of fish. Cu and Cu+EDTA, Cu+Ca mixtures caused an increase in the levels of bilirubin, albumin, transferrin, hemoglobin, glucose, uric acid and a decrease haptoglobin in blood tissue of exposed fish.

Key Words: Copper, Accumulation, Fish, Nonenzymatic Antioxidants, Detoxification Enzyme.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve Doktora tez çalışmalarımın her aşamasında bilimsel desteğini ve öngörülerini benden hiçbir zaman esirgemeyen ve akademik çalışmalarımda sürekli yardımcı olan, değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Ferit KARGIN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım sırasında laboratuar olanaklarından ve bilgilerinden yararlandığım Prof. Dr. İskender EMRE'ye teşekkürü bir borç bilirim. Deneylerdeki katkıları için Yard. Doç. Dr. Hikmet Yeter ÇOĞUN'a, Öğr. Gör. Dr. Tüzin AYTEKİN YÜZEREROĞLU'na ve Biyoloji bölümü laboratuar sorumlusu Mustafa TOMAK'a teşekkür ederim.

Bu güne kadar bana her türlü desteği sağlayan ve kararlarımda hep yanımda olan annem Emine GÖK, babam Tahsin GÖK ve ablalarım Şule TÜDEŞ ve Gökben GÖK TÜFEKÇİ'ye teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca tez çalışmam boyunca hep yanımda olan, yaşamımdaki anlamlı varlığı ile bana sürekli destek olan sevgili eşim ve değerli meslektaşım Yard. Doç. Dr. Beran FİRİDİN'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ. I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR III
İÇİNDEKİLER IV
ÇİZELGELER DİZİNİ VI
ŞEKİLLER DİZİNİ XII
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 15
3. MATERYAL VE METOD 25
3.1. Kimyasal Maddeler 27
3.2. Cihazlar 28
3.4. Dokularda İncelenecek Enzimlerin Analiz Yöntemleri 29
3.4.1. Asetilkolinesteraz Yöntemi 29
3.4.2. Glutatyon S-Transferaz Yöntemi 31
3.5.Total Glutatyon Yöntemi 32
3.6. Malondialdehid Yöntemi 33
3.7. Protein Yöntemi 35
4. BULGULAR 37
4.1. Bakır Birikimi 37
4.2. Cu ve Cu – Ca, Cu – EDTA Karışımlarının Detoksifikasyon Enzim Aktivitelerine Etkileri 63
4.2.1. Karaciğer Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi 63
4.2.2. Karaciğer Dokusunda Glutatyon S-Transferaz Aktivitesi 68
4.2.3. Böbrek Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi 73
4.2.4. Böbrek Dokusunda Glutatyon S-Transferaz Aktivitesi 78
4.2.5. Solungaç Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi 83
4.2.6. Solungaç Dokusunda Glutatyon S-Transferaz Aktivitesi 88
4.2.7. Beyin Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi 93
4.2.8. Beyin Dokusunda Glutatyon S-Transferaz Aktivitesi 98

4.3. Cu ve Cu – Ca, Cu – EDTA Karışımlarının Enzimatik Olmayan Antioksidantlar Üzerine Etkileri 103
4.3.1. Glutatyon Düzeyi 103
4.3.1.1. Karaciğer Dokusu Glutatyon Düzeyi 103
4.3.1.2. Böbrek Dokusu Glutatyon Düzeyi 108
4.3.1.3. Solungaç Dokusu Glutatyon Düzeyi 113
4.3.1.4. Beyin Dokusu Glutatyon Düzeyi 118
4.3.2. Albumin Düzeyi 123
4.3.3. Bilirubin Düzeyi 127
4.3.4. Transferrin Düzeyi 132
4.3.5. Haptoglobin Düzeyi 137
4.3.6. Hemoglobin Düzeyi 141
4.3.7. Glukoz Düzeyi 146
4.3.8. Ürik Asit Düzeyi 150
4.4. Cu ve Cu – Ca, Cu – EDTA Karışımlarının Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkileri 155
4.4.1. Karaciğer Dokusu Malondialdehit Düzeyi 155
4.4.2. Böbrek Dokusu Malondialdehit Düzeyi 159
4.4.3. Solungaç Dokusu Malondialdehit Düzeyi 164
4.4.4. Beyin Dokusu Malondialdehit Düzeyi 168
5. TARTIŞMA 173
KAYNAKLAR 199
ÖZGEÇMİŞ 219

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 3.1 Asetilkolinesteraz yöntemi 30
Çizelge 3.2 Glutatyon S-Transferaz Yöntemi 31
Çizelge 3.3 Total Glutatyon Yöntemi 33
Çizelge 3.4 Malondialdehid Yöntemi 34
Çizelge 3.5 Lowry Yöntemi ile Protein Tayini 36
Çizelge 4.1. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde 7. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.) 39
Çizelge 4.2. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde14. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.) 40
Çizelge 4.3. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde 28. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.) 41
Çizelge 4.4. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde 7. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.) 42
Çizelge 4.5. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde 14. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.) 43
Çizelge 4.6. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde 28. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.) 44
Çizelge 4.7. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde 7. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.) 45
Çizelge 4.8. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde 14. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.) 46
Çizelge 4.9. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde 28. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.) 47
Çizelge 4.10. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde kan dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg/mL kan) 58
Çizelge 4.11. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde kan dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg/mL kan) 59
Çizelge 4.12. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde kan dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg/mL kan) 59

Çizelge 4.13. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 61
Çizelge 4.14. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 62
Çizelge 4.15. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 63
Çizelge 4.16. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 66
Çizelge 4.17. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 67
Çizelge 4.18. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 67
Çizelge 4.19. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 70
Çizelge 4.20. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 71
Çizelge 4.21. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 71
Çizelge 4.22. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 74
Çizelge 4.23. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 75
Çizelge 4.24. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 75
Çizelge 4.25. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 78
Çizelge 4.26. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 79
Çizelge 4.27. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 79

Çizelge 4.28. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 82
Çizelge 4.29. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 83
Çizelge 4.30. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 83
Çizelge 4.31. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde beyin AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 86
Çizelge 4.32. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde beyin AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 87
Çizelge 4.33. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde beyin AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 87
Çizelge 4.34. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 90
Çizelge 4.35. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 91
Çizelge 4.36. *O. niloticus*'ta 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 91
Çizelge 4.37. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 94
Çizelge 4.38. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 95
Çizelge 4.39. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 96
Çizelge 4.40. *O. niloticus*'da 0.1 mg Cu/L ortam derişiminde böbrek GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 99
Çizelge 4.41. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 99
Çizelge 4.42. *O. niloticus*'da mg/L Cu ortam derişiminde böbrek GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 100

Çizelge 4.43. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GSH miktarı (µM /mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 103
Çizelge 4.44. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 103
Çizelge 4.45. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 104
Çizelge 4.46. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 107
Çizelge 4.47. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 107
Çizelge 4.48. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 108
Çizelge 4.49. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde albumin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 111
Çizelge 4.50. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde albumin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 111
Çizelge 4.51. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde albumin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 112
Çizelge 4.52. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde bilirubin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 115
Çizelge 4.53. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde bilirubin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 115
Çizelge 4.54. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde bilirubin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 116
Çizelge 4.55. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde transferin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 119
Çizelge 4.56. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde transferin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 119
Çizelge 4.57. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde transferin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi..... 120

Çizelge 4.58. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde haptoglobin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 123
Çizelge 4.59. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde haptoglobin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 123
Çizelge 4.60. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde haptoglobin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 124
Çizelge 4.61. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde hemoglobin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 127
Çizelge 4.62. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde hemoglobin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 127
Çizelge 4.63. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde hemoglobin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 128
Çizelge 4.64. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde glukoz düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 131
Çizelge 4.65. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde glukoz düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 131
Çizelge 4.66. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde glukoz düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 132
Çizelge 4.67. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde ürik asit düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 135
Çizelge 4.68. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde ürik asit düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 135
Çizelge 4.69. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde ürik asit düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 136
Çizelge 4.70. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 139
Çizelge 4.71. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 140
Çizelge 4.73. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 143

Çizelge 4.74. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 144
Çizelge 4.75. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 145
Çizelge 4.76. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 148
Çizelge 4.77. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 148
Çizelge 4.78. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 149
Çizelge 4.79. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde beyin MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 152
Çizelge 4.80. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde beyin MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 152
Çizelge 4.81. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde beyin MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi 153

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 4.1. Cu derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki…….38
Şekil 4.2. *O. niloticus*'da beyin dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimleri ve sürenin etkisi (A: 0.1 mg/L Cu, B: 0.5 mg/L Cu, C: 1.0 mg/LCu). …….....49
Şekil 4.3. *O. niloticus*'da kas dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimleri ve sürenin etkisi (A: 0.1 mg/L Cu, B: 0.5 mg/L Cu, C:1.0 mg/LCu). …….……51
Şekil 4.4. *O. niloticus*'da solungaç dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimleri ve sürenin etkisi (A: 0.1 mg/L Cu, B: 0.5 mg/L Cu, C: 1.0 mg/LCu). ……...…….53
Şekil 4.5. *O. niloticus*'da böbrek dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimleri ve sürenin etkisi (A: 0.1 mg/L Cu, B: 0.5 mg/L Cu, C: 1.0 mg/LCu). ……...…….55
Şekil 4.6. *O. niloticus*'da karaciğer dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimleri ve sürenin etkisi (A: 0.1 mg/L Cu, B: 0.5 mg/L Cu,C: 1.0 mg/LCu). …….……57
Şekil 4.7. 7. günde *O. niloticus*'da kan dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimlerinin etkisi……..…….....60
Şekil 4.8. 14. günde *O. niloticus*'da kan dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimlerinin etkisi……..……...…….60
Şekil 4.9. 28. günde *O. niloticus*'da kan dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimlerinin etkisi……....…….60
Şekil 4.10. 7. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam etkisi…….….64
Şekil 4.11. 14. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……..……64

Şekil 4.12. 28. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……65
Şekil 4.13. 7. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……68
Şekil 4.14. 14. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……69
Şekil 4.15. 28. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……69
Şekil 4.16. 7. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……72
Şekil 4.17. 14. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……73
Şekil 4.18. 28. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……73
Şekil 4.19. 7. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi…….. 76
Şekil 4.20. 14. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……77
Şekil 4.21. 28. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……77

Şekil 4.22. 7. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi…….....80
Şekil 4.23. 14. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …….……....81
Şekil 4.24. 28. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …….81
Şekil 4.25. 7. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …….....84
Şekil 4.26. 14. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……...……..85
Şekil 4.27. 28. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …….....85
Şekil 4.28. 7. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …….....88
Şekil 4.29. 14. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …….....89
Şekil 4.30. 28. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …….……....89
Şekil 4.31. 7. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …….……..…92

Şekil 4.32. 14. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi…….…...93
Şekil 4.33. 28. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi….....…93
Şekil 4.34. 7. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.....96
Şekil 4.35. 14. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …..…97
Şekil 4.36. 28. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …….98
Şekil 4.37. 7. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi 101
Şekil 4.38. 14. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …….101
Şekil 4.39. 28. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …….102
Şekil 4.40. 7. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……105
Şekil 4.41. 14. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi…...…105
Şekil 4.42. 28. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …..…106
Şekil 4.43. 7. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……..109
Şekil 4.44. 14. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……109
Şekil 4.45. 28. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi…….....110

Şekil 4.46. 7. günde *O. niloticus*'un albumin düzeyi üzerine
Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……..…..…..113
Şekil 4.47. 14. günde *O. niloticus*'un albumin düzeyi üzerine
Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……..…..113
Şekil 4.48. 28. günde *O. niloticus*'un albumin düzeyi üzerine
Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……..……..114
Şekil 4.49. 7. günde *O. niloticus*'un bilirubin düzeyi üzerine
Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……..……..117
Şekil 4.50. 14. günde *O. niloticus*'un bilirubin düzeyi üzerine
Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……..……..117
Şekil 4.51. 28. günde *O. niloticus*'un bilirubin düzeyi üzerine
Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……..…….118
Şekil 4.52. 7. günde *O. niloticus*'un transferrin düzeyi üzerine
Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……..…..121
Şekil 4.53. 14. günde *O. niloticus*'un transferrin düzeyi üzerine
Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……..…..121
Şekil 4.54. 28. günde *O. niloticus*'un transferrin düzeyi üzerine
Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……..……122
Şekil 4.55. 7. günde *O. niloticus*'un haptoglobin düzeyi üzerine
Cu, Cu +EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……..……..125
Şekil 4.56. 14. günde *O. niloticus*'un haptoglobin düzeyi üzerine
Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi …..…….....125
Şekil 4.57. 28. günde *O. niloticus*'un haptoglobin düzeyi üzerine
Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……..…..126
Şekil 4.58. 7. günde *O. niloticus*'un hemoglobin düzeyi üzerine
Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……..…..129
Şekil 4.59. 14. günde *O. niloticus*'un hemoglobin düzeyi üzerine
Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……..…….....129
Şekil 4.60. 28. günde *O. niloticus*'un hemoglobin düzeyi üzerine
Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……..…..130

Şekil 4.61. 7. günde *O. niloticus*'un glukoz düzeyi üzerine
Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……..…..133
Şekil 4.62. 14. günde *O. niloticus*'un glukoz düzeyi üzerine
Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……..……..133
Şekil 4.63. 28. günde *O. niloticus*'un glukoz düzeyi üzerine
Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……..…..134
Şekil 4.64. 7. günde *O. niloticus*'un ürik asit düzeyi üzerine
Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……137
Şekil 4.65. 14. günde *O. niloticus*'un ürik asit düzeyi üzerine
Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi ……..……..137
Şekil 4.66. 28. günde *O. niloticus*'un ürik asit düzeyi üzerine
Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……..……..138
Şekil 4.67. 7. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.....141
Şekil 4.68. 14. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi…..…..142
Şekil 4.69. 28. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……....142
Şekil 4.70. 7. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……....145
Şekil 4.71. 14. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……....146
Şekil 4.72. 28. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu+EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……....147
Şekil 4.73. 7. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi…….....150
Şekil 4.74. 14. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi……..150
Şekil 4.75. 28. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi…….....151

Şekil 4.76. 7. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi…….154
Şekil 4.77. 14. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi…….154
Şekil 4.78. 28. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda MDA düzeyi
üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.....155

1. GİRİŞ

Gelişen teknolojinin yaşamımıza getirdiği refahla birlikte çevreye verdiği kirliliğin boyutu her geçen gün hızla artmaktadır. Sanayileşme ve kentlerdeki nüfus yoğunlukları, çevre sorunlarının artmasına sebep olmuştur. Bütün ülkelerin ortak sorunu haline gelen çevre kirlenmesi, günümüzde ekolojik dengeyi bozarak insan sağlığını tehdit eder boyutlara ulaşmıştır. Akuatik ortam atık sular için alıcı ortamları oluşturduğundan biyosferde en fazla kirlenen bölge olmuştur. İnsan için en önemli protein kaynağı olan balıklar da çevre kirlenmesinden en çok etkilenen canlıların başında gelmektedir.

Madencilik faaliyetleri, asit yağmurları, evsel atık, gübre ve pestisitlerin çevreye yayılması, erozyonla taşınan kaya parçaları, volkanik aktiviteler ve ağır metaller, akuatik ekosistemlerin kirlenmesine sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalarla metallerin akuatik organizmalar ve özellikle balık türleri için toksik olduğu saptanmıştır (Mance, 1987; Nriagu, 1988; Betoulle ve ark., 2002).

Ağır metaller, dış yörüngelerinde benzer elektronik dağılıma sahip, genelde molekül ağırlıkları 63.546-200.590 arasında olan yoğunluğu 5 g/cm^3'den büyük olan Zn, Cu, Ar, Fe, Pb, Hg, Cd, Ag gibi metalleri kapsayan ve yer kabuğunda doğal olarak bulunan bir grup elementi içermektedir. Bu metaller sucul ortamların doğal bileşenleridir ve derişimlerindeki artış sonucu yüksek düzeylerde kirliliğe neden olurlar. Cu, Zn, Fe, Mn, Se gibi ağır metaller organizmaların normal gelişimleri ve biyolojik aktivitelerini sürdürebilmeleri için eser miktarda gerekmektedirler. Bu metallerden biri veya daha fazlası vücut hücrelerinde yüksek derişimlere ulaştığında hem balıklar hem de memelilerde fizyolojik işlevlerde değişiklikler oluşturmaktadır. Cd, Hg ve Pb gibi diğer metallerin herhangi bir biyolojik fonksiyonları yoktur ve eser miktarda bile toksiktirler (Johnson, 1988).

Ağır metaller, iyon halinde veya kompleks formları suda çözünebildiklerinden ve organizmalar tarafından kolayca absorbe edilebildiklerinden dolayı oldukça toksik maddelerdir. Besin zinciri yoluyla artan derişimlerde, bir organizmadan diğerine geçerek fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda bozukluklara neden olmaktadır (Levesque ve ark., 2002). Metaller akuatik ortamlardaki

organizmaların enzimlerine ve fonksiyonel proteinler ile nükleikasitler gibi hücre makromoleküllerine bağlanarak hücrelerin fonksiyonlarını etkilemektedirler (Sen ve Semiz, 2007).

Canlılar için temel bir element olan Cu periyodik tablonun I B grubunda yer almaktadır. Cu serbest veya kompleks formda divalent katyon olarak organizmaların dokularında bulunabilmekte ve 2 değerlikten 1 değerliğe değişebilmektedir. Bundan dolayı biyolojik olaylar için önem teşkil etmektedir (Viarengo, 1989).

Cu özellikle elektrik endüstrisinde, kimya sanayinde, boya ve ahşap koruyucuların yapımında ve algisid, fungisid üretiminde kullanılmaktadır. Cu yaşam için gerekli bir element olmasına rağmen, yüksek derişimlerde toksik özellik gösteren metallerin başında gelmektedir (Dueck ve ark., 1987).

Cu, tüm organizmalar için eser miktarda gerekli bir metal olup hücre metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Büyüme, gelişme ve onarım gibi biyolojik prosesleri içeren çeşitli enzimlerin yapısında kofaktör olarak bulunmaktadır (Turnlund, 1999). Cu'nun ayrıca, stres proteini gibi bazı proteinlerin fonksiyonları için önemli bir metal olduğu belirtilmiştir (Camakaris ve ark., 1999).

Cu'nun yüksek derişimleri tatlı su organizmalarında toksisiteye neden olmaktadır. Cu toksisitesinin suyun kimyasal ve fiziksel özelliği ile balık türlerine göre değişebileceği belirtilmiştir (Sanchez ve ark., 2005).

Hücresel düzeyde Cu çeşitli metabolik yollara zarar verebilmekte ve bunun sonucunda çeşitli hücresel tepkileri indükleyebilmektedir. Cu, Haber-Weiss reaksiyonu yoluyla oluşan $HO^{\cdot}$ radikali ile (Mates, 2000) membranlarda lipid peroksidasyonunu oluşturarak ve (Chan ve ark., 1982) reaktif oksijen türlerinin oluşumunu katalize ederek oksidatif stresin oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca Cu balıkların immünolojik durumunu da etkileyebilmekte (Zelikoff, 1993) ve iyon regülasyonunda görev yapan karbonik anhidraz enzimini inhibe ettiği belirlenmiştir (Hogstrand ve ark., 1995).

Balıklar tarafından ağır metallerin ortamdan alınımı su, besin, solungaçlar ve tüm vücut yüzeyinden absorbsiyon yolu ile olmaktadır (Hardersen ve Wratten, 1998). Ayrıca, organizmalar solungaçlarda bulunan Ca kanallarıyla da ağır metalleri

alabilmektedirler. Cd, Zn, Pb, Cu ve Mn gibi bir çok metalin balıklarda Ca kanallarıyla taşındığı belirtilmiştir (Baldisserotto ve ark., 2004a).

Balıklar tarafından metallerin alınmasında en önemli yol solungaçlardan absorbsiyondur. Geniş yüzey alanına sahip olan solungaçlar, dış ortamla doğrudan temas etmesinden dolayı ağır metallerin ilk biriktiği hedef organlardır. Metallerin solungaç aracılığı ile alınımı basit difüzyon yoluyla olmaktadır. Balıklarda solunum için alınan suda çözünmüş veya askıda bulunan materyalleri de solungaçlar yoluyla alırlar. Bu sırada suda bulunan ağır metaller de solungaçlardaki lameller tarafından vücut içerisine alınır. Ağır metallerin vücut yüzeyinden alınması ise oldukça azdır (Amundsen ve ark., 1997).

Balıkların doku ve organlarında ağır metal birikimi süreye ve ortamdaki konsantrasyon artışına bağlı olarak artmaktadır. Balıklarda belirli bir metalin hangi doku ve organda yüksek düzeyde birikebileceği türlere göre değişim göstermektedir. Genelde en yüksek birikim karaciğer ve böbreklerde, en düşük birikim ise kas dokusunda görülmektedir (Kargın ve Erdem, 1992).

Su sertliği, alkalinite, pH, sıcaklık ve çözünmüş oksijen akuatik organizmalarda ağır metal toksisitesini ve birikimini etkilemektedir (Erickson ve ark., 1996; Schubauer-Berigan ve ark., 1993; Mazon ve Fernandes., 1999). Ayrıca organizmanın gelişme evresi, yaş, ağırlık, metabolik aktivite, besin, üreme gibi biyotik faktörler de metal toksisitesinde önemli rol almaktadır (Heath, 1987; Romeo ve ark., 1999).

Akuatik organizmalarda Ca yapısal, elektiriksel, ekstraselüler protein ve enzimlerde kofaktör olarak ve intraselüler regülasyonda önemli biyolojik işlevleri olan bir iyondur (Hunn, 1985). Balıklar Ca'yı solungaç ve bağırsaklardan almaktadırlar. Solungaçlar, bol miktarda iyon taşıyıcı hücreleri veya klorid hücrelerini içermektedirler (Flik ve Verbost; 1993). Solungaçların klorid hücreleri, Ca alınımında temel bölgelerdir (Payan ve ark., 1981). Tatlı su balıklarında Ca ortamdan difüzyonla klorid hücrelerine alınmakta ve bazolateral plazma membranı boyunca yerleşen Ca-ATPaz tarafından hücreler arası sıvıya pompalanmaktadır (Sauer ve Watabe, 1988).

Yapılan çalışmalarda Ca'nın Cu toksisitesini azaltmada önemli etkisinin olduğu belirtilmiştir (Sawyer ve ark., 1989). *Oncorhynchus mykiss'*de Ca'nın, balıkları Cu toksisitesinden koruduğu saptanmıştır (Miller ve Mackay, 1980). Su sertliğinin temel bileşenini oluşturan yüksek Ca derişimleri solungaçlarda Ca kanallarında Cu ile rekabeti sonucu Cu alınımını azaltır ve toksisiteyi düşürür. (Pagenkopf,1983).

Sentetik kompleksanlar (EDTA (etilendiamin tetraasetik asit), NTA (nitrilotriasetik asit)) metaller için şelat ajan olmaları nedeniyle endüstrinin tüm alanlarında geniş bir şekilde kullanılmaktadır. EDTA'nın yer altı sularında ve toprakta biyolojik parçalanabilirliği düşüktür ve ağır metallerle karşılaştırıldığında yüksek düzeyde bileşik oluşturma kapasitesine sahiptir (Martinez, 2000).

Şelatlaştırıcılar (kompleksleştiriciler) metal zehirlenmesini kontrol altına alma ve tedavide oldukça etkili maddelerdir ve yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Gopal ve ark., 2009).

EDTA gibi kompleksleştirici ajanlar metal iyonlarını bağlayarak etkisiz hale getirebilmektedirler. Şelat ajanları, hem biyolojik hem de kimyasal proseslerde metal iyonlarının çözünebilmesinde ve transportunda kullanılmaktadırlar. Klorofil, hemoglobin ve hemosiyanin doğal şelatlaştırıcılara örnek olarak verilebilir (Knepper 2003).

Genellikle EDTA'nın bulunduğu ortamlarda metallerin organizmalar üzerine yaptığı toksik etkilerin oldukça azaldığı saptanmıştır (Holwerda ve ark., 1988). Farklı balık türleri ile yapılan çalışmalarda EDTA'nın dokularda metal birikimini oldukça azalttığı belirtilmiştir (Muramoto, 1982; Kargın, 1996).

Karaciğer, zararlı organik bileşiklerin biyotransformasyonları ve ağır metallerin alıkonması için birincil hedef organdır. Bu zararlı bileşikler karaciğerde yüksek derişimlerde birikebilmektedirler. Bu yüzden karaciğer hücreleri çevreden ve diğer dokulardan çok daha fazla zararlı kimyasalların etkisinde kalırlar (Heath, 1995).

Balıklarda karaciğer, Cu depolamada temel organ olarak bilinmektedir (Toth ve ark., 1996; Perkins ve ark., 1997). Karaciğer metabolizmasında metallerin çok önemli etkisinin olduğu araştırıcılar tarafından belirtilmiştir (Viarengo, 1985; Grosell

ve ark., 1998). Metaller karaciğer enzim aktivitelerini ya azaltmakta ya da artırmaktadırlar (örneğin, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GP_x), glutatyon redüktaz (GR)) (Radi ve Matkovics, 1988; Rodriguez-Ariza ve ark., 1993; Furuno ve ark., 1996; De Boeck ve ark., 1997; Toth ve ark., 1996; Shimizu ve ark., 1997).

Laboratuar ve doğal çalışmalarda balık karaciğerinde biyokimyasal, fizyolojik ve histolojik değişikliklerin çalışılması, kirleticilerin balıklar üzerindeki etkisinin çevresel değerlendirilmesinde büyük öneme sahiptir (Hinton ve Lauren, 1990).

Metallerin vücut dışına çıkarılmasında böbreklerin çok önemli işlevi vardır. Böbrekler vücuttan toksik maddelerin çıkarılmasını sağlayan kompleks filtreler olarak kabul edilebilir. Böbrekler nefron denilen milyonlarca salgı birimi içerir ve özellikle böbrekte toksik etkilere neden olur. Cd, Pb ve Hg nefrotoksik kimyasalların örnekleridir. Metaller tümörler oluşturarak böbreklere zarar vermektedir (Masters, 1991).

Beyin tüm omurgalılarda sinir sisteminin merkezidir. Özellikle serbest radikallerin saldırısına karşı savunmasız olan beyin dokuları çok miktarda doymamış yağ asitleri içermektedir (Sahin ve Gumuslu, 2004).

Oksidatif stres; vücudun antioksidant savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilmektedir (Mercan, 2004).

Ağır metalllerin etkisinde uzun süre kalan organizmalarda metaller oksidatif strese neden olabilirler (Abdollahi ve ark. 2003). Oksidatif stres ve oksidatif hasarın, spesifik kanser, kardiovasküler hastalıklar ve çeşitli nörodejeneretif hastalıklarda önemli bir rol aldığı düşünülmektedir (Gate ve ark., 1999). Oksidatif stres enzimatik antioksidant savunma sistemi ile önlenebilmektedir (Cnubben ve ark., 2001).

Serbest radikaller; bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve etkileri yüksek olan moleküllerdir (Sinclair ve ark., 1990; Yagi 1994). Hücrelerde metabolik prosesler sonucu (örneğin oksijenli solunumda) açığa çıkarlar. Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik

oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptirler (Cochranc, 1991).

Aerobik hücrelerde açığa çıkan en önemli serbest radikaller moleküler oksijen ile onun reaktif türleri (süper oksit anyonu ve hidroksil radikali), peroksitler ve geçiş metalleridir. Hücreler serbest radikallerin oluşumlarını önlemek ve zararlı etkilerini yok edebilmek için bir grup antioksidant savunma mekanizması içermektedirler. Çünkü reaktif serbest radikaller çeşitli biyomolekülleri oksitleyerek hücre ve doku harabiyetleri ile ölümlerine neden olmaktadırlar (Zwart ve ark., 1999).

Elektron transport zincirinden elektron kaybının bir sonucu olarak reaktif oksijen türleri (ROS) oluşur ve oksidasyon reaksiyonları ksantin oksidaz, sitokrom P450 redüktaz, glukoz oksidaz gibi enzimler tarafından katalizlenirler (Winston ve Di Giulio, 1991; Kelly ve ve ark., 1998).

ROS oksidatif fosforilasyon/mitokondrial elektron transportu gibi prosesler yoluyla sürekli olarak hücrelerde üretilirler. Hücreler sürekli olarak metabolik fonksiyonlarını yerine getirdiklerinde süperoksit ($O_2^{-\cdot}$), hidroksil radikal ($OH^{\cdot}$) ve peroksil radikal ($ROO^{\cdot}$) gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olurlar. Reaktif oksijen türleri hücrenin en önemli biyomolekülleri olan lipidleri, proteinleri, nükleik asitleri ve karbohidratları etkileyerek ciddi hasarlara neden olmaktadırlar (Urani ve ark. 1998). Ayrıca travma, felç, enfeksiyon, stres ve yaşlanma gibi durumlarda önemli rol oynamaktadır (Bray, 2000; Schulz ve ark., 2000).

ROS SOD, CAT, selenyum bağımlı GPx gibi antioksidan savunma sistemi veya GSH ve metalotionein gibi enzimatik olmayan sistemler tarafından detoksifiye edilebilmektedir. Redoks döngüsü kimyasalları (örneğin kuinonlar, nitroaromatikler, bifeniller) (Winston ve Di Giulio, 1991); geçiş metalleri (Stohs ve Bagchi, 1995) ve diğer bileşikler reaktif oksijen türlerinin üretiminde artışa sebep olabilmektedir. Aşırı ROS üretimini detoksifiye etmede antioksidant savunmadaki yetersizlik genelde oksidatif hasara ve oksidatif strese yol açabilmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

ROS protein, lipid ve DNA'yı içeren tüm hücresel makromolekülleri değiştirebilmektedir. Proteinler üzerindeki etkileri peptid bağlarının kopmasına, aminoasit residülerinin değişmelerine, sülfidril grupların kopmasına, peptidlerin

lipidlerle ve karbonhidrat oksidasyon ürünleriyle reaksiyonlarına, proteinlerin karbonil türevlerinin oluşumlarına neden olmaktadır (Stadtman, 1993). Oksidatif hasar sonucu proteinlerin yapısında bozulmaya ve metabolizmada işlev bozukluğuna yol açtığı belirtilmiştir (Szweda ve Stadtman, 1992; Cabiscol ve Levine, 1995).

Balıklarda biriken ağır metaller, özellikle başta ROS'lar olmak üzere serbest radikalleri üreterek redoks reaksiyonlarına yol açabilirler. Oldukça reaktif olan bu bileşikler doku hasarına neden olmakta ve balıkların bazı fizyolojik parametrelerini değiştirebilmektedir (Varanka ve ark., 2001). Bununla birlikte akuatik organizmalar, kendilerini oksiradikal ürünlerin zararına karşı korumak için savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Winston ve Di Giulio 1991). Hem enzimatik hem de enzimatik olmayan prosesler ROS'un etkisini azaltmaya katkıda bulunmaktadırlar (Lopez - Torres ve ark., 1993). Faz I ve Faz II biyotransformasyon enzimleri, CAT, SOD, GST, GR gibi antioksidant enzimler ROS üretimine karşı bir tepki olarak indüklenmektedirler (Filho, 1996).

Akuatik organizmalar özellikle sahil kenarında kimyasal kirleticilerin kompleks karışımlarına maruz kalmaktadırlar. Kimyasal kirleticilerin çeşitliliği ve değişkenliğinden dolayı organizmaların mekanizmaları da önemli değişkenlik ve adaptasyon göstermektedir. Organizmalar metalik ya da organik bileşiklerin toksik etkilerinden kendilerini korumak için hücresel düzeyde stratejiler geliştirmişlerdir. Bunlardan antioksidant savunma sistemi, spesifik proteinlere bağlanarak ayrılma ve kirliliğe dirençli proteinler tarafından atılmayı içeren detoksifikasyon prosesleri en önemlileridir (Manduzio ve ark., 2004).

Biyolojik antioksidantlar yapılarıyla serbest radikallerin oluşumunu önleyebilen, oksijen türlerini aktive edebilen veya onların reaksiyonlarını inhibe edebilen doğal moleküllerdir. Serbest radikallerin çoğunun yıkımı ve oksijen türlerinin aktive edilmesi başlıca molekülleri indirgeyen ve temizleyen endojen antioksidantların oksidasyonuna dayanmaktadır (Chaudiere ve Ferrari-Ilıou, 1999). Bazı organizmalar hücre içeriğine karşı oksidatif hasarı azaltmak için antioksidant savunma geliştirmişlerdir (Livingstone, 2001). Antioksidantlar hem doğrudan hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri korumaktadırlar (Mercan, 2004).

Vitaminler, flavonoidler, karetonoidler, ürik asit ve glutatyon (GSH) gibi antioksidant bileşikleri ikinci bir savunma yolu sağlarlar (Gate ve ark., 1999). GSH ve GSH ile ilgili prosesler serbest radikallerin temizlenmesinde, peroksitlerin redüksiyonunda, elektrofilik bileşiklerin daha az toksik ve daha hidrofilik tioeter bileşiklerine dönüştürülmesinde, hücresel redoks durumunun değişmesinde, ATP bağımlı transport proteinlerin etkisinde, hücre sinyal ve onarım yollarının düzenlenmesi gibi çeşitli proseslere katkıda bulunarak bu ikinci savunma sisteminde önemli bir rol oynarlar (Sen ve Packer, 1996; Palmer ve Paulson, 1997; McLellan ve Wolf, 1999).

Antioksidantlar doğrudan ve dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların ve kanserojenlerin istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Albumin, transferrin, ferritin, metallothionein ve seruloplazmin antioksidant proteinlerdir. Karotenoidler, vitamin E, askorbat, redükte glutatyon (GSH) ise protein olmayan antioksidantlardır (Ahmad, 1995).

Antioksidant enzimler hücre homeostasisinin sürdürülmesinde önemli bir rol oynamaktadırlar (Zhang ve ark, 2004) ve çeşitli deniz organizmalarında kirleticinin neden olduğu oksidatif stresin biyomarkırları olarak ileri sürülmektedir ve enzimlerin indüksiyonu, kirleticilere karşı spesifik tepkiyi yansıtmaktadır (Cossu ve ark., 1997). Eğer bu enzimler inhibe edilirse toksisite ortaya çıkabilmektedir. Glutatyon bağımlı enzimler ve diğer antioksidant enzimlerin balıklarda oksidatif stres için markır olduğu bazı araştırıcılar tarafından belirlenmiştir (Rodriguez-Ariza ve ark., 1993, Hasspieler ve ark., 1994).

Balıklar toksikantların etkisine karşı koymak için farklı savunma mekanizmalarına sahiptirler. Farklı dokularda biriken ağır metaller serbest radikalleri üreten, redoks reaksiyonlarını tetikleyebilmektedirler. Bazı akuatik organizmalar oksiradikal ürün tarafından indüklenen oksidatif hasara karşı kendilerini korumak için savunma sistemine sahiptirler (Winston ve Di Giulio, 1991). Hem enzimatik hem de enzimatik olmayan bileşikler ROS'un etkilerini azaltmaya katkıda bulunmaktadır (Lopez-Torres ve ark., 1993). Akuatik organizmaların sağlıklı bir yaşam sürdürebilmesi, reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin üretimine karşı, antioksidantların hücre membranlarını korumasına bağlıdır. Su organizmalarında

savunma sistemleri, temelde antioksidant savunma enzimlerini içeren çeşitli antioksidant savunma sistemlerinden oluşmaktadır (Mourente ve ark., 2002). Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidant sistemler; metal iyonları tarafından indüklenen oksidatif strese karşı önemli biyolojik savunma sistemleri olarak kabul edilmektedirler (Lopes ve ark., 2001).

Asetilkolinesteraz; Kolinesterazlar hem omurgalılarda hem de omurgasızlarda yaygın bir şekilde bulunan enzimlerdir. Kolinesterazlar, kolin esterlerin hidrolizini katalizleyen serin hidrolazların sınıfındandırlar. Omurgalı kolinesterazları seçici inhibitörlerin hassaslığı ve substrat spesifikliğinin temelinde asetilkolinesteraz (AChE, EC 3.1.1.7) ve butirilkolinesteraz (BChE, EC 3.1.1.8) olarak sınıflandırılmaktadır (Silver, 1974). Asetilkolinesterazlar ve butirilkolinesterazlar iki farklı genle kodlanmışlardır (Massoulie ve ark., 1993) ve her ikisi de asimetrik form gibi globular yapı sergilerler.

AChE, kolinerjik sinapslarda nörotransmitter asetilkolinin parçalanmasından sorumlu olarak, omurgalılarda nörotransmisyonda önemli rol oynamaktadır (Cunha ve ark., 2007). Sinir iletimini ve kas kontraksiyonunu başlatan asetilkolinin impuls iletiminden sonra yıkımından sorumludur ve asetilkolinin kolin ve asetata hidrolizini katalizler (Zinkl ve ark., 1991).

AChE enziminin inhibisyonu, sinir sonlarında asetilkolin birikimi ve elektriksel aktivitenin uzamasıyla sonuçlanmakta ve gastrointestinal sistem ve solunum bozukluklarının meydana gelmesine neden olmaktadır (Chuiko, 2000). AChE inhibisyonu sinir sistemi fonksiyonunu bozmakta ve solunum, beslenme ve davranışı içeren çeşitli fonkisyonlarda olumsuz etkilere sebep olabilmektedir.

Ağır metaller etki ettiği organizmada AChE aktivitesini düşürme potansiyeline sahiptirler (Gill ve ark., 1990).

AChE ve BChE aktivitelerinin bütünü, akuatik sistemlerin çevresel kirlilik izleme programlarında ve ekotoksikolojik risk değerlendirme çalışmaları için teşhis anahtarı olarak kullanılmaktadır (De LaTorre ve ark., 2002)

Son yıllarda kolinesteraz (ChE) ve glutatyon S-transferaz (GST) enzimleri yaygın bir şekilde çevresel biyomarkır olarak kullanılmaktadır, çünkü organizmaların

yaşamı ve performansı için belirlenen iki fonksiyonda (nörotransmisyon ve detoksifikasyon) önemli rolleri vardır (Cunha ve ark., 2007).

Glutatyon S-Transferaz; GST'ler (GST, EC 2.5.1.18) çeşitli kimyasalların detoksifikasyonunu ve bazı durumlarda aktivasyonunu içeren enzimlerin multigen ailesindendirler. GST'ler faz II enzimlerin gruplarındandırlar ve hücre bileşenlerini çeşitli toksik etkilere ve oksidatif strese karşı korumada sorumlu olan hücresel savunma sisteminde etkindirler (Reed, 1990). Bu proteinler bitki, hayvan ve bakterileri içeren, genelde tüm canlı türlerinde bulunmuştur (Hayes ve Pulford, 1995). GST'lerin çoğu çözünebilir formlarda bulunmaktadır ve GST Kappa olarak değerlendirilen mitokondrial GST de tanımlanmıştır (Anderson ve ark., 1994, Pemble ve ark., 1996).

Sitozolik glutatyon S-transferaz'lar, oksidatif stres boyunca üretilen elektrofilik ve genotoksik bileşiklerin detoksifikasyonundan sorumludurlar. Bazı GST izoenzimleri kanserojen ve pestisidlere karşı oldukça özel katalitik aktiviteye sahip olduğundan GST izoenzimlerinin bulunup bulunmaması bir türün kimyasal toksisiteye duyarlılığını belirgin olarak etkileyebilir. GST'ler çevre kirleticileri, ilaçlar, kanserojenler ve pestisidler gibi birçok bileşiği metabolize etme yeteneğine sahiptirler (Eaton ve Gallagher, 1994).

GST'lerin lipid peroksidasyonda önemli rolü vardır. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünleri GSH'a bağlayarak antioksidant enzim olarak görev yapmaktadır (Ketterer ve ark., 1983, Hayes ve Pulford, 1995). Petrokimyasal ürünler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve diğer çevresel kirleticiler bu grup enzimlerin aktivitesini indüklemektedirler (Cheung ve ark.,2001; Gowland ve ark., 2002; Moreira ve ark., 2004; Cunha ve ark., 2007). GST'ler uygun elektrofilik merkeze bağlanarak tripeptid glutatyonun bazı elektrofilik bileşiklere bağlanmasını katalizlerler. Elektrofilik bileşikler, endojen olarak üretilen toksik bileşikler ve bazı çevresel kirleticiler gibi ksenobiyotiklerdir (Julija ve Heimi, 1996; Sheehan ve ark., 2001).

Oksidatif strese karşı savunma sistemine katılan GST, hidroksialkenler ve temel propanlar gibi (lipid peroksidlerin bozunma ürünleri) veya DNA hidroperoksitleri gibi endojen zararlı bileşikleri detoksifiye etme yeteneğine sahiptir,

fakat epoksid ve quinon gibi elektrofilik bileşikler veya reaktif ara ürünler de biyotransformasyon süresince şekillenmektedir (Tew, 1994; Hayes ve Pulford, 1995).

GST enzimi ayrıca, hormonlar, steroidler, hem molekülü, bilirubin, safra asidi ve metabolitleri içeren endojen hidrofobik bileşiklerin transportu ve detoksifikasyonunda da rol oynamaktadır (Salinas ve Wong, 1999). GST enzimi akuatik kirliliğin biyomarkırı olarak da kullanılabilmektedir (Adewale ve Afolayan, 2005).

Glutatyon;. L-sistein, L-glutamat ve L-glisin amino asitlerinden oluşan ve glutamat ile sistein amino asitleri arasında γ peptid bağı içeren bir tripeptiddir. Düşük molekül ağırlıklı antioksidant bir molekül olan glutatyonun; antioksidant savunma, elektrofilik ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, sisteinin taşınması ve depolanması, immün tepkinin düzenlenmesi, hücre büyüme ve gelişmesi, DNA sentezi ve ROS temizleyicisi gibi çok önemli fizyolojik görevleri bulunmaktadır (Sen, 1997). Hücrelerde bulunan en belirgin düşük moleküler ağırlıklı (5-10mM) tiyolleri temsil etmektedir (Hayes ve Pulford, 1995).

Glutatyon konsantrasyonu hücrelerde milimolar düzeyinde bulunmaktadır (Anderson, 1996). Diğer organizmalar gibi balıklarda da glutatyon ve glutatyonla ilgili enzimler oksidatif strese karşı savunmada önemli bileşenlerdir (Stephensen ve ark., 2002).

Hücrelerde total GSH, reaktif oksijen toksisitesine karşı olan koruyuculuğu sebebiyle balıklarda oksiradikallerin ve kirleticilerin etkisinin belirlenmesinde kullanılan önemli bir biyomarkırdır (Zhang ve ark., 2005).

Lipid peroksidasyonu; İki ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin oksidasyonudur. Serbest radikaller tarafından indüklenmektedir ve bu reaksiyonlar sonucu açığa çıkan ürünler, radikal hasarların belirlenmesinde kullanılmaktadır (Basaga, 1990). Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehittir (MDA). Oluşan MDA, hücre membranlarındaki iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın azot bazları ile reaksiyona girmekte ve bundan dolayı

mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojenik olmaktadır (Niki, 1987; Placer ve ark., 1990). Lipid peroksidasyonu başlıca anatomik bozukluğa, biomembranların metabolik fonksiyonların bozulmasına, organik radikallerden oluşan proteinlerin tiyol gruplarının oksidasyonuna ve oluştukları bölgeden difüze olabilen toksik bileşiklerin üretimiyle hücre hasarına neden olmaktadır (Slater, 1976; Basaga, 1990).

Lipid peroksidasyonu, doymamış yağ asitlerinin oksidatif bozulmasını içeren, doku hasarları için önemli bir yöntemdir (Jobling, 1995). Serbest radikallerin üretiminde öncü ve katalizör olarak metal iyonları rol oynamaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Viarengo, 1985).

Ağır metaller lipid peroksidasyon prosesini stimüle ederek hücre membranlarının yapısını değiştirebilmektedir (Viarengo, 1989). Lipid peroksidasyonu, lipid radikallerin üretimiyle ve lipid parçalanma ürünlerinin kompleks karışımının oluşması (malondialdehit ve alkanlar, alkenler, hidroalkenler, ketonlar, aldehidler) sonucunda olmaktadır (Regoli, 1992).

Balık dokularındaki biyokimyasal tepkiler metallerin etkisiyle değişmektedir. Yapılan çalışmalarda bazı metallerin hemoglobin, hematokrit, plazma proteini, plazma osmolaritesi, kortizol, glukoz ve kan enzimlerini; metal türüne, balık türlerine ve etki süresinin uzunluğuna bağlı olarak azaltabildiği ya da artırabildiğini göstermektedir (Cyriac ve ark., 1989; Munoz ve ark., 1991).

Hemoglobin (Hb), glukoz ve buna benzer hematolojik göstergeler balıklarda stres indikatörü olarak kullanılabilmektedir (Wedemeyer ve ark., 1990; Shah ve Altındağ, 2004). Akuatik ortamda metaller gibi toksik maddelerin, balıkların fizyolojisi üzerindeki etkilerinin araştırılmasına olanak sağlamaktadır (Al-Attar, 2005).

Glukoz; $HO^{\cdot}$ radikal tutucusudur. Vücut şekeri olarak da adlandırılan glukoz kan tarafından taşınan ve dokular tarafından kullanılan başlıca şekerdir. Kan şekerinin kritik bir düzeye düşmesi merkezi sinir sisteminin görevini yapamamasına yol açabilir. Kan glukozu balıkların karaciğerlerinde glikojen olarak depo edilip organizmanın gereksinimi olduğu zamanlarda glukoza çevrilerek kana verilir. Çoğunlukla balığın yaşadığı ortamın kirlenmesi ya da herhangi bir nedenden dolayı

oluşan stres faktörü balıktaki kas aktivitesinin artmasına yol açar. Bunun sonucu olarak da kan glukozu miktarında artış kaydedilir (Başusta, 2005).

Transferrin; Metal bağlayıcı proteindir. İyonize demir kanda transferrine bağlanarak taşınır. Her transferrin molekülü 2 Fe iyonunu taşıyabilir. Fe'i kontrol altına alarak oksidatif stresi azaltır (Emerk ve Sözmen, 2002).

Hemoglobin; Kanda solunum organından dokulara O_2, dokulardan solunum organına CO_2 ve proton taşıyan proteindir. Eritrositlerin içinde bulunur. Oksijeni +2 değerlikli Fe içeren 'hem' molekülü ile bağlar. Kanda belli bir değerin altında bulunmasına anemi, yüksek miktarda bulunmasına polisitemi denir. Oksidanları bağlamaktadır.

Bilirubin; Alyuvarların dalakta yıkımı sırasında hemoglobin moleküllerinin parçalanmasıyla oluşur, karaciğere gelir ve safra olarak dışarı atılır. Kansızlık durumunda ya da safra yollarının tıkanmasında, kanda bilirubin değeri yükselir. Bilirubin vücuttan bağırsak ve idrar yoluyla atılır. Serbest radikal tutucusudur (Emerk ve Sözmen, 2002).

Albumin; İnsan ve diğer hayvanların kan plazmasında bulunan en yaygın proteindir. Kanda bulunan proteinlerin %60'ını oluşturur. Yağ asitleri ve çeşitli maddeleri kanda taşımasına ek olarak en önemli işlevi, kan ile doku sıvıları arasında suyun dengelenmesini sağlamaktadır. Albumin, oksijen serbest radikallerine bağlanarak bunları kontrol altına alır. Ayrıca bilirubin gibi suda çözünmeyen bazı toksik metabolizma ürünlerine bağlanarak onları zararsız kılar. Albumin çeşitli metal iyonlarına da bağlanabilir. Nitrikoksitin (NO), suda çözünürlükleri düşük olan yağ asitlerinin kandaki taşıyıcısıdır. Bu maddelere bağlanmaları sayesinde bu maddelerin kandaki konsantrasyonlarını düşük ve zararsız düzeyde tutar. Ayrıca onları ihtiyaç duyuldukları yerlere taşırlar. Bakırı bağladığı da belirlenmiştir (Yiğitoğlu ve Göker, 2000).

Haptoglobin; Hemoglobini bağlar.

Ürik asit; Karbon, oksijen ve azottan oluşan organik bir bileşiktir. Ksantin oksidazın oksipürinleri (ksantin, hipoksantin gibi) oksitlemesiyle oluşur. Süperoksit, hidroksil ve peroksil tutucusudur. Ürik asit düzeyi böbrek fonksiyonu için bir indikatördür (Emerk ve Sözmen, 2002; Tawwab- Abdel ve ark., 2007).

Balıklar doğal ortam koşullarında, çevresel faktörlerden kaynaklanan değişikliklerin doğrudan etkisi altındadır. Bu nedenle balığın ortamdaki değişimlere fizyolojik ve biyokimyasal tepkilerinin bilinmesi akuatik ortamın kirlilik durumu ve sistemin sağlığı hakkında önemli bilgi vermektedir (Heath, 1995). Balıklardaki fizyolojik değişiklikler çevresel değişikliğin biyomarkırı olarak değerlendirilmektedir (Kock ve ark., 1996).

Balıklar, oksidatif toksisite mekanizmalarında ve oksidatif strese karşı tepkilerinde memelilerle benzer özellik gösterdikleri için oksidadif stres çalışmalarında model organizmalar olarak kullanılmaktadırlar (Almeida ve ark., 2002). Ayrıca çevre toksikolojisinde akuatik kirleticilerin letal ve subletal etkilerinin belirlenmesi için test organizmalardır (Paris-Palacios ve ark., 2000).

Tüm aerobik organizmalar gibi, balıklar da reaktif oksijen türlerinin saldırısına karşı hassas organizmalar olup antioksidant savunma sistemine sahiptirler. Besin sağlama, sıcaklıktaki günlük ve mevsimsel değişiklikler, çözünmüş oksijen, sularda bulunan toksinler, patojenler veya parazitler gibi çevre faktörlerinin yanı sıra, balığın kendi yapısıyla ilgili olan yaş, filogenetik durum ve beslenme davranışları da antioksidant sistemleri kuvvetlendirebilmekte ya da zayıflatabilmektedir (Felton, 1995; Martinez-Alvarez ve ark., 2005).

Toksikolojik çalışmalarda *O. niloticus*'un biyolojik model olarak kullanılması yüksek yetişme oranı, kolay çoğalması, çeşitli besinlere beslenebilme özelliği, hastalıklara karşı büyük direnci, çiftlik koşullarının geniş çeşitliliğine iyi tolerans göstermesi nedeniyle olabileceği belirlenmiştir (Fontainhas-Fernandes, 1998).

Akuatik ortamda besin zincirinin önemli bir halkasını oluşturan balıkların dokularındaki biyokimyasal ve fizyolojik değişikler ortamdaki kirlilik düzeyini yansıtmaktadır. Bu araştırmada Cu ile Cu + Ca ve Cu + EDTA karışımlarının *O. niloticus* dokularında Cu birikimi, detoksifikasyon enzimleri (AChE, GST), enzimatik olmayan antioksidantlar (GSH, serum albumin, bilirubin, transferrin, hemoglobin, haptoglobin, glukoz, ürik asit), lipid peroksidasyonu üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kargın ve Erdem (1988), *Tilapia nilotica*'nın farklı doku ve organlarında bakır birikimiyle ilgili yaptıkları çalışmalarında en yüksek metal birikiminin dalakta olduğunu, bunu karaciğer, bağırsak, mide, solungaç ve kas dokusunun takip ettiğini belirtmişlerdir.

Nemcsok ve Hughes (1988), 0.2 ve 2.0 ppm Cu etkisine 24 ve 48 saat süre ile bıraktıkları *Salmo gairdneri* türünde biyokimyasal parametreleri incelemişlerdir. 24 ve 48 saatlik süre sonunda kontrol grubuna oranla 2 ppm Cu etkisinde, kan glukoz düzeyi 2-4 kat artış gösterirken plazma AChE aktivitesi %40 oranında düşmüştür. 0.2 ppm Cu etkisinde ise sadece 48 saat süre sonunda benzer değişiklikler gözlenmiştir.

Cyriac ve ark. (1989), 24, 72, 120 ve 168 saat süreyle 100 µg/L ve 200 µg/L Cu derişimleri etkisine bırakılan *Oreochromis mossambicus*'un hemoglobin düzeylerindeki değişiklikleri incelemişlerdir. Kontrol grubuna göre 24. saatte hemoglobin derişiminin azaldığı, sürenin uzamasıyla (120 ve 168. saatlerde) arttığı gözlenmiştir.

Markich ve Jeffree (1994), tatlı su yumuşakçalarıyla (*Hyridella depressa* ve *Velesunio ambiguus*) yaptıkları bir çalışmada, su sertliğinin metal toksisitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Her iki organizmada da yüksek Ca konsantrasyonunun olduğu bölgede; Pb, Cd, Mn ve Co gibi metallerin tüm vücut dokuları tarafından alınımının azaldığı gözlenmiş ve bu metallerin Ca'nın metabolik analogları oldukları ileri sürülmüştür. Su sertliğinin metal toksisitesini azaltıcı etkisinin, hücre membranlarında Ca'nın kompetitif bağlanmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Nussey ve ark. (1995), kısa ve uzun süreli subletal Cu konsantrasyonlarının, *O. mossambicus*'un çeşitli hematolojik parametreleri üzerine etkilerini çalışmışlardır. Cu etkisinde ölçülen beyaz ve kırmızı kan hücreleri sayısı, hemoglobin, hematokrit, kan hücrelerinin ortalama hacmi gibi parametreler kontrol grubuna göre değişiklik göstermiştir. Cu etkisinde kontrole göre hemoglobin ve hematokrit değerleri artış göstermiştir. Ayrıca plazma Na, K, Ca ve Cl düzeylerinin düşmesinden dolayı, osmoregülasyonun etkilendiği saptanmıştır. Araştırıcılar, kan parametrelerinin

çevredeki metal kirliliğini belirlemede, bir belirteç olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Erickson ve ark. (1996), tatlı su balığı olan *Pimephales promelas*'te Cu toksisitesi üzerine su sertliğinin etkisini çalışmışlardır. Cu içeren deney ortamına 2:1 oranında $CaSO_4$ ve $MgSO_4$ çözeltileri ilave edilmiştir. Su sertliğinin; Cu'nun organizmaların büyüme ve yaşam süresi üzerine olan olumsuz etkilerini kaldırdığını ve 96 saatte LC_{50} değerini arttırdığını belirlemişlerdir. Araştırıcılar, su sertliğinin Cu toksisitesini azalttığını ve Ca'nın koruyucu etkisinin Mg'den daha fazla olduğunu saptamışlardır.

Deb ve Santra (1997), atıksularla beslenen gölette yaşayan tilapiada (*T. mossambica*) Cu birikimiyle yaptıkları çalışmada, dokularda Cu birikiminin karaciğerde yüksek düzeyde bulunduğunu bunu bağırsak, kemik, beyin, yumurtalık ve kas dokusunun izlediğini kaydetmişlerdir.

Hamza – Chaffai ve ark. (1998), midyelerle yaptıkları bir çalışmada 5 gün süre ile uygulanan 75 µg/L Cu'nun organizmaların sindirim bezleri, gonadlar, solungaç ve kas dokuları üzerine olan toksik etkilerini çalışmışlardır. Kontrol grubuna göre incelenen dokularda, Cu düzeyinin önemli oranda yüksek çıktığı gözlenmiştir. AChE aktivitesi ise kontrole göre önemli bir oranda azalmıştır.

Liang ve ark. (1998), atık suların deşarj edildiği çeşitli nehir bölgelerinden örneklenen tatlı su balıklarının karaciğer, böbrek, dalak, kas ve kalp gibi doku ve organlarında metal birikimi gözlemişlerdir ve en az metal birikiminin kas dokusunda bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırıcılar balıklarda iç organların metalleri depolamada önemli rol oynadıklarını vurgulamışlardır.

Vera ve Pocsidio (1998), *O. mossambicus* ile yaptıkları bir çalışmada; Cu içeren deney suyuna ilave edilen $CaCO_3$'ın Cu iyon konsantrasyonunun toksik etkisini azalttığını belirtmişlerdir. Cu etkisi ile dokularda artan lipid peroksidasyonunun ortama $CaCO_3$ ilavesiyle azaldığı belirtilmiştir. Araştırıcılar, $CaCO_3$'ın Cu toksisitesine karşı koruyucu bir etki gösterdiğini vurgulamışlardır.

Dethloff ve ark. (1999), 6.4, 16.0, 26.9 µg/L Cu ortam derişimlerine 3, 7, 14 ve 21 gün süre ile bırakılan gökkuşağı alabalığı *Oncorhynchus mykiss'*de hematolojik ve biyokimyasal parametrelerdeki değişimleri incelemişlerdir.

Hemoglobin, hematokrit, plazma glukoz ve kortizol düzeyleri kontrole göre önce bir artış göstermiş, daha sonra normal değerlerine dönmüştür. Plazma protein ve laktat düzeyleri Cu etkisinde değişiklik göstermemiştir.

Handy ve ark. (1999), besin yoluyla Cu'nun etkisine bırakılan gökkuşağı alabalığı *O. mykiss* dokularında, Cu birikimini ve bazı hematolojik parametreleri incelemişlerdir. Kontrol grubuna göre Cu düzeyi bağırsaklarda 16, karaciğerde 2.5 kat artmıştır. Diğer dokulara oranla solungaçlarda Cu düzeyi daha düşük çıkmıştır. Cu etkisinde; serum protein konsantrasyonu artarken, tam kan hemoglobin derişimi ve hematokrit değerleri değişmemiştir.

Mazon ve Fernandes (1999), tatlı su balığı *Prochilodus scrofa'*nın dokularında Cu birikimiyle ilgili yaptığı bir araştırmada Cu birikimi en fazla karaciğerde olmuş ve bunu daha sonra sırasıyla bağırsak, böbrek ve solungaç dokuları izlemiştir. LC_{50} değeri olan 29 µg/L Cu ortam derişiminde, plazmadaki Cu konsantrasyonu önemli derecede yüksek çıkmıştır.

Perschbacher ve Wurts (1999), *Ictalurus punctatus* türünü, 10-400 mg/L $CaCO_3$ içeren deney ortamında, 48 saat süre ile 1.25 mg/L Cu'nun etkisine bırakmışlardır. Organizmaların hayatta kalma oranlarının kalsiyum sertliği ile doğru orantılı olduğunu saptamışlardır.

McGeer ve ark. (2000), gökkuşağı alabalığı *O. mykiss*'i 100 gün süre ile 75 µg/L Cu'nun kronik etkisine bırakmışlardır. Kontrol grubuna göre en fazla karaciğerde olmak üzere solungaç ve böbrek dokularında biriken Cu miktarının, önce hızlı bir şekilde arttığını ve sürenin uzamasıyla durağan hale geldiğini saptamışlardır.

Paris-Palacios ve ark. (2000), *Brachydanio rerio* balıklarını 7 ve 14 gün süre ile 40-140 µg/L Cu'nun subletal derişiminin etkisine ve daha sonra 14 gün süre ile Cu içermeyen deney ortamına bırakarak, karaciğer dokusundaki değişiklikleri ve bazı oksidatif stres parametrelerini incelemişlerdir. Her iki Cu derişiminde de sürenin uzamasıyla karaciğer Cu içeriği kontrole kıyasla önemli bir şekilde artmış ve doku bozuklukları belirlenmiştir. Karaciğer hücreleri başkalaşım göstermiş ve hepatik damarın yanındaki karaciğer bölgeleri tamamen kaybolmuştur. Cu derişimine ve süreye bağlı olarak hepatik protein düzeyi ve antioksidant savunma artmıştır. Denenen süreler sonunda total glutatyon düzeyi kontrole göre 40 µg/L derişiminde

%60, 140 µg/L derişiminde ise %80 düzeyinde artmıştır. GST aktivitesi de zamana ve Cu derişiminin artışına bağlı olarak kontrol grubuna göre önemli oranda artmıştır. 14 günlük iyileşme süresinde karaciğer Cu içeriğinde önemli bir düşüş gözlenmemiş ve hepatik değişikliklerde iyileşme belirlenmemiştir. Araştırıcılar Cu'nun hepatik toksisiteye neden olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Romeo ve ark. (2000), deniz levreği *Dicentrarchus labrax*'ın dokularında, intraperitonal olarak enjekte edilen Cu'nun toksik etkisini incelemişlerdir. Bir oksidatif stres markırı olan MDA düzeyinin, Cu etkisindeki balıkların böbrek dokularında, kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığını gözlemlemişlerdir. En çok Cu birikimi sırasıyla karaciğer, böbrek ve kas dokularında belirlenmiştir.

Lopes ve ark. (2001), Maden deşarjının yapıldığı bölgeden örneklenen *Leuciscus alburnoides*'in karaciğer dokusunda metal birikimini ve GST aktivitesini incelemişlerdir. Kirli bölgeden alınan balık karaciğer dokularında GST aktivitesi ve Cu birikimi, referans bölgesinden alınan örneklere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Kirli bölgeden alınan örneklerde Cu düzeyi arttıkça GST aktivitesinin de arttığı gözlenmiş, artışın karaciğerde Cu'nun yüksek konsantrasyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir.

Varanka ve ark. (2001), *Cyprinus carpio'*da 48 saat süre ile Cu'nun akut toksik etkisini çalışmışlardır. Karaciğer GSH seviyesinin kontrole göre önemli oranda azaldığı, plazma glukoz seviyesi ve karaciğer MDA düzeyinin ise arttığı belirlenmiştir.

Naddy ve ark. (2002), farklı tatlı su türlerinde (Rainbow trout, *Ceriodaphnia dubia, Daphnia magna, Gammarus* sp.) Cu toksisitesi üzerine, Ca ve Mg'un etkisini incelemişlerdir. Organizmaların bulunduğu Cu içeren deney sularına farklı oranlarda Ca ve Mg çözeltileri ilave edilmiştir. Ca'nın fazla olduğu ortamlarda organizmaların Cu toksisitesine karşı daha dirençli oldukları ve Ca'nın koruyucu etkisinin Mg'den daha fazla olduğu saptanmıştır.

Tao ve ark. (2002), *Paracheirodon inesi* türünde, dokularda Cu alınımına EDTA'nın etkisiyle ilgili yaptıkları çalışmada, deney ortamında bulunan EDTA'nın Cu ile kompleks oluşturarak ortamda serbest Cu iyonlarının oranını ve dokulardaki Cu alınımını azalttığını, fakat tamamen elimine etmediğini göstermişlerdir.

Dautremepuits ve ark. (2002), 0.1 ve 0.5 mg/L Cu etkisine 96 saat süreyle bırakılan *C. carpio*'nun karaciğer ve böbrek dokularında Cu birikimi ve GST aktivitesini incelemişlerdir. Dokulardaki Cu içeriği derişime bağlı olarak önemli düzeyde artarken, karaciğer ve böbrek dokularında GST aktivitesi kontrole göre azalmıştır.

De La Torre ve ark. (2002), kanalizasyon sularının deşarj edildiği nehirden alınan *C. carpio* ve *Cnesterodon decemmaculatus* balıklarının beyin dokularında AChE aktivitesini incelemişlerdir. AChE aktivitesindeki değişiklikler her iki türde de farklı çıkmıştır. *C. carpio'*nun beyin dokusundaki AChE inhibisyonu *C. decemmaculatus*'un beyin dokusuna göre daha fazla gerçekleşmiştir. Bu *C. carpio*'nun kirliliğe *C. decemmaculatus*'tan daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Bu nehirde yapılan çalışmada, beyin AChE aktivitesinin bir biyomarkır olarak değerlendirilebileceği gösterilmiştir.

Grosell ve ark. (2003), 7 gün süre ile Cu etkisine bırakılan kıkırdaklı balık (elosmobranch) *Raja erinacea* ve kemikli balık *Myoxocephalus octodecemspinosus* türleri ile yaptıkları çalışmada; kontrol grubuna göre en yüksek Cu birikiminin karaciğerde saptandığı, beyin ve kas dokularında ise Cu birikiminin oldukça düşük düzeyde olduğu bildirilmiştir.

Hamed ve Farid (2003), evsel ve endüstriyel atık sularının deşarj edildiği Nil nehrinin farklı bölgelerinden alınan tatlı su balıkları *O. niloticus* ve *Clarias lazera* türlerinin, karaciğer ve böbrek dokularında antioksidant savunma enzimlerini incelemişlerdir. Referans bölgesine kıyasla kirli bölgelerden alınan *O. niloticus'*un karaciğer ve böbrek dokularında GST, GR, GP_x aktivitesi kontrol grubuna kıyasla daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. GST aktivitesinin *C. lazera'*nın karaciğer ve böbrek dokularında referans bölgesine kıyasla daha düşük olduğu saptanmıştır.

Lionetto ve ark. (2003), kimyasal kirleticilerin biyolojik etkilerini belirlemek için; İtalya sahil şeridi boyuca endüstri ve liman bölgelerinden toplanan *Mullus barbatus* ve *Mytilus galloprovincialis* türlerinin çeşitli dokularında AChE, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi kirlilik biyomarkırlarını incelemişlerdir. Ortamda bulunan ağır metaller ve pestisitlerin dokulardaki AChE aktivitesini inhibe ettiği saptanmıştır. AChE aktivitesi *M. galloprovincialis* dokularında CAT aktivitesiyle, *M. barbatus*

dokularında ise GP_x aktivitesiyle negatif bir ilişki göstermiştir. Araştırıcılar oksidatif strese neden olan kirliliğin, incelenen parametrelerde önemli değişikliklere yol açtığını bildirilmişlerdir.

Romani ve ark. (2003), *Sparus auratus* ile yaptıkları bir çalışmada beyin ve kas dokularında Cu'nun AChE aktivitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Beyin dokusu AChE aktivitesi 0.1 ppm Cu etkisinde kontrole göre bir değişiklik göstermezken 0.5 ppm Cu etkisinde bir artış göstermiştir. Kas dokusunda AChE aktivitesi 0.1 ppm Cu ve 0.5 ppm Cu konsantrasyonlarında bir artış göstermiştir. Beyin ve kas dokusunda Cu birikiminin önemli olmadığı belirlenmiştir.

Dautremepuits ve ark. (2004), 0.1 ve 0.25 mg/L Cu'nun etkisine 8 gün süre ile bıraktıkları *C. carpio* dokularında GST aktivitesi ve metal birikimini incelemişlerdir. Karaciğer GST aktivitesi kontrol grubuna göre 8. günde 4. güne göre daha yüksek seviyede gözlenmiştir. 0.1 mg/L Cu etkisinde GST aktivitesi böbreklerde karaciğer dokusundan daha yüksek çıkmıştır. Karaciğer toplam protein derişimi; 0.25 mg/L Cu derişiminde kontrole göre önemli derecede yüksek çıkarken, böbrek dokusunda bir değişikliğin olmadığı gözlenmiş ve böbrek CAT aktivitesi azalırken, karaciğer CAT aktivitesi ise artış göstermiştir.

Jee ve Kang (2005), 4 hafta süresince 0.5, 1.0 ve 2.0 µM Phenanthrene uygulanan *Pralichthys olivaceu'*un çeşitli dokularında antioksidant enzimlerini ve glutatyona etkilerini incelemişlerdir. Karaciğer, solungaç ve böbrek dokularında GR, GST ve CAT aktivitelerinin kontrol grubuna kıyasla ortam derişiminin artması ve sürenin uzamasıyla önemli bir şekilde arttığı belirlenmiştir.

Manduzio ve ark. (2004), bir midye türü olan *Mytilus edulis* ile yaptıkları bir çalışmada endüstriyel atık suların bırakıldığı kirli bölgelerden ve kontrol olarak seçilen temiz bölgelerden toplanan midyelerin solungaç GST aktivitelerini çalışmışlardır. Kirli bölgeden alınan midye solungaç dokularında GST aktivitesi, kontrol bölgelerden alınanlara göre önemli derecede yüksek çıkmıştır.

Adewale ve Afolayan (2005), kentsel ve endüstriyel atıkların bırakıldığı, organik ve inorganik kirliliğin yoğun olduğu nehirden alınan bir karides türü olan *Macrobrachium vollenhovenii* ile yaptıkları çalışmada; GST spesifik aktivitesinin kontrole göre kasta en düşük, hepatopankreasta ise en yüksek çıktığını

göstermişlerdir. En yüksek spesifik aktiviteye sahip hepatokpankreasın, diğer organlar tarafından metabolize edilmeyen bileşikler ve endojen olarak üretilen elektrofiliklerden sorumlu detoksifikasyon için temel bir organ olduğunu vurgulamışlardır ve GST'nin bu organizmalar için etkili bir detoksifikasyon enzimi olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Ahmad ve ark. (2005), 1.0 µM ve 2.5 µM Cu etkisine bıraktıkları *Anguilla anguilla'*nın solungaç ve böbrek dokularında oksidatif stres biyomarkırlarını incelemişlerdir. Cu'nun düşük ortam derişiminde kontrole göre GST aktivitesi solungaç dokusunda artış gösterirken böbrek dokusunda bir azalma göstermiştir. Yüksek Cu derişiminde ise böbrek GST aktivitesinde bir artış saptanmıştır. GSH içeriği, solungaç dokusunda Cu'nun yüksek derişiminde azalırken böbrekte her iki Cu derişiminde de önemli şekilde azalmıştır. Ayrıca Cu etkisinde böbrek dokusu lipid peroksidasyonu önemli bir şekilde artmıştır.

Al-Attar (2005), *O. niloticus* türünde 1, 3 ve 5 hafta süreyle uygulanan 5.5 ppm Cd'nin, hematolojik parametreler üzerine etkisini çalışmışlardır. Cd etkisinde hemoglobin, hematokrit ve kırmızı kan hücreleri değerleri, tüm sürelerde azalmış ve sürenin uzamasıyla bu azalma oranı daha fazla olmuştur.

Ferreira ve ark. (2005), Portekiz'de evsel ve endüstriyel atıkların genelde arıtılmadan atıldığı bir nehirden alınan *Mugil cephalus* ve *Platichthys flesus* balıklarının dokularında, bazı biyokimyasal parametreleri incelemişlerdir. Balıkların karaciğer dokularında lipid peroksidasyonu yüksek düzeyde belirlenirken, SOD ve CAT aktivitesinin düşük düzeyde olduğu saptanmıştır.

Monteiro ve ark. (2005), 21 gün süre ile 40 ve 400 µg/L Cu etkisine bırakılan *O. niloticus* türünde çeşitli solungaç Cu birikimini incelemişlerdir. Solungaç Cu birikimi sürenin uzamasıyla kontrol grubuna göre artmıştır. Ayrıca Cu'nun, solungaç Na/K ATP_{az} aktivitesinin inhibisyonunu tetiklediği belirtilmiştir.

Sanchez ve ark. (2005), *Gasterosteus aculeatus*'a; 4, 8 ve 12 gün süre ile uygulanan 0, 25, 100 ve 200 µg/L Cu derişimlerinin toksik etkisini incelemişlerdir. Cu ortam derişiminin artması ve sürenin uzamasıyla karaciğer Cu birikiminde önemli bir artış saptanmıştır. Deneyin 4. ve 8. gününde Cu'nun etkisindeki balıklarda kontrol grubuna göre karaciğer dokusunda total GSH miktarı azalmış ve 12. günde

ise önemli derecede artmıştır. GST aktivitesinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Araştırıcılar; deneyin başlamasından sonra balıkların, Cu tarafından üretilen oksidatif strese karşı, antioksidant sistemlerini hızlı bir şekilde devreye koyduklarını vurgulamışlardır.

Tawwab-Abdel ve ark. (2007), *O. niloticus*'da Cu toksisitesine karşı, Ca'nın etkisini çalışmışlardır. Bir grup balığı Cu + Ca karışımına, bir grup balığı ise doğrudan Cu etkisine bırakarak organizmaların fizyolojik fonksiyonlarını araştırmışlardır. Doğrudan Cu etkisine bırakılan balıklarda Cu + Ca karışımının etkisine bırakılanlara kıyasla; besin alınımı ve balıkların gelişimi azalmış, mortalite önemli oranda artmış, plazma ve karaciğerde lipid ile protein içeriği düşmüş, plazma glukoz seviyesi artmış, kreatinin, AST (aspartat aminotransferaz) ve ALT (alanin aminotransferaz) değerleri daha yüksek çıkmış, solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında metal birikimi daha fazla gerçekleşmiştir. Kırmızı kan hücreleri sayısı, hematokrit ve hemoglobin değerleri Cu'nun doğrudan etkisinde önemli bir şekilde etkilenirken Cu + Ca ortamındaki gruplarda kontrole yakın değerler gözlenmiştir. Ürik asit, kreatinin ve AST her iki deney grubundan da etkilenmiş ve en yüksek ürik asit değeri yüksek Cu derişiminde belirlenmiştir. Araştırıcılar, Cu'nun balıklar üzerindeki toksik etkilerinin Ca tarafından önemli bir şekilde azaltılabileceğini vurgulamışlardır.

Hoyle ve ark. (2007), besin yoluyla verilen Cu'nun etkisine 30 gün süre ile bırakılan *Clarias gariepinus* türünde; hematolojik ve oksidatif stres parametrelerini, dokularda Cu birikimini ve histolojik özelliklerini çalışmışlardır. Besin yoluyla Cu etkisinde kalan balıklarda kontrole kıyasla bağırsaklarda 20, karaciğerde 5, solungaçlarda 4 katlık bir Cu artışına neden olmuştur. Spesifik büyüme oranında bir düşme gerçekleşmiş ve besin alınımının azalması ile ilgili olarak karaciğerde glikojen içeriğinde azalma belirlenmiştir. Deney sonunda kontrol grubuna kıyasla total GSH içeriği bağırsakta %203, solungaçta %73 oranında artmıştır. Dokularda lipid peroksidasyonunda artış saptanmıştır. Cu etkisinde incelenen hemoglobin, hematokrit ve kırmızı kan hücreleri ile solungaç, karaciğer, bağırsak dokularının histolojik yapılarında kontrol grubuna göre bir değişiklik gözlenmemiştir.

Cazenava ve ark. (2009), endüstriyel, tarımsal ve evsel atık suların deşarj edildiği Salodo nehrinin (Arjantin) çeşitli örnekleme bölgelerinden alınan *Prochilodus lineatus* türü ile yaptıkları bir çalışmada; hemoglobin konsantrasyonu referans bölgesine göre daha düşük belirlenirken beyaz kan hücreleri daha yüksek çıkmıştır. Plazma glukoz ve total protein düzeyi referans bölgesine göre önemli şekilde artmıştır. Karaciğer ve böbrek dokularındaki GST ve GR aktivitesi referans bölgesinden alınan balık dokularına göre artarken, solungaç dokusunda çalışılan bölgeler arasında önemli ayrım gözlenmemiştir. Karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında lipid peroksidasyonu düzeyi referans bölgesine göre yüksek çıkmıştır. Araştırıcılar biyomarkırlardaki değişimlerin, balıkların çevresel stres faktörleri altında yaşamlarını sürdürmeleri nedeniyle olabileceğini belirtmişlerdir.

Dautremepuits ve ark. (2009); şehir atık sularının bırakıldığı St. Lawrance (Kanada) nehrinde, kirlilik derecelerine göre farklı bölgelerden toplanan *Perca flavescens* türünün solungaç ve böbrek dokularında, oksidatif stres biyomarkırlarını incelemişlerdir. Cu ve diğer metallerin yoğun bulunduğu kirli bölgelerden alınan balıklarda, kontrol bölgesindekilere göre böbrek GST aktivitesi daha yüksek düzeyde belirlenirken, solungaç GST aktivitesi düşük düzeyde çıkmıştır. Ayrıca; böbrekteki CAT, GR, seruloplazmin ve lizozim aktivitelerinin, kontrol bölgesine göre çok yüksek olduğu kaydedilmiştir.

Gopal ve ark. (2009), *Cirrhinus mrigala* balığında Ni ve Ni + EDTA karışımında solungaç, böbrek, karaciğer ve kas dokularında; protein düzeyi, GP_x, redükte GSH, lipid peroksidasyonu gibi bazı biyokimyasal parametreleri ve patolojik özellikleri incelemişlerdir. Ni etkisinde protein ve GSH düzeyleri ile GP_x aktivitesi kontrol grubuna göre azalırken Ni + EDTA karışımında ise Ni'nin tek başına etkisine göre artış gözlenmiştir. Lipid peroksidasyonu Ni etkisinde kontrole göre artmış, Ni+EDTA etkisinde ise yalnız Ni etkisine göre azalmıştır. Araştırıcılar; Ni'nin uzaklaştırılmasında ve biyokimyasal değişiklikler ile patolojik özelliklerin iyileştirilmesinde, EDTA'nın etkili bir şelatlaştırıcı ajan olduğunu ispatlamışlardır.

NG ve ark. (2009), gökkuşağı alabalığı *O. mykiss'*te, 4 hafta süreyle besin yoluyla verilen Ca'nın, Cd toksisitesi ve birikimi üzerine koruyucu etkisini çalışmışlardır. Cd, balıkların gelişimlerini olumsuz yönde etkilemiş ve solungaç,

mide, karaciğer ve böbreklerde önemli oranda birikmiştir. Cd içeren besine yüksek oranda Ca ilave edilmesi, organizmayı Cd birikimine ve toksisitesine karşı korumuştur. Uygulama süresince Cd, metal bağlayıcı proteinlere bağlanmış ve organizmada detoksifikasyon gerçekleşmiştir.

Pereira ve ark. (2010), Portekiz'in Obidos lagününde *Liza aurata* balığı ile yaptıkları bir çalışmada metal kirliliğinin GST aktivitesi, GSH ve lipit peroksidasyonu üzerine etkisini incelemişlerdir. Metal kirliliğinin yoğun olduğu bölgeden alınan balıkların karaciğer ve böbrek organlarında metal düzeyi referans bölgesinden alınanlara göre daha fazla bulunmuştur. GST aktivitesi ve lipit peroksidasyonu düzeyi karaciğer ve böbrekte kontrol balıklarına göre yüksek çıkmıştır. GSH düzeyinin karaciğerde azaldığını, böbrekte ise arttığını tespit etmişlerdir.

Kamunde ve MacPhail (2011), *O. mykiss* ile yaptıkları bir çalışmada 28 gün boyunca balıklara besin yoluyla verdikleri Cd, Cu ve Zn'nin kronik toksisitesini incelemişlerdir. Karaciğer, solungaç, böbrek, bağırsak ve mide gibi doku ve organlarda sürenin de ilerlemesiyle önemli oranlarda Cd ve Cu birikimini tespit etmişlerdir. Plazma ve karaciğerde denenen tüm sürelerde Cd ve Cu etkisinde MDA düzeyinin sabit kaldığı, Zn etkisinde ise 7. ve 28. günlerde arttığını gözlemişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

Araştırma materyali olarak kullanılan tatlı su balığı *O. niloticus* örnekleri Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından alınarak 40x120x40 cm boyutlarındaki akvaryumlarda 25 ± 1^{o}C'de günde 8 saat aydınlanma periyodu uygulanarak iki ay süre ile laboratuvar koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Balıklar laboratuvar koşullarına adaptasyonları ve deney süresince, günde 2 defa vücut ağırlıklarının %2'si kadar hazır balık yemi (Pınar Balık Yemi, Türkiye) ile beslenmişlerdir ve denemeden 2 gün önce beslenmeleri kesilmiştir. Bu süre içerisinde balıklar 12.10 ± 0.24 cm boy ve 28.85 ± 0.68 g ağırlığa ulaşmışlardır.

Deney ortam suyunun kimyasal özellikleri;

Toplam sertlik: 352.63 ± 5.14 mg/L $CaCO_3$

pH: 8.19 ± 0.009

Çözünmüş oksijen: 7.35 ± 0.11 mg/L

Akvaryum ısısı: 21.14 ± 0.18 ^{o}C

Deneyler Cu, Cu + Ca ve Cu + EDTA karışımlarının dokulardaki metal birikimleri, detoksifikasyon enzimleri, enzimatik olmayan antioksidantlar, lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini belirlemek amacıyla üç seri olarak yürütülmüştür.

Balıklar birinci seride Cu'nun 0.1, 0.5, 1.0 mg/L Cu, ikinci seride Cu + Ca'nın 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca, 1.0 mg/L Cu + 10 mg/L Ca ve üçüncü seride ise Cu + EDTA'nın 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA ve 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA derişimlerinin etkisine 7, 14 ve 28 gün sürelerle bırakılmıştır. Deneylerin her bir serisinde 40x120x40 cm boyutlarında ve her birinin içerisinde 18 balık bulunan 4 akvaryum kullanılmıştır. Birinci serideki akvaryumlara Cu çözeltileri ikinci serideki akvaryumlara Cu + Ca çözeltileri ve üçüncü serideki akvaryumlara ise Cu + EDTA çözeltilerinden 120'şer litre ve her serideki son akvaryuma ise 120 litre dinlendirilmiş çeşme suyu konularak kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Deneyler 3 tekrarlı olarak yapılmış ve her tekrarda 2 balık kullanılmıştır.

Deney süresince metabolik atıklar, buharlaşma ve çökelme gibi nedenlerle deney akvaryumlarında kullanılan Cu, Ca ve EDTA çözeltilerinin derişimlerinde zaman içerisinde bir değişim olabileceği dikkate alınarak çözeltiler 2 günde bir yeniden hazırlanan taze stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiştir. Deneyde kullanılan metallerin akvaryumlarda cama yapışmasını ve tabana çökmesini önlemek ve homojen dağılmasını sağlamak için trisodyumsitrat [$C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$] çözeltisi kullanılmıştır.

Belirlenen süreler sonunda her derişimden iki balık alınmış çeşme suyu ile yıkanıp boy ve ağırlıkları tespit edilmiştir. Öncelikle balıkların kuyruk bölgesinden kesilerek dorsal aortadan kanları alınmıştır. Daha sonra karaciğer, böbrek, beyin, solungaç ve kas dokuları disekte edilerek soğuk % 0.59 NaCl ile yıkanıp kurutma kağıdı ile kurutulmuşlardır.

Dokular metal ve AChE, GST, tGSH ve MDA analizleri için iki kısma bölünmüştür. Metal analizi için diseksiyondan sonra doku örnekleri etüve konmuştur. Diğer analizler için ise dokuların yaş ağırlıkları alınmış ve analiz süresine kadar -80 ^oC'de saklanmıştır.

Kan örnekleri, tam kanda incelenecek hemoglobin ve metal analizi için içinde çökelmeyi önleyici antikoagülant madde (EDTA) bulunan tüplere ve serum parametrelerinin (serum albumin, bilirubin, transferrin, haptoglobin, glukoz, ürik asit) analizi için plastik tüplere alınmıştır. Serum için alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj (Hettich EBA 8S) edilmiştir.

Elde edilen serum örnekleri eppendorf tüplere aktarılarak Ç.Ü. Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuarındaki otoanalizatör cihazlarında ölçülmüştür. Hemoglobin düzeylerinin belirlenmesi için tam kan örnekleri Ç.Ü. Tıp Fakültesi Balcalı hastanesi Merkez Laboratuarında Coulter LH 750 Analyser aletinde çalışılmıştır.

3.1. Kimyasal Maddeler

Bakır (II) Sülfat	$CuSO_4.5H_2O$	Merck
Kalsiyum Sülfat	$CaSO_4.2H_2O$	Merck
Tri Sodyum Sitrat	$C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$	Merck
Etilendiamin Tetraasetik Asit	EDTA	Merck
Nitrik Asit	HNO_3	Merck
Perklorik Asit	$HClO_4$	Merck
Hidrojen Peroksit	H_2O_2	Merck
Sükroz		Sigma
5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik Asit)	DTNB	Sigma
Asetilkolintiyoiyodür		Sigma
Etopropazin		Sigma
di-Sodyum Hidrojen Fosfat	$Na_2HPO_4.12H_2O$	Merck
Sodyum Dihidrojen Fosfat	$NaH_2PO_4.2H_2O$	Merck
Potasyum Dihidrojen Fosfat	KH_2PO_4	Merck
Sodyum Potasyum Tartarat	$C_4H_4KNaO_6.4H_2O$	Merck
Glutatyon Redüktaz	GR	Sigma
1-kloro-2,4-dinitro-benzen	CDNB	Sigma
2-Tiyobarbitürik Asit	TBA	Merck
Redükte L-Glutatyon	GSH	Sigma
β-Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat	β-NADPH	Sigma
n-Butanol		Merck
Asetik Asit	CH_3COOH	Merck
Folin-Ciocalteu Fenol Ayıracı		Merck
Sığır Serum Albumini		Sigma
Tris Baz	Tris Baz	Sigma
Tris Hidroklorür	Tris HCl	Sigma
Sodyum Dodesil Sülfat	SDS	Sigma
Piridin		Merck
Tiyobarbiturik asit	TBA	Merck
Sodyum Hidroksit	NaOH	Merck
Sodyum Klorür	NaCl	Merck

3.2. Cihazlar

Benmari	Memmert
Buz Makinası	Scotsman AF 20
Ultra Saf Su Cihazı	Millipore
Homojenizatör	IKA T-25
Santrifüj	Hettich EBA 8S
Soğutmalı Santrifüj	Sigma (2-16)
Hassas Terazi	Sartorius
Spektrofotometre	Cecil 5000 Series
Spektrofotometre	Varian
Vortex	Janke&Kunkel VF–2
Derin Dondurucu (-80^{o}C)	Sanyo /MDF – U30865
Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi	Perkin Elmer 3100
Otoanalizatör	Modular DPP
Otoanalizatör	Cobas Integra 800
Analyser	Coulter LH 750

3.3 Metal Düzeyleri

Metal birikiminin belirlenmesi için dokular etüvde 150^{0}C'de 48 saat süreyle kurumaya bırakılmışlardır. Kuru ağırlıkları alınan örnekler cam tüplerin içine alınarak üzerlerine 2 ml HNO_3 (nitrik asit) (Merck, %65, d:1.40) ve 1 ml $HClO_4$ (perklorik asit) (Merck, %60, d:1.53) eklenerek (Muramoto, 1983) çeker ocakta 120 ^{0}C'de 3 saat süreyle yakılmıştır. Tamamen berrak çözelti halini alan örnekler polietilen tüplere aktarılıp saf su ile 5 ml'ye tamamlanarak metal analizine hazır hale getirilmiştir.

Kan dokusundaki Cu düzeylerinin belirlenmesi amacıyla EDTA'lı tüplerden 200 µL taze kan alınarak cam tüplere aktarılmış ve üzerlerine 0.5 mL (1:1 v/v) %35'lik H_2O_2 (hidrojen peroksit) ve HNO_3 (%65; d:1.40) eklenerek çeker ocakta 100 ^{o}C'de bir saat süreyle yakılmıştır (Ince ve Kunc, 1988). Yakımı

tamamlanan örnekler polietilen tüplere alınmış ve saf suyla 2.5 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan kan örnekleri ve dokulardaki Cu birikimi, Perkin Elmer AS 3100 marka Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresiyle saptanmıştır.

Deneylerde elde edilen verilerin istatistik analizleri 'Regresyon analizi' ve 'Student-Newman Keul's Test (SNK)' testleri ile bilgisayarda SPSS 10.0 paket programı uygulanarak yapılmıştır.

3.4 Dokularda İncelenecek Enzimlerin Analiz Yöntemleri

AChE, GST enzim aktivitelerinin, tGSH, MDA ve protein miktarlarının belirlenmesi için dokular 1/10 ağırlık/hacim (w/v) oranında 0.25 M sükroz içeren 0.05 M Na-P tamponu ile (pH 7,4) ultra-turrax homojenizatörde 10000 rpm'de 3 dakika buz içinde homojenize edildikten sonra +4^{o}C'de 9500 devirde 30 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatantlarda AChE, GST enzim aktiviteleri ile tGSH, MDA ve protein miktarları spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

3.4.1. Asetilkolinesteraz Yöntemi

Prensip: Asetilkolinesteraz, asetiltiyokolinin tiyokolin ile asetata parçalanması reaksiyonunu katalizleyen bir enzimdir. AChE aktivitesi, ürün olarak açığa çıkan tiyokolin ile DTNB arasındaki reaksiyonun sonucunda oluşan 5-tiyo-2-nitrobenzoik asidin verdiği sarı rengin yoğunluğunun, pH 8'de spektrofotometrede 412 nm'de ölçülmesi ile belirlenmektedir (Ellman ve ark., 1961).

$$\text{Asetiltiyokoliniyodür} \xrightarrow{\text{AChE}} \text{Tiyokolin} + \text{Asetat}$$

$$\text{Tiyokolin} + \text{DTNB} \longrightarrow \text{5-tiyo-2 nitrobenzoik asit (sarı renk)}$$

Ayıraçlar;

1. 0.1 M Na-K Fosfat Tamponu (pH: 8.0)
2. 0.01 M DTNB
3. 8.52×10^{-3} M Etopropazin

4. 0.015 M Asetilkoliniyodür

Yöntem: Asetilkolinesteraz enzim aktivitesini ölçmek için çözeltiler kör ve örnek küvetlerine çizelgede belirtilen sıra ve miktarlarda konulmuştur (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Asetilkolinesteraz Yöntemi

Çözeltiler	**Kör (µL)**	**Örnek (µL)**
Fosfat Tamponu (0.1M, pH 8.0)	2700	2550
Örnek	200	200
DTNB (0.01M)	100	100
Etopropazin ($8.52x10^{-3}$M)	---	50
30ºC'de 5 dakika inkübe edilir.		
Asetilkolintiyoiyodür (0.015M)	---	100

Spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda 30ºC'de örnek ve kör küvetlerinin 0. ve 5. dakikalardaki absorbans değerleri ölçülmüştür.

Hesaplama;

$$\text{AChE aktivitesi (U/mL)} = \frac{\Delta OD}{t} x \frac{Vt}{Vö} x13.6$$

ΔOD = Zamana göre absorbans değişimi

t = Zaman (5 dakika)

Vt = Toplam hacim (3000 µL)

Vö = Örnek hacmi (200 µL)

13.6 = Ekstinksiyon katsayısı

$$\text{AChE Spesifik Aktivitesi (U/mg protein)} = \frac{\text{AChE Aktivitesi}}{\text{Protein Miktarı}}$$

3.4.2. Glutatyon S-Transferaz Yöntemi

Prensip: Glutatyon S-transferaz, elektrofilik bileşikler ile GSH'ın -SH grubu arasındaki tepkimeyi katalizleyerek bu bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlar. GST aktivitesi, pH:7.4'te GSH ile 1-kloro-2,4-dinitrobenzenin (CDNB) konjugasyonu sırasındaki absorbans farkının 340 nm dalga boyunda ölçülmesi ile bulunmaktadır (Habig ve ark., 1974).

Ayıraçlar;

1. 100 mM Tris Tamponu (pH: 7.4)
2. 1 mM CDNB
3. Redükte Glutatyon

Yöntem: Glutatyon S-transferaz enzim aktivitesini ölçmek için çözeltiler kör ve örnek küvetlerine çizelgede belirtilen sıra ve miktarlarda konulmuştur (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Glutatyon S-Transferaz Yöntemi

Çözeltiler	**Kör (mL)**	**Örnek (mL)**
Tris Tamponu (100mM, pH 7.4)	1100 µL	1050 µL
CDNB (1 mM)	50 µL	50 µL
GSH	50 µL	50 µL
Örnek	---	50 µL

Spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda 25 ºC'de, 2 dakika süresince absorbans değeri ölçülmüştür.

Hesaplama;

$$\text{GST Aktivitesi (}\mu\text{mol/dakika/mL)} = \frac{\Delta OD}{t} \text{ x } \frac{Vt}{0.0096 \text{x} Vö}$$

$$\text{GST Spesifik Aktivitesi (}\mu\text{mol/dakika/mg protein)} = \frac{\text{GST Aktivitesi}}{\text{Protein Miktarı}}$$

ΔOD = Zamana göre absorbans değişimi

Vt = Toplam hacim (1200 µL)

Vö = Örnek hacmi (50 µL)

E_{340} CDNB-GSH konjugasyonu: 9.6 mM^{-1}/cm

3.5 Total Glutatyon Yöntemi

Prensip: DTNB tarafından okside edilen GSH ile GSH'ın ortamdaki diğer çözünebilir tiyol bileşikleri ile oluşturduğu disülfid bağlanmaları ve GSSG (okside glutatyon), GR enzimi varlığında GSH'a dönüşmekte ve bu sırada NADPH, NADP'ye indirgenmektedir. Meydana gelen sarı renkli 2-nitro-5-tiyobenzoik asit miktarı pH:7.5'te 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülmektedir. Absorbans değerleri standart GSH grafiği ile derişim değerlerine dönüştürülerek total GSH miktarı belirlenmektedir (Anderson, 1985).

Ayıraçlar;

1. 143 mM Na-K Fosfat Tamponu (pH: 7.5)
2. 0.3 mM NADPH
3. 6 mM DTNB
4. 50 U/mL GR

Yöntem: Total GSH miktarını ölçmek için çözeltiler kör ve örnek küvetlerine çizelgede belirtilen sıra ve miktarlarda konulmuştur (Çizelge 3.3)

Çizelge 3.3 Total Glutatyon Yöntemi

Çözeltiler	**Kör (mL)**	**Örnek (mL)**
NADPH (0.3 mM)	700	700
DTNB (6 mM)	100	100
Örnek	---	25
Saf su	190	165
30°C'de 3 dakika inkübe edilir.		
Glutatyon Redüktaz (50 U/mL)	10	10

Spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda 30°C'de, 0. ve 3. dakikalarda absorbans değerleri ölçülür. Sonuçlar GSH ile hazırlanan standart grafikten değerlendirilmiştir.

Hesaplama:Çalışma tamponu kullanılarak hazırlanan 1000 ng/mL'lik stok GSH çözeltisi 10, 20, 40, 80 ve 100 ng/mL'lik derişimlerde seyreltilir. Bu çözeltiler çalışma standartlarının hazırlanmasında kullanılır. Total GSH miktarının ölçülmesinde uygulanan yöntem kullanılarak standart grafik çizilir. Elde edilen absorbans değerleri standart grafik kullanılarak derişim değerlerine dönüştürülür.

3.6. Malondialdehid Yöntemi

Lipid peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olan MDA, aerobik koşullarda, pH 3.5'te tiyobarbitürik asit (TBA) ile 95ºC'de 30 dakika inkübasyon sonucunda pembe renkli kompleks oluşturmaktadır. Bu kompleksin spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda ölçülmesiyle lipidlere ait peroksidasyon belirlenmektedir (Ohkawa ve ark., 1979).

Ayıraçlar;

1. %8.1'lik SDS
2. %20'lik Asetik asit (HAc) (pH 3.5)
3. %0.8'lik TBA (pH 3.5)
4. *n*-Butanol-piridin çözeltisi (14/1)
5. Stok standart: 1,1,3,3 tetrametoksipropan (yoğunluk 0.99 g/mL)

Yöntem: MDA miktarını belirlemek için çözeltiler kör ve örnek olmak üzere farklı tüplere tabloda belirtildiği şekilde yerleştirilmiştir (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4 Malondialdehid Yöntemi

Çözeltiler	**Kör (mL)**	**Örnek (mL)**
Örnek	---	0.1
%8.1 SDS	0.2	0.2
%20 HAc	1.5	1.5
%0.8 TBA	1.5	1.5
Saf Su	0.8	0.7
95^{o}C'de 30 dakika inkübe edilir.		
Saf Su	1.0	1.0
n-butanol/pridin	5.0	5.0

Tüpler vortex ile hızlı bir şekilde karıştırılıp 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üstteki organik kısım alınarak spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Sonuçlar standart grafikten değerlendirilmiştir.

Hesaplama:1,1,3,3 tetrametoksipropan kullanılarak 400 nmol/mL'lik hazırlanan stok çözeltiden 10, 20, 40, 60, 80, 100 nmol/mL'lik derişimlerde seyreltmeler yapılarak çalışma standartları hazırlanmıştır. MDA miktarının ölçülmesinde uygulanan yöntem kullanılarak standart grafik çizilmiştir. Elde edilen absorbans değerleri standart grafik kullanılarak derişim değerlerine dönüştürülmüştür.

3.7. Protein Yöntemi

Doku protein miktarları AChE ve GST spesifik enzim aktiviteleri ile MDA ve GSH düzeylerini hesaplamak amacıyla ölçülmüştür.

Peptid bağları alkali ortamda bakır tuzları ile mor renkli kompleks oluşturmaktadır. Aynı zamanda protein yapısındaki trozin ve triptofan aminoasitleri fosfo molibdat – fosfo tungustat çözeltisi (Folin- Ciocelteu) ile indirgenmektedir. İndirgeme süreci içerisinde bakır – protein kompleksleri ile tirozin ve triptofan rezidüleri birleşmektedir. Bu yöntemde proteinler ilk olarak bakır-peptid bağı-protein kompleksini oluşturmak üzere alkali çözeltide Cu ile reaksiyona girmektedir. Renklendirilmiş çözeltinin absorbansı 750 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülmektedir (Lowry ve ark.,1951).

Ayıraçlar;

1. %2'lik alkali Na_2CO_3 çözeltisi
2. Bakır sülfat-sodyum potasyum tartarat çözeltisi (%1'lik $CuSO_4.5H_2O$, %2'lik Na-K tartarat)
3. Günlük alkali çözelti (50 mL alkali Na_2CO_3 çözeltisi + 1 mL Bakır sülfat-sodyum potasyum tartarat çözeltisi)
4. Folin-Ciocalteu çözeltisi (1 mL Folin-Ciocalteu + 1.5 mL saf su)

Yöntem: Protein miktarını belirlemek için çözeltiler kör ve örnek olmak üzere farklı tüplere tabloda belirtildiği şekilde yerleştirilmiştir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5 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 sıcaklığında 30 dakika bekletilmiş ve spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Sonuçlar sığır serum albumini kullanılarak hazırlanan standart grafikten değerlendirilmiştir.

Hesaplama:Sığır serum albumini kullanılarak 1000 µg/mL'lik derişimde hazırlanan stok protein çözeltisi 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL derişimlerde seyreltilir. Hazırlanan bu standartlar protein miktarlarının ölçülmesinde uygulanan yöntemle çalışılarak standart grafik çizilir. Örneklerin içerdiği protein miktarları bu standart grafik kullanılarak derişim değerlerine dönüştürülür.

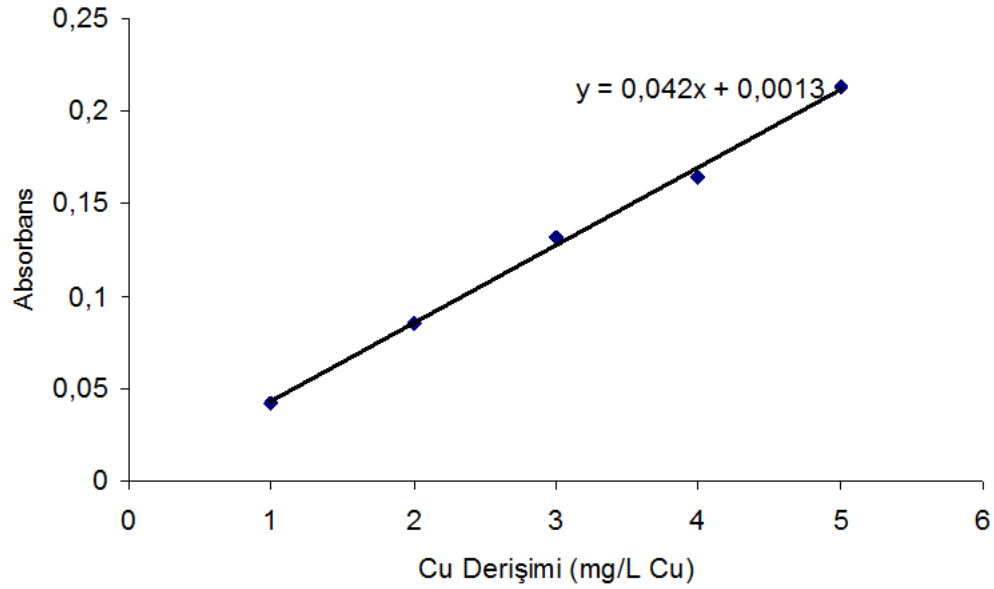
4. BULGULAR

Bu araştırmada Cu ile Cu + Ca ve Cu + EDTA karışımlarının farklı ortam derişimlerinin etkisine 7, 14 ve 28 günlük sürelerle bırakılan *O. niloticus*'da dokulardaki Cu birikimi, detoksifikasyon enzimleri (AChE, GST), enzimatik olmayan antioksidantlar (GSH, serum albumin, bilirubin, transferrin, hemoglobin, haptoglobin, glukoz, ürik asit), lipid peroksidasyonu incelenmiştir.

4.1. Bakır Birikimi

Dokularda Cu düzeylerini belirlemek amacıyla Cu standartları ve absorbans arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon doğrusu kullanılmış ve Y= 0.042X+0.0013 regresyonu bulunmuştur (Şekil 4.1). Formülde X değeri Cu derişimini, Y değeri de absorbansı göstermektedir.

O. niloticus'da belirlenen derişim ve sürelerde her doku için üç tekrarlı olarak saptanan Cu düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları ile istatistik analizleri Çizelge 4.1 – 4.3'te verilmiştir. Belirli bir süre sonunda Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının ve aynı derişimde bakır birikimi bakımından dokular arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla veriler SNK testi ile analiz edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1 – 4.3'te verilmiştir. Çizelgede a,b, c ve d harfleri Cu ile Cu karışımları etkisinde metal birikimleri arasındaki ayrımı, x, y ve z harfleri dokular arası ayrımı belirlemek için kullanılmıştır. Çizelgede farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.



Şekil 4.1. Cu derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde, 7. günde Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımlarının etkisinde *O. niloticus*'un incelenen dokularında Cu birikiminin arttığı saptanmıştır. Aynı ortam derişiminde bakır birikimi bakımından böbrek ve karaciğer organları arasında önemli istatistik ayrım bulunmuştur. Denenen tüm koşullarda bakır birikimi en fazla karaciğerde olmuş, bunu böbrek, solungaç, kas ve beyin dokusu izlemiştir. Cu, Cu + Ca karışımı arasında kas ve beyin dokusu hariç birikim bakımından doğrudan Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında önemli ayrımlar olduğu belirlenmiştir. Cu + EDTA karışımında Cu'nun doğrudan etkisine oranla beyin, kas, solungaç, böbrek ve karaciğerde sırasıyla %56, %65, %75, %50 ve %28 azalma gözlenmiştir (Çizelge 4.1; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.1. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde 7. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.).

	DERİŞİM (mg/L)			
	0.0	0.1 Cu	0.1 Cu+1.0 Ca	0.1 Cu + 0.3 EDTA
ORGAN	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
Beyin	D. A.	1.26±0.17 **ax**	0.80±0.15 **bx**	0.55±0.19 **cx**
Kas	D. A.	2.68±0.16 **ax**	1.88±0.39 **abx**	0.95±0.27 **bx**
Solungaç	D. A.	12.98±0.52 **ay**	5.10±0.42 **bx**	3.20±0.30 **cy**
Böbrek	0.25±0.009 **a**	20.83±0.29 **bz**	18.17±0.39 **cy**	10.50±0.23 **dz**
Karaciğer	1.26±0.006 **a**	199.8±0.95 **bt**	164.1±1.31 **cz**	143.2±1.49 **dt**

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

D. A. : Duyarlılık düzeyi altı

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

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde, 14. günde bakır birikiminin denenen tüm dokularda Cu'nun doğrudan etkisine oranla Cu karışımlarında önemli düzeylerde azalma gösterdiği belirlenmiştir. *O. niloticus*'da aynı ortam derişiminde bakır birikimi bakımından kas ve beyin dokusu hariç, doku ve organlar arasında istatistik ayrım vardır. Cu + EDTA etkisinde kalan balıklar doğrudan Cu'nun etkisine bırakılanlar ile kıyaslandığında Cu birikiminin oldukça azaldığı ve bu azalmanın istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.2. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde 14. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.).

	DERİŞİM (mg/L)			
	0.0	0.1 Cu	0.1 Cu+1.0 Ca	0.1 Cu + 0.3 EDTA
ORGAN	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
Beyin	D. A.	3.01±0.42 **ax**	2.24±0.35 **abx**	1.40±0.26 **bx**
Kas	D. A.	3.52±0.20 **ax**	2.09±0.08 **ax**	1.47±0.23 **bx**
Solungaç	D. A.	14.78±0.32 **ay**	11.88±0.69 **by**	6.49±0.12 **cy**
Böbrek	0.23±0.012 **a**	32.72±0.15 **bz**	23.32±0.73 **cz**	16.44±0.19 **dz**
Karaciğer	1.25±0.009 **a**	260.6±2.71 **bt**	248.6±1.85 **ct**	206.1±0.37 **dt**

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

D. A. : Duyarlılık düzeyi altı

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

O. niloticus'da 28. günde 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde bakır birikimi bakımından solungaç, karaciğer ve böbrek dokusu arasında önemli istatistik ayrım bulunmuştur. Beyin dokusu hariç bakır birikimi bakımından doğrudan Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında önemli istatistik ayrım vardır. Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımlarının etkisine bırakılan balıkların dokularında bakır birikimi, doğrudan Cu etkisine bırakılanlara göre azaldığı belirlenmiştir. Cu + EDTA karışımında bu azalma daha fazla olmuştur (Çizelge 4.3; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.3. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde 28. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.).

	DERİŞİM (mg/L)			
	0.0	0.1 Cu	0.1 Cu+1.0 Ca	0.1 Cu + 0.3 EDTA
ORGAN	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
Beyin	D. A.	5.11±0.71 **ax**	4.83±0.44 **ax**	3.66±0.10 **ax**
Kas	D. A.	5.64±0.42 **ax**	4.76±0.60 **bx**	2.50±0.10 **cx**
Solungaç	D. A.	16.96±0.68 **ay**	10.72±0.17 **by**	8.54±0.12 **cy**
Böbrek	0.26±0.003 **a**	41.50±0.60 **bz**	30.41±0.24 **cz**	13.63±0.26 **dz**
Karaciğer	1.25±0.015 **a**	306.2±2.92 **bt**	252.1±1.37 **ct**	233.6±0.41 **dt**

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

D. A. : Duyarlılık düzeyi altı

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

O. niloticus'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde 7, 14 ve 28. günlerde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi Çizelge 4.4-4.6'da gösterilmiştir.

O. niloticus'da 7. günde 0.5 mg/L ortam derişiminde kas ve beyin dokusu hariç bakır birikimi bakımından doku ve organlar arasında önemli istatistik ayrım bulunmuştur. Denenen her üç koşulda da bakır birikimi en fazla karaciğerde olmuş bunu sırayla böbrek, solungaç, kas ve beyin dokusu izlemiştir. Doğrudan Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında beyin dokusu hariç, birikim bakımından ayrım istatistiksel olarak önemli olmuştur (Çizelge 4.4; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.4. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde 7. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.).

	DERİŞİM (mg/L)			
	0.0	0.5 Cu	0.5 Cu+5.0 Ca	0.5 Cu + 1.5 EDTA
ORGAN	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
Beyin	D. A.	2.56±0.22 **ax**	2.50±0.10 **ax**	1.04±0.10 **bx**
Kas	D. A.	3.26±0.10 **ax**	2.59±0.35 **ax**	1.17±0.40 **bx**
Solungaç	D. A.	21.39±0.29 **ay**	16.38±0.20 **by**	10.45±0.10 **cy**
Böbrek	0.25±0.009 **a**	28.83±0.10 **bz**	19.33±0.64 **cz**	13.25±0.01 **dy**
Karaciğer	1.26±0.006 **a**	317.5±1.34 **bt**	302.3±1.20 **ct**	275.2±1.75 **dz**

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

D. A. : Duyarlılık düzeyi altı

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

0.5 mg/L ortam derişiminde 14. günde *O. niloticus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokusu arasında bakır birikimi bakımından önemli istatistik ayrım bulunmaktadır. Doğrudan Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında istatistik olarak önemli ayrımlar olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5; SNK, $P<0.05$). Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımlarına bırakılan balıkların dokularındaki Cu birikimi, doğrudan Cu'nun etkisine bırakılan balıklara göre oldukça azaldığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde 14. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.).

	DERİŞİM (mg/L)			
	0.0	0.5 Cu	0.5 Cu+5.0 Ca	0.5 Cu + 1.5 EDTA
ORGAN	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
Beyin	D. A.	3.42±0.10 **ax**	3.05±0.01 **bx**	2.34±0.18 **cx**
Kas	D. A.	4.29±0.11 **ax**	3.07±0.26 **bx**	2.83±0.10 **bx**
Solungaç	D. A.	28.33±0.62 **ay**	19.13±0.30 **by**	11.43±0.16 **cy**
Böbrek	0.23±0.012 **a**	47.72±0.49 **bz**	24.50±0.45 **cz**	14.64±0.12 **dz**
Karaciğer	1.26±0.009 **a**	358.6±1.73 **bt**	326.2±2.48 **ct**	283.1±1.50 **dt**

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

D. A. : Duyarlılık düzeyi altı

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

O. niloticus'da 28. günde 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde kas ve beyin dokusu dışında kalan dokularda bakır birikimi bakımından önemli farklılıklar bulunmaktadır. Doğrudan Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında istatistik ayrımın önem taşıdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.6; SNK, $P<0.05$). Cu + EDTA karışımına bırakılan balıkların dokularındaki Cu birikiminin doğrudan Cu'nun etkisine bırakılan balıklara göre oldukça azaldığı saptanmıştır.

Çizelge 4.6. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde 28. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.).

	DERİŞİM (mg/L)			
	0.0	0.5 Cu	0.5 Cu+5.0 Ca	0.5 Cu + 1.5 EDTA
ORGAN	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
Beyin	D. A.	6.22±0.37 **ax**	4.68±0.10 **bx**	3.53±0.23 **cx**
Kas	D. A.	6.64±0.15 **ax**	4.35±0.10 **bx**	2.77±0.13 **cx**
Solungaç	D. A.	33.26±0.53 **ay**	24.57±0.80 **by**	15.94±0.10 **cy**
Böbrek	0.26±0.003 **a**	59.02±0.69 **bz**	38.99±0.48 **cz**	17.63±0.24 **dz**
Karaciğer	1.25±0.015 **a**	405.9±1.81 **bt**	369.0±0.92 **ct**	310.6±1.27 **dt**

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

D. A. : Duyarlılık düzeyi altı

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

O. niloticus'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde 7, 14 ve 28. günlerde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi Çizelge 4.7-4.9'da gösterilmiştir.

1.0 mg/L ortam derişiminde 7. günde kas ve beyin dokusu hariç bakır birikimi bakımından doku ve organlar arasında istatistik ayrım önem taşımaktadır. Cu ve Cu karışımlarının etkisinde bakır birikimi en fazla karaciğerde olmuş bunu sırasıyla böbrek, solungaç, kas ve beyin dokusu izlemiştir. Doğrudan Cu'nun etkisine oranla karışımların etkisindeki balıklarda, bakır birikiminin azaldığı ve bu azalmanın istatistik olarak önem taşıdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.7; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.7. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde 7. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.).

	DERİŞİM (mg/L)			
	0.0	1.0 Cu	1.0 Cu+10.0 Ca	1.0 Cu+3.0 EDTA
ORGAN	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
Beyin	D. A.	3.41±0.22 **ax**	2.09±0.37 **bx**	1.39±0.12 **bx**
Kas	D. A.	5.43±0.23 **ax**	4.03±0.23 **bx**	2.38±0.10 **cx**
Solungaç	D. A.	26.98±1.02 **ay**	20.75±0.30 **by**	15.81±0.27 **cy**
Böbrek	0.25±0.009 **a**	41.69±0.87 **bz**	33.86±0.87 **cz**	20.83±0.75 **dz**
Karaciğer	1.26±0.006 **a**	398.2±1.49 **bt**	367.3±1.45 **ct**	327.3±1.60 **dt**

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

D. A. : Duyarlılık düzeyi altı

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

O. niloticus'da 14. günde 1.0 mg/L ortam derişiminde bakır birikimi bakımından solungaç, karaciğer ve böbrek dokusu arasında önemli istatistik ayrım bulunmuştur. Cu + Ca ve Cu + EDTA karışımlarına bırakılan balıkların dokularındaki Cu birikiminin doğrudan Cu'nun etkisine bırakılan balıklara göre oldukça düşük olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.8; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.8. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde 14. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.).

	DERİŞİM (mg/L)			
	0.0	1.0 Cu	1.0 Cu+10.0 Ca	1.0 Cu+3.0 EDTA
ORGAN	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
Beyin	D. A.	4.26±0.44 **ax**	3.21±0.14 **bx**	1.46±0.12 **cx**
Kas	D. A.	6.64±0.17 **ax**	4.40±0.51 **bx**	2.08±0.31 **cx**
Solungaç	D. A.	34.03±0.67 **ay**	23.88±0.36 **by**	16.65±0.24 **cy**
Böbrek	0.23±0.012 **a**	62.20±0.64 **bz**	38.24±0.67 **cz**	25.52±0.55 **dz**
Karaciğer	1.26±0.009 **a**	433.9±1.22 **bt**	370.6±1.50 **ct**	334.0±1.86 **dt**

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

D. A. : Duyarlılık düzeyi altı

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

1.0 mg/L ortam derişiminde 28. günde beyin ve kas dokusu hariç *O. niloticus*'un dokularında bakır biriktirme bakımından önemli farklılıklar bulunmaktadır. Doğrudan Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında istatistik ayrımın önem taşıdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.9; SNK, $P<0.05$). Cu + EDTA karışımına bırakılan balıkların dokularındaki bakır birikimi doğrudan Cu'nun etkisine bırakılan balıklara oranla oldukça azaldığı belirlenmiştir. 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca karışımına bırakılan balıkların dokularındaki bakır birikimi doğrudan Cu'nun etkisine bırakılan balıklara oranla oldukça azalmaktadır.

Çizelge 4.9. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde 28. günde dokularda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg Cu/g k.a.).

	DERİŞİM (mg/L)			
	0.0	1.0 Cu	1.0 Cu+10.0 Ca	1.0 Cu+3.0 EDTA
ORGAN	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
Beyin	D. A.	7.79±0.10 **ax**	4.85±0.43 **bx**	2.48±0.17 **cx**
Kas	D. A.	9.92±0.31 **ax**	6.00±0.37 **bx**	3.12±0.34 **cx**
Solungaç	D. A.	46.92±1.03 **ay**	24.45±0.66 **by**	15.60±1.19 **cy**
Böbrek	0.26±0.003 **a**	87.21±0.85 **bz**	59.78±0.30 **cz**	27.46±1.21 **dz**
Karaciğer	1.25±0.015 **a**	498.7±1.17 **bt**	464.8±1.22 **ct**	413.7±1.42 **dt**

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

D. A. : Duyarlılık düzeyi altı

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

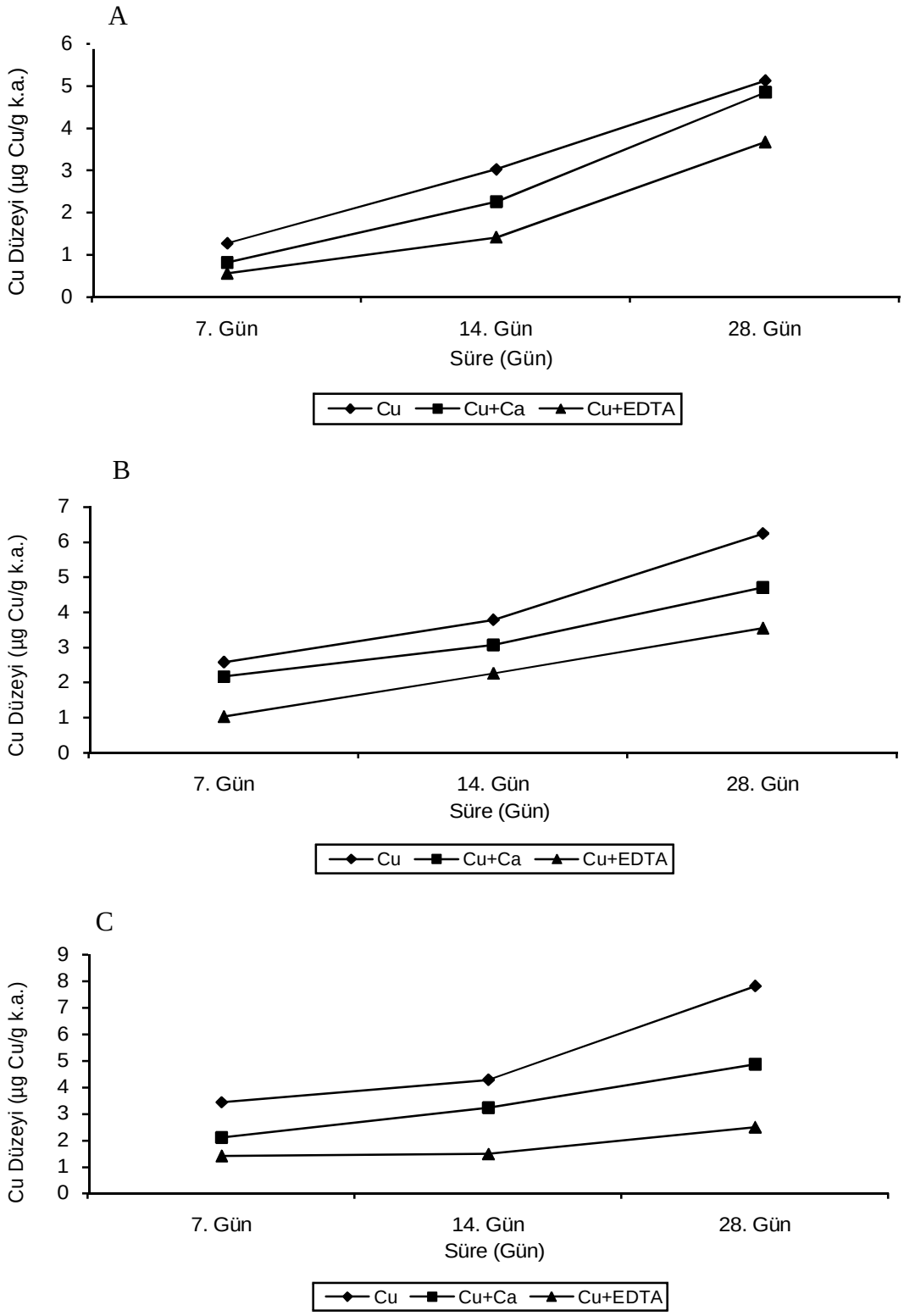
O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde beyin dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi Şekil 4.2 A, B ve C'de (SNK, $P<0.05$) verilmiştir.

0.1 mg/L ortam derişiminde beyin dokusundaki Cu birikimi, hem Cu'nun tek başına hem de Cu + Ca ve Cu + EDTA karışımının etkisinde süreye bağlı olarak önemli düzeyde artış göstermiştir. Süreye bağlı olarak beyin dokusunda gözlenen bakır düzeylerindeki artış Cu'nun doğrudan etkisine oranla Cu karışımlarında daha düşük olduğu belirlenmiştir. Cu'nun doğrudan etkisinde beyin dokusundaki Cu birikimi 7. güne oranla 14. ve 28. günlerde sırasıyla yaklaşık 2 kat ve 4 katlık bir artış göstermiştir (Şekil 4.2 A).

0.5 mg/L Cu derişiminde beyin dokusunda bakır düzeyleri Cu ve Cu karışımlarının etkisinde sürenin uzamasıyla artmıştır. Sürenin uzamasıyla beyin dokusundaki bakır düzeylerindeki artış, Cu'nun doğrudan etkisine oranla Cu karışımlarında daha düşük olduğu belirlenmiştir. 28. günde Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarındaki balıkların beyin dokusundaki Cu birikimi, doğrudan Cu'nun etkisine bırakılan balıklara göre sırasıyla %43 ve %25 düzeyinde bir azalma göstermiştir (Şekil 4.2 B).

1.0 mg/L Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca derişiminde beyin dokusundaki Cu birikimi süreye bağlı olarak artış göstermiştir. Süreye bağlı olarak gözlenen Cu

düzeylerindeki artış Cu'nun doğrudan etkisine kıyasla Cu karışımlarında daha düşük olmuştur. 28 günlük süre sonunda Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarındaki bakır düzeyi doğrudan Cu'nun etkisine göre sırasıyla yaklaşık 3 kat ve 2 katlık bir azalma göstermiştir (Şekil 4.2 C).



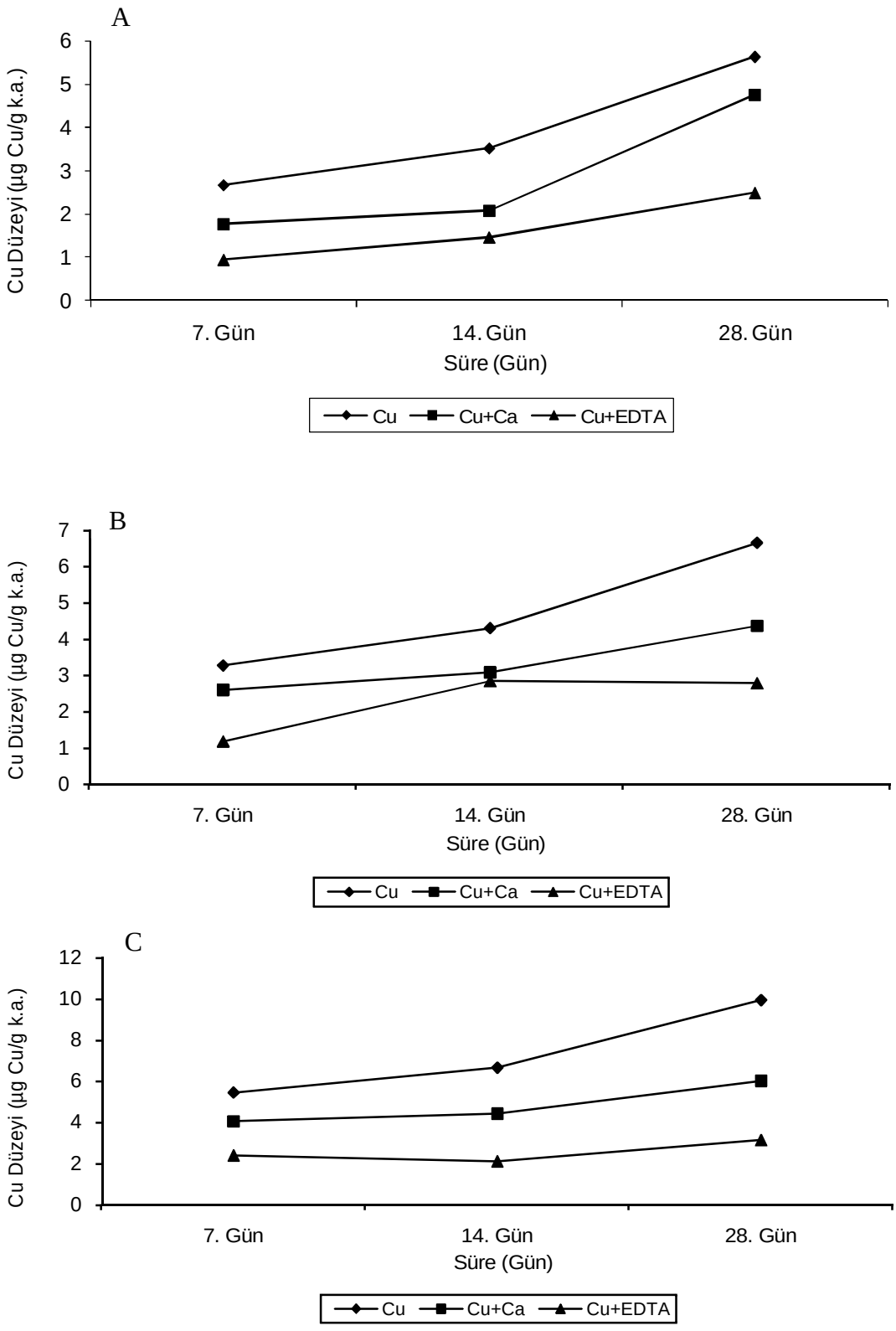
Şekil 4.2. *O. niloticus*'da beyin dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimleri ve sürenin etkisi (A: 0.1 mg/L Cu, B: 0.5 mg/L Cu, C: 1.0 mg/L Cu).

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde kas dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi Şekil 4.3 A, B ve C'de (SNK, $P<0.05$) verilmiştir.

0.1 mg/L ortam derişiminde kas dokusundaki Cu birikimi Cu ve Cu karışımlarının etkisinde sürenin uzamasıyla önemli düzeyde artmıştır. 28. günde Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarında kas dokusundaki bakır düzeylerinde, doğrudan Cu etkisindeki balıklara oranla sırasıyla %56 ve %16 düzeyinde bir azalma olduğu saptanmıştır (Şekil 4.3 A).

0.5 mg/L Cu ve Cu karışımlarında etkide kalınan sürenin uzamasına bağlı olarak kas dokusundaki Cu birikiminde önemli artış kaydedilmiştir. Sürenin uzamasıyla kas dokusundaki bakır düzeylerindeki artış Cu'nun doğrudan etkisine oranla Cu karışımlarında daha düşük olmuştur. Doğrudan Cu etkisinde kas dokusundaki Cu düzeyi 7. güne oranla 14. ve 28. günlerde sırasıyla %32 ve %104 oranlarında arttığı saptanmıştır (Şekil 4.3 B).

1.0 mg/L ortam derişiminde kas dokusunda Cu düzeyleri Cu ve Cu karışımlarının etkisinde sürenin uzamasıyla artmıştır. Denenen tüm sürelerin sonlarında dokudaki Cu birikimi yalnız Cu etkisine oranla Cu karışımlarında önemli düzeyde azalmıştır. 7. günde Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerindeki balıkların kas dokusundaki bakır birikimi Cu'nun doğrudan etkisine oranla sırasıyla %56 ve %26 düzeyinde bir azalma göstermiştir (Şekil 4.3 C).



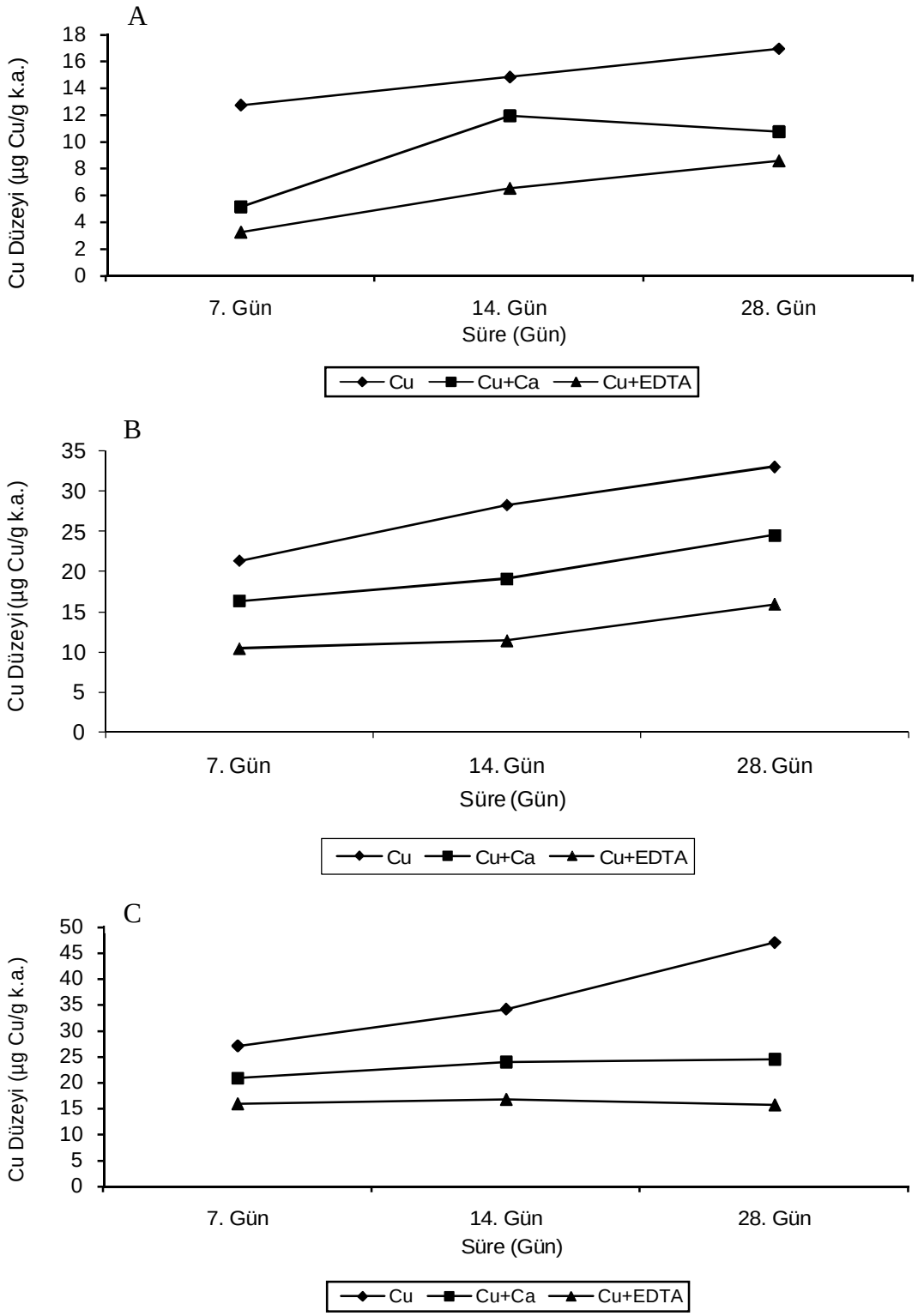
Şekil 4.3. *O. niloticus*'da kas dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimleri ve sürenin etkisi (A: 0.1 mg/L Cu, B: 0.5 mg/L Cu, C: 1.0 mg/L Cu).

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde solungaç dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi Şekil 4.4 A, B ve C'de (SNK, $P<0.05$) verilmiştir.

0.1 mg/L Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde solungaç dokusundaki Cu birikimi etkide kalınan sürenin uzamasıyla önemli oranda artmıştır. Süreye bağlı olarak solungaç dokusunda gözlenen bakır düzeylerindeki artış, Cu'nun doğrudan etkisine oranla Cu karışımlarında daha düşük olduğu belirlenmiştir. 7 günlük süre sonunda Cu + Ca ve Cu + EDTA karışımlarındaki balıkların solungaç dokusundaki Cu birikimi, doğrudan Cu'nun etkisine bırakılan balıklara göre sırasıyla yaklaşık 4 kat ve 2.5 katlık bir azalma göstermiştir (Şekil 4.4 A).

0.5 mg/L Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA ortam derişimlerinin etkisinde denenen sürenin uzamasıyla solungaç dokusunda Cu birikimi önemli düzeyde artış göstermiştir. Sürenin uzamasıyla solungaç dokusundaki Cu düzeylerindeki artış Cu'nun doğrudan etkisine oranla Cu karışımlarında daha düşük olduğu saptanmıştır (Şekil 4.4 B).

1.0 mg/L Cu, Cu + Ca ve Cu + EDTA karışımlarının etkisinde solungaç dokusundaki Cu birikimi etkide kalınan sürenin uzamasıyla önemli oranda artmıştır. 28. günün sonunda doğrudan Cu etkisindeki balıkların solungaç dokusundaki Cu birikimi Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarına oranla sırasıyla %67 ve %48 oranlarında daha yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 4.4 C).



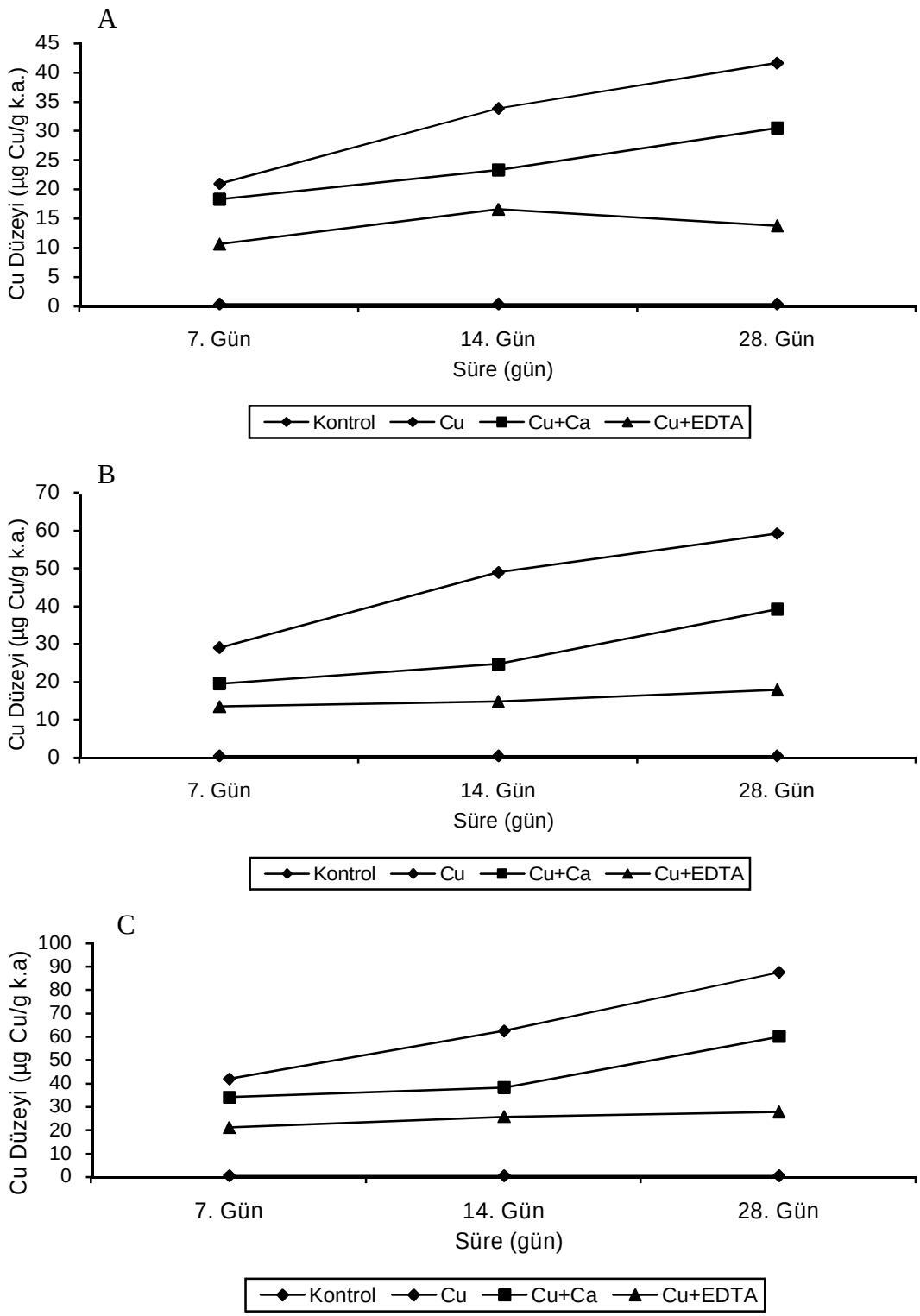
Şekil 4.4. *O. niloticus*'da solungaç dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimleri ve sürenin etkisi (A: 0.1 mg/L Cu, B: 0.5 mg/L Cu, C: 1.0 mg/L Cu).

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde böbrek dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi Şekil 4.5 A, B ve C'de (SNK, $P<0.05$) verilmiştir.

0.1 mg/L Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde böbrek dokusundaki Cu birikimi etkide kalınan sürenin uzamasıyla önemli artış göstermiştir. Böbrek dokusunda bakır düzeyindeki bu artış, Cu'nun doğrudan etkisine oranla Cu karışımlarında daha düşük olduğu saptanmıştır. Cu + Ca karışımında ise önce azalmış daha sonra artmıştır. 28 günlük süre sonunda doğrudan Cu etkisinde kalan balıkların böbrek dokusunda Cu birikimi 7 ve 14. günlere göre sırasıyla %57 ve %99 oranında artış göstermiştir (Şekil 4.5 A).

0.5 mg/L ortam derişiminde böbrek dokusundaki bakır birikimi hem Cu'nun tek başına hem de Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımının etkisinde süreye bağlı olarak önemli düzeyde artış göstermiştir. 28. günde Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarındaki balıkların böbrek dokusundaki Cu birikimi doğrudan Cu'nun etkisindeki balıklara göre sırasıyla %70 ve %34 düzeyinde bir azalma göstermiştir (Şekil 4.5 B).

1.0 mg/L Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde böbrek dokusunda Cu düzeyi etkide kalınan süreye bağlı olarak önemli düzeyde artış göstermiştir. Cu düzeylerindeki bu artış Cu'nun doğrudan etkisinde Cu karışımlarına oranla daha fazla olduğu saptanmıştır. 28. günde Cu birikimi Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarındaki balıkların böbrek dokusundaki Cu birikimi yalnız Cu'nun etkisinde kalanlara göre %69 ve %31 oranında azalma göstermiştir (Şekil 4.5 C).



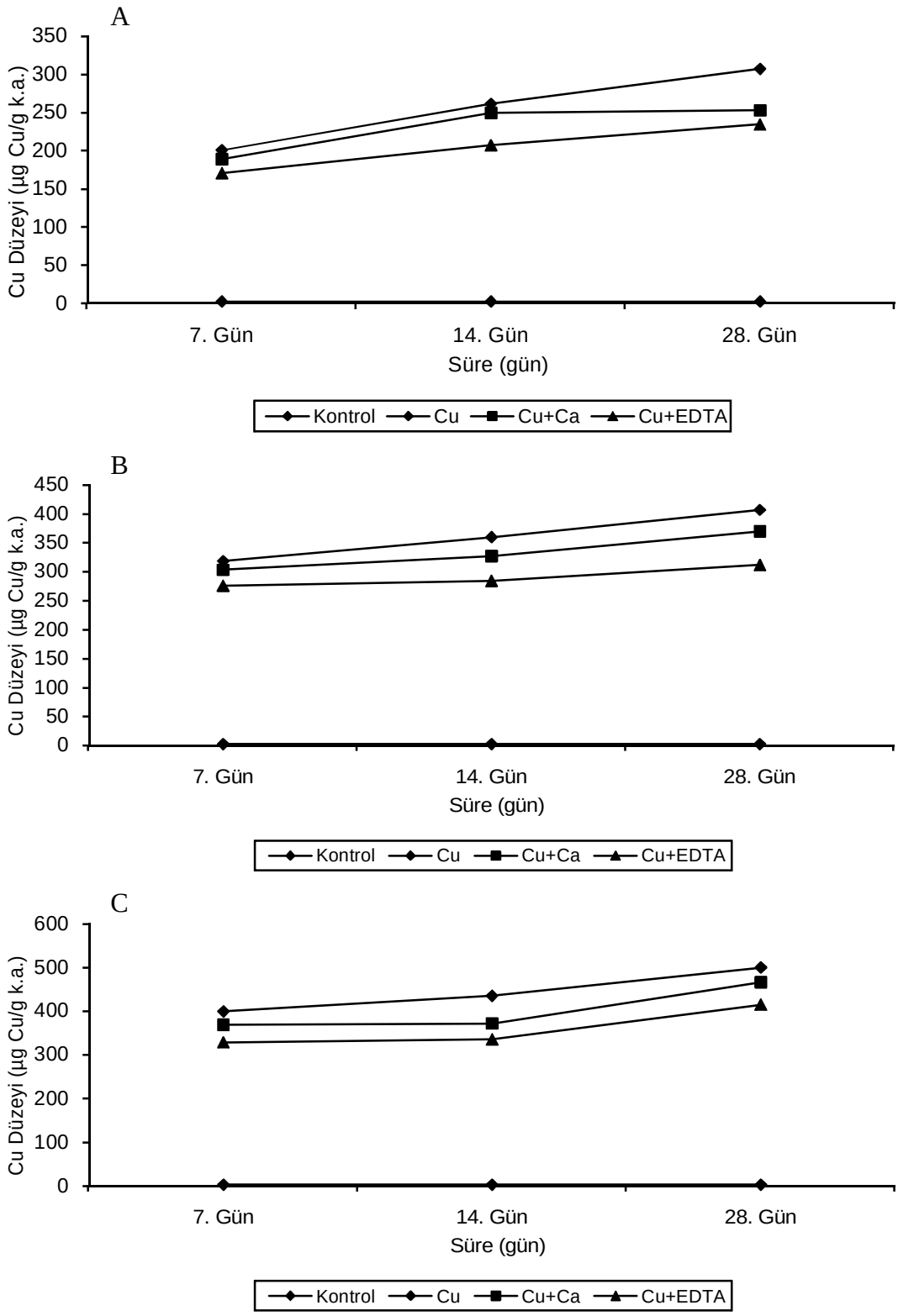
Şekil 4.5. *O. niloticus*'da böbrek dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimleri ve sürenin etkisi (A: 0.1 mg/L Cu, B: 0.5 mg/L Cu, C: 1.0 mg/L Cu).

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde karaciğer dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi Şekil 4.6 A, B ve C'de (SNK, $P<0.05$) verilmiştir.

0.1 mg/L Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde karaciğer dokusundaki Cu birikimi etkide kalınan sürenin uzamasıyla önemli düzeyde artış göstermiştir. Karaciğerdeki Cu düzeyindeki bu artış Cu'nun doğrudan etkisine oranla Cu karışımlarında azalmıştır. 7 günlük süre sonunda doğrudan Cu'nun etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki Cu birikimi Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarına oranla sırasıyla %15 ve %6 daha fazla çıkmıştır (Şekil 4.6 A).

0.5 mg/L ortam derişimlerinde karaciğer dokusundaki Cu birikimi Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımlarının etkisinde süreye bağlı olarak önemli düzeyde artış göstermiştir. Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının, Cu derişiminin doğrudan etkisine oranla daha düşük düzeylerde azaldıkları gözlenmiştir. 14. günde Cu'nun tek başına etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki birikim Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerine kıyasla sırasıyla %21 ve %9 oranında yüksek bulunmuştur (Şekil 4.6 B).

1.0 mg/L Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde karaciğer dokusunda bakır düzeyi etkide kalınan süreye bağlı olarak artmıştır. Bakır düzeylerindeki bu artış Cu'nun doğrudan etkisinde kalan balıklarda Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımlarındaki balıklara oranla daha yüksek olmuştur (Şekil 4.6 C).



Şekil 4.6. *O. niloticus*'da karaciğer dokusunda Cu birikimi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimleri ve sürenin etkisi (A: 0.1 mg/L Cu, B: 0.5 mg/L Cu, C: 1.0 mg/L Cu).

O. niloticus'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde 7, 14 ve 28. günlerde kan dokusunda Cu düzeyi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi Çizelge 4.10-4.12'de gösterilmiştir.

Belirli bir süre sonunda *O. niloticus*'un kan dokusundaki bakır düzeyi hem Cu'nun doğrudan hem de Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımlarının etkisinde artış göstermiştir. Denenen tüm sürelerde karışımın etkisindeki balıklarla doğrudan Cu etkisindeki balıkların kan dokusundaki bakır düzeyleri arasında önemli bir istatistik ayrım vardır (Çizelge 4.10-4.12; SNK, $P<0.05$). Denenen tüm ortam derişimlerinde kan dokusunda bakır düzeyi, karışımların etkisindeki balıklara oranla doğrudan Cu'nun etkisinde kalan balıklarda daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Tüm ortam derişimlerinde kan dokusundaki bakır düzeyi hem Cu'nun tek başına hem de Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımlarının etkisinde süreye bağlı olarak artmıştır (Çizelge 4.10-4.12; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.10. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde kan dokusunda Cu düzeyi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg/mL).

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	0.045±0.006 **ax**	0.041±0.008 **ax**	0.042±0.003 **ax**
0.1 Cu	0.188±0.004 **bx**	0.285±0.004 **by**	0.341±0.004 **bz**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.093±0.004 **cx**	0.229±0.005 **cy**	0.282±0.005 **cz**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.123±0.005 **dx**	0.251±0.004 **dy**	0.327±0.001 **dz**

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

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

Çizelge 4.11. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde kan dokusunda Cu düzeyi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg/mL).

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.045±0.006 **ax**	0.041±0.008 **ax**	0.042±0.003 **ax**
0.5 Cu	0.200±0.004 **bx**	0.323±0.005 **by**	0.383±0.003 **bz**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.092±0.005 **cx**	0.257±0.003 **cy**	0.299±0.004 **cz**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.167±0.007 **dx**	0.281±0.003 **dy**	0.327±0.004 **dz**

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

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

Çizelge 4.12. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde kan dokusunda Cu düzeyi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi (µg/mL).

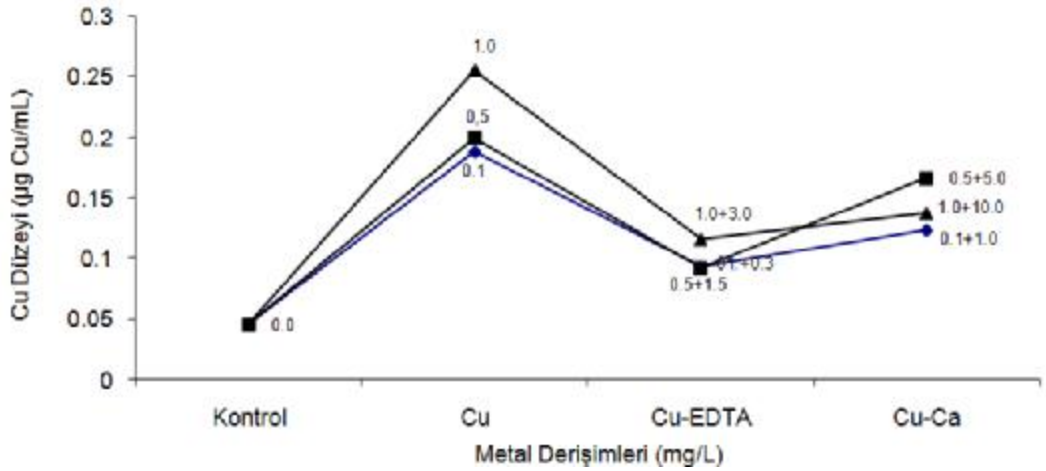
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.045±0.006 **ax**	0.041±0.008 **ax**	0.042±0.003 **ax**
1.0 Cu	0.256±0.003 **bx**	0.425±0.005 **by**	0.490±0.004 **bz**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.116±0.003 **cx**	0.277±0.006 **cy**	0.347±0.001 **cz**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.138±0.004 **dx**	0.306±0.004 **dy**	0.373±0.004 **dz**

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

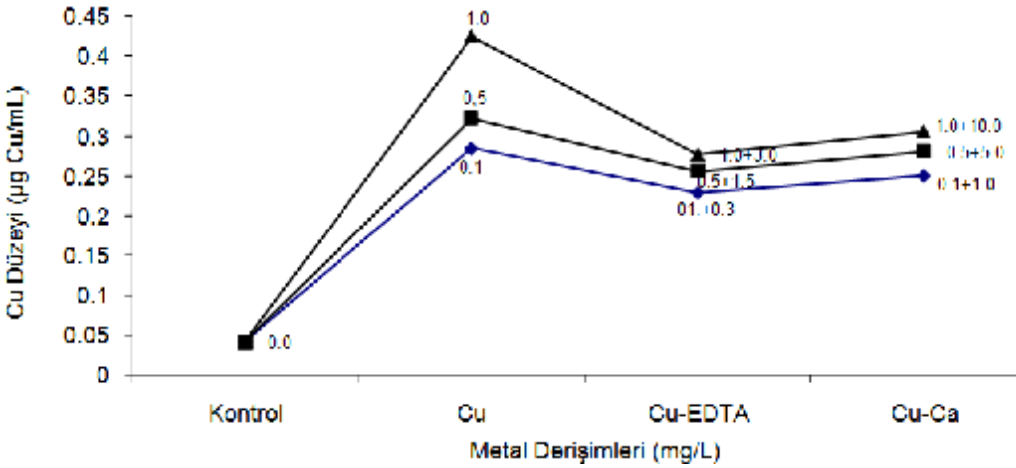
$\overline{X} \pm S\overline{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde kan dokusunda Cu düzeyi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi şekil 4.7-4.9'da (SNK; P<0.05) verilmiştir.

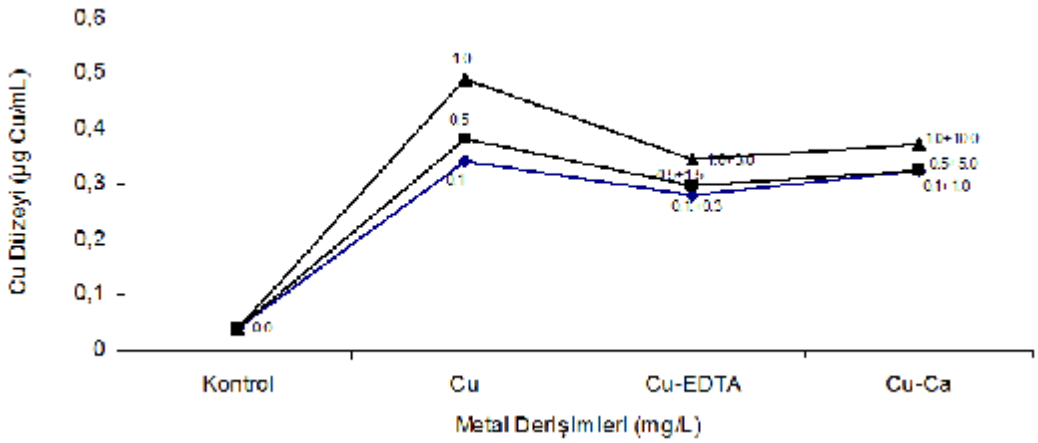
Denenen tüm sürelerde Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA ortam derişimleri arttıkça kan dokusundaki bakır düzeyi de artmıştır. Denenen tüm ortam derişimlerinde ve tüm sürelerde bakır düzeyindeki artış, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarına oranla Cu'nun tek başına etkisinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Denenen tüm ortam derişimlerinde EDTA'nın bakır birikimini engelleyici etkisinin kalsiyumdan daha fazla olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7 - 4.9).



Şekil 4.7. 7. günde *O. niloticus*'da kan dokusunda Cu düzeyi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimlerinin etkisi.



Şekil 4.8. 14. günde *O. niloticus'da* kan dokusunda Cu düzeyi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimlerinin etkisi.



Şekil 4.9. 28. günde *O. niloticus*'da kan dokusunda Cu düzeyi üzerine Ca ve EDTA ortam derişimlerinin etkisi.

4.2. Cu ve Cu – Ca, Cu – EDTA Karışımlarının Detoksifikasyon Enzim Aktivitelerine Etkileri

4.2.1. Karaciğer Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde karaciğer dokusundaki AChE aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.13-4.15'te gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde denenen tüm sürelerde AChE aktivitesi kontrole göre önemli düzeyde azalırken 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ve 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca karışımlarında her üç sürede de kontrole göre önemli bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.13; SNK, $P<0.05$). AChE aktivitesinde gözlenen azalmalar Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir ($P<0.05$). Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA düşük ortam derişimlerinde süreye bağlı olarak karaciğer AChE aktivitesinde önemli bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.13. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.083±0.005 **ax**	0.084±0.004 **ax**	0.087±0.005 **ax**
0.1 Cu	0.062±0.002 **bx**	0.054±0.003 **bx**	0.052±0.002 **bx**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.071±0.005 **abx**	0.071±0.004 **ax**	0.081±0.006 **ax**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.079±0.003 **ax**	0.078±0.004 **ax**	0.078±0.004 **ax**

* : a ve b harfleri derişimleri amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P<0.05$).

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

0.5 mg/L ortam derişiminde denenen her üç sürede de doğrudan Cu etkisinde AChE aktivitesi kontrole göre önemli düzeylerde azalma göstermiştir. AChE aktivitesi Cu + EDTA karışımında 7. ve 28. günlerde, Cu + Ca karışımında ise 7.

günde kontrole göre azalma göstermiştir (Çizelge 4.14; SNK, P<0.05). AChE aktivitesinde gözlenen azalmalar 7. ve 28. günlerde Cu ve Cu + EDTA karışımları arasında istatistiksel ayrım göstermiştir (P<0.05). 14. gün 0.5 mg/L Cu hariç süreye bağlı olarak karaciğer AChE aktivitesinde istatistik ayrım gözlenmemiştir.

Çizelge 4.14. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	0.083±0.003 **ax**	0.084±0.004 **ax**	0.087±0.005 **ax**
0.5 Cu	0.051±0.001 **bx**	0.060±0.002 **by**	0.048±0.001 **bx**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.069±0.004 **cx**	0.076±0.007 **abx**	0.069±0.004 **cx**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.071±0.004 **cx**	0.074±0.006 **abx**	0.077±0.002 **acx**

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

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

1.0 mg/L Cu ortam derişiminde 14. gün Cu + EDTA, Cu + Ca ile 28. gün Cu + Ca ortam derişimleri hariç denenen sürelerde Cu'nun doğrudan etkisinde AChE aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. 1.0 Cu mg/L + 3.0 mgL^{1} EDTA karışımında AChE aktivitesi 7. ve 28. günlerde 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca karışımında ise 7. günde kontrol grubuna göre bir azalma gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.15; SNK, P<0.05). 14. gün 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA ortam derişimi hariç karaciğer AChE aktivitesinin süreye bağlı olarak istatistik ayrım göstermediği saptanmıştır (P>0.01).

Çizelge 4.15. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

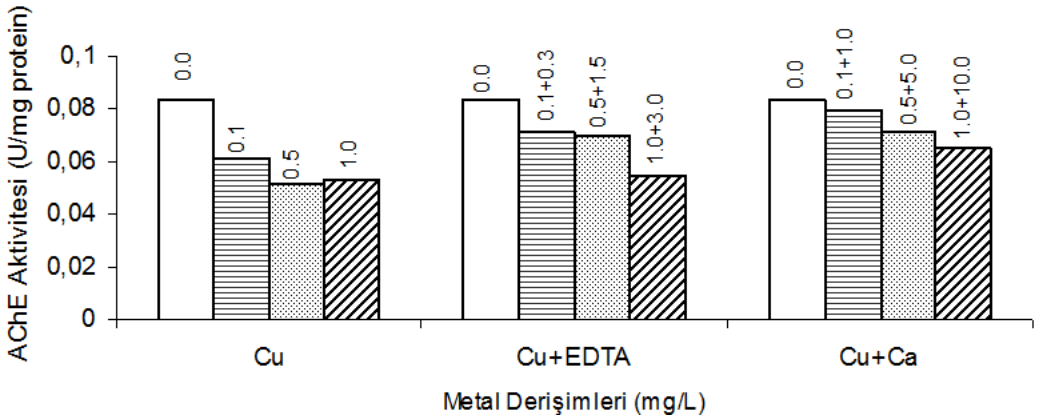
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.083±0.003 **ax**	0.084±0.004 **ax**	0.087±0.005 **ax**
1.0 Cu	0.053±0.002 **bx**	0.053±0.0004 **bx**	0.053±0.002 **bx**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.055±0.002 **bx**	0.071±0.005 **aby**	0.062±0.002 **bcxy**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.065±0.002 **cx**	0.069±0.008 **abx**	0.068±0.004 **acx**

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

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

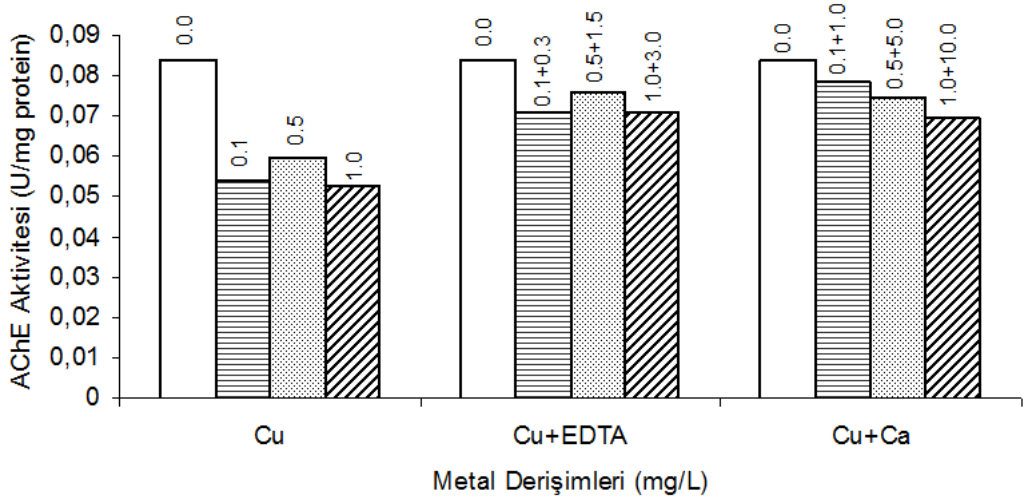
O. niloticus'da belirli bir sürede karaciğer dokusundaki AChE aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.10 – 4.12'de verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde AChE aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. Ortamda bulunan Cu ve Cu karışımlarının ortam derişimleri arttıkça AChE aktivitesinin de azaldığı belirlenmiştir ($P<0.05$). 7 günlük süre sonunda AChE aktivitesi 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sırasıyla %39, %17 ve %14 oranlarında azalmıştır (Şekil 4.10 ; SNK, $P<0.05$).



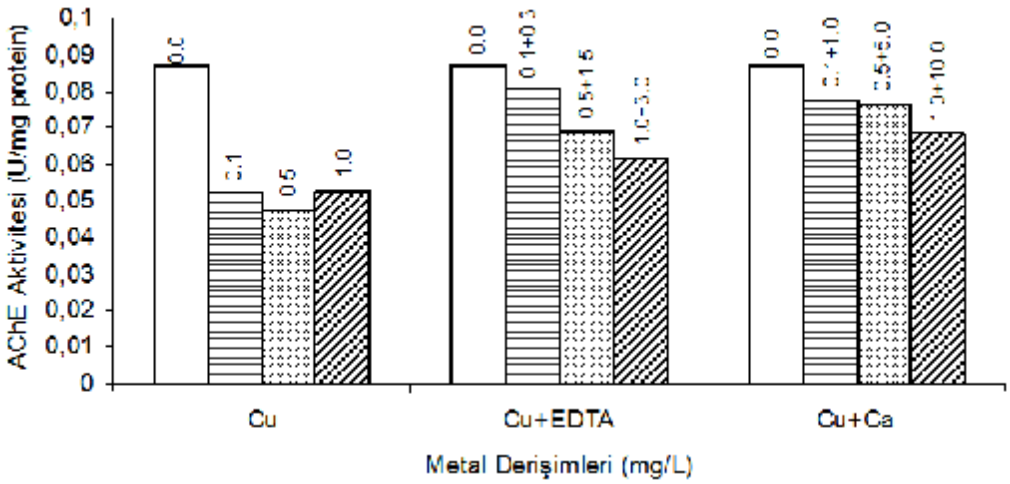
Şekil 4.10. 7. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde Cu ve Cu karışımlarının etkisinde AChE aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli düzeyde azalmalar gösterdiği belirlenmiştir. Cu ortam derişimlerinin doğrudan etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki azalmanın Cu karışımlarının etkisinde kalanlara oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. 0.1 mg/L Cu, 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA, 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca derişimlerinde 14. günde AChE aktivitesi kontrol grubuna oranla %36, %15 ve %7 oranında azalma göstermiştir (Şekil 4.11; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.11. 14. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının etkisinde AChE aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Ortamda bulunan Cu ve Cu karışımlarının ortam derişimleri arttıkça AChE aktivitesindeki azalmanın daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 28 günlük süre sonunda Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının yüksek ortam derişimleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında AChE aktivitesini sırasıyla %39, %29 ve %22 oranında azalttığı belirlenmiştir (Şekil 4.12; SNK, $P<0.05$). Bu durum AChE aktivitesi üzerine uygulanan Cu ve Cu karışımlarının etkisinin Cu<Cu+EDTA<Cu+Ca şeklinde olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.12. 28. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.2.2. Karaciğer Dokusunda Glutatyon S-Transferaz Aktivitesi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde karaciğer GST aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.16-4.18'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde denenen tüm sürelerde Cu ve Cu + Ca karışımında GST aktivitesi kontrol grubuna göre önemli oranda artış gösterirken ($P<0.05$) denenen sürelerde Cu + EDTA karışımlarında ise kontrole göre istatistik ayrım saptanmamıştır (Çizelge 4.16; SNK, $P>0.05$). Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca düşük ortam derişimlerinde süreye bağlı olarak karaciğer GST aktivitesinde önemli bir değişiklik belirlenmemiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.16. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	39.82±0.435 **ax**	39.13±0.286 **ax**	39.23±0.519 **ax**
0.1 Cu	49.23±0.648 **bx**	50.85±0.226 **bx**	49.26±0.421 **bx**
0.1 Cu+0.3 EDTA	39.81±0.560 **ax**	40.72±0.460 **ax**	40.40±0.374 **ax**
0.1 Cu+1.0 Ca	45.77±0.422 **cx**	44.68±0.786 **cx**	45.40±0.293 **cx**

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

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

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde denenen süreler sonunda Cu'nun doğrudan etkisinde GST aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde artmıştır. Cu + EDTA karışımında GST aktivitesi 28. günde Cu + Ca karışımında ise 7. ve 14. günde kontrol grubuna göre önemli artış göstermiştir (Çizelge 4.17; SNK, $P<0.05$). GST aktivitesinde gözlenen artışlar Cu ve Cu karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir ($P<0.05$). 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA ortam derişiminde GST aktivitesinde 28. günde diğer günlere (7. ve 14. günlere) oranla yaklaşık %6 oranında artış olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.17. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	39.82±0.435 **ax**	39.13±0.286 **ax**	39.23±0.519 **ax**
0.5 Cu	47.85±0.785 **bx**	46.67±0.670 **bx**	46.42±0.784 **bx**
0.5 Cu+1.5 EDTA	40.50±0.420 **acx**	40.70±0.311 **ax**	43.04±0.198 **cy**
0.5 Cu+5.0 Ca	41.85±0.268 **cx**	42.98±0.709 **cx**	41.10±0.500 **ax**

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

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

1.0 mg/L Cu etkisinde denenen tüm sürelerin sonunda Cu'nun doğrudan etkisinde GST aktivitesinde kontrol grubuna göre önemli artma gözlenmiştir. Cu + EDTA karışımında GST aktivitesi 14. günde, Cu + Ca karışımında ise 7. ve 14. günde kontrol grubuna göre önemli artış göstermiştir. Yüksek metal derişimlerinin etkisinde süreler arasında istatistiksel ayrım belirlenmemiştir. Karaciğer GST aktivitesi Cu, Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarında günler arasında istatistik ayrım göstermemiştir (Çizelge 4.18; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.18. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

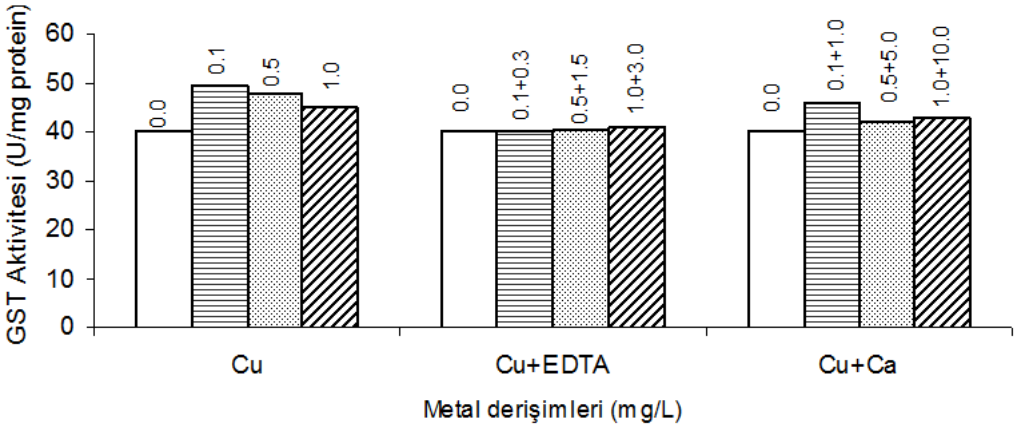
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	39.82±0.435 **ax**	39.13±0.286 **ax**	39.23±0.519 **ax**
1.0 Cu	44.94±0.494 **bx**	45.07±0.176 **bx**	44.86±0.230 **bx**
1.0 Cu+3.0 EDTA	40.62±0.605 **ax**	41.05±0.332 **cx**	40.72±0.367 **ax**
1.0 Cu+10.0 Ca	42.71±0.312 **cx**	42.41±0.683 **dx**	41.34±0.658 **ax**

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

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

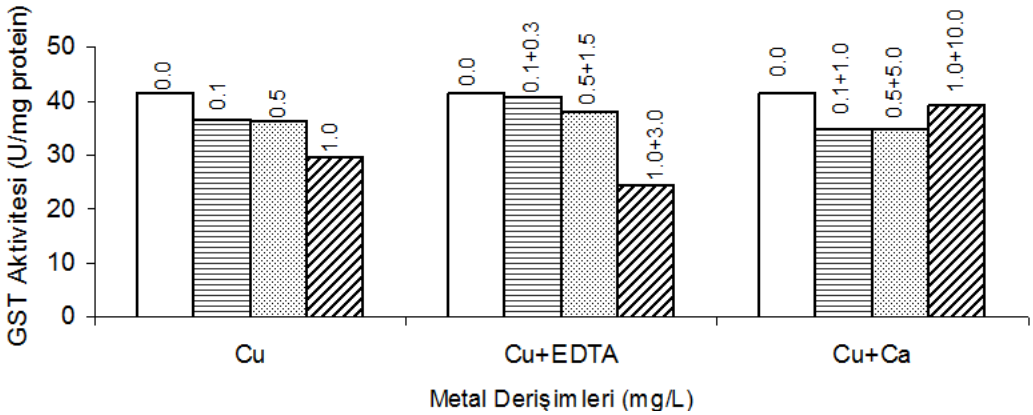
O. niloticus'da belirli bir sürede karaciğer dokusundaki GST aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.13 – 4.15'te verilmiştir.

7. günde 0.1 mg/L Cu ve 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde GST aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde artarken, 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA derişiminde kontrole göre değişiklik göstermemiştir (Şekil 4.13; SNK, P>0.05). 0.5 mg/L Cu ve 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde 7. günde GST aktivitesinde kontrol grubuna göre sırasıyla %20 ve %5 düzeyinde bir artışın olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.13; SNK, P<0.05).



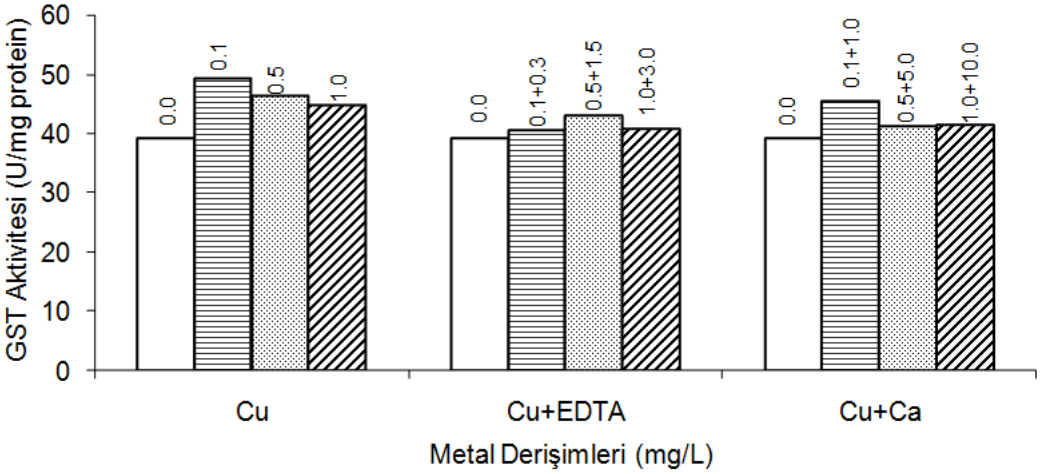
Şekil 4.13. 7. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde Cu ve Cu karışımları kontrol grubuna göre bir azalma göstermiştir. 1.0 mg/L Cu, 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA ve 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca ortam derişimlerinin etkisinde kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %,15 %5 ve %8 oranında azalma gerçekleşmiştir. 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ve 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA metal karışımları kontrole göre istatistik ayrım göstermemiştir (Şekil 4.14; SNK, P<0.05).



Şekil 4.14. 14. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde GST aktivitesi kontrol grubuna göre denenen tüm ortam derişimlerinde bir artış göstermiştir. Cu derişiminin doğrudan etkisinde Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerine göre bu artış daha fazla olmuştur. Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının en yüksek derişimlerinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sırasıyla %14, %4 ve %5 oranlarında bir artışın olduğu saptanmıştır (Şekil 4.15; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.15. 28. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.2.3. Böbrek Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde böbrek dokusundaki AChE aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.19-4.21'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde Cu ve Cu karışımlarında AChE aktivitesinde 7. gün 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA hariç denenen tüm sürelerde kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde azalma meydana gelmiştir. 7. günde 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA karışımı dışında denenen tüm sürelerde ve derişimlerde kontrol grubuna göre istatistik ayrım gözlenmiştir (Çizelge 4.19; SNK, $P<0.05$). AChE aktivitesinde gözlenen azalmalar Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında istatistik ayrım göstermemiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca'nın düşük ortam derişimlerinde 28. gün 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ortam derişimi hariç süreye bağlı olarak böbrek AChE aktivitesinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.19. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	0.019±0.0003 **ax**	0.019±0.0003 **ax**	0.018±0.0002 **ax**
0.1 Cu	0.013±0.0002 **bx**	0.013±0.001 **bx**	0.012±0.001 **bx**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.017±0.001 **acx**	0.017±0.0004 **cx**	0.014±0.0002 **bcy**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.016±0.001 **cx**	0.016±0.0003 **cx**	0.016±0.001 **cx**

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

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde Cu ve Cu karışımlarında 14. gün Cu + EDTA hariç AChE aktivitesi kontrol grubuna göre denenen tüm sürelerde azalma göstermiştir. AChE aktivitesinde gözlenen bu azalmalar 14. gün Cu + EDTA derişimi hariç Cu ve Cu karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir. 0.5 mg/L

Cu + 1.5 mg/L EDTA metal karışımında AChE aktivitesi 14. ve 28. günlerde 7. güne oranla önemli düzeyde artmış ve bu artış istatistik olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.20; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.20. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.019±0.0003 **ax**	0.019±0.0003 **ax**	0.018±0.0002 **ax**
0.5 Cu	0.013±0.0002 **bx**	0.014±0.001 **bx**	0.013±0.0002 **bx**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.014±0.001 **cx**	0.017±0.0002 **acy**	0.016±0.0003 **cy**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.015±0.001 **cx**	0.016±0. 0004 **cx**	0.015±0.0002 **dx**

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

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

1.0 mg/L Cu ve Cu karışımları etkisinde AChE aktivitesinde kontrol grubuna göre bir azalma gözlenirken denenen süreler arasında bir değişikliğin olmadığı belirlenmiştir. AChE aktivitesindeki azalış 14. günde Cu + EDTA ve Cu + Ca, 28. günde de Cu+Ca ortam derişimleri hariç, Cu ve Cu karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir (Çizelge 4.21; SNK, P<0.05).

Çizelge 4. 21. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

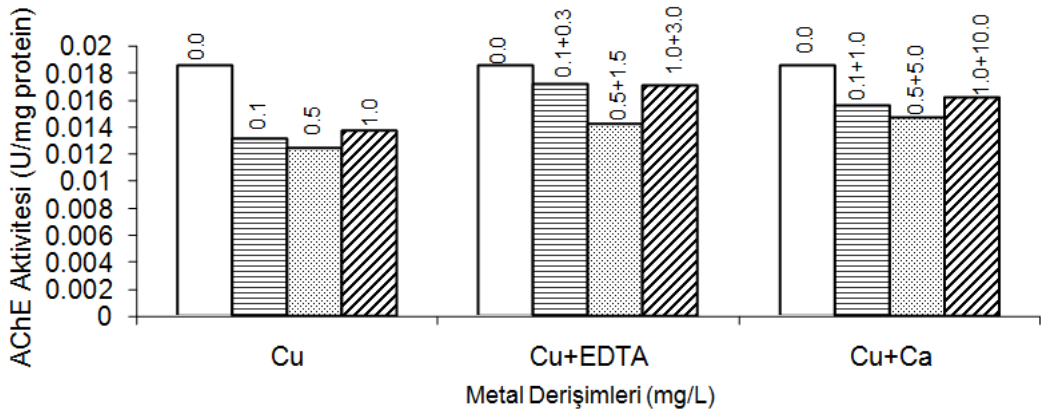
	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.019±0.0003 **ax**	0.019±0.0003 **ax**	0.018±0.0002 **ax**
1.0 Cu	0.014±0.001 **bx**	0.014±0.002 **bx**	0.013±0.0013 **bx**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.017±0.0002 **cx**	0.016±0.0003 **abx**	0.015±0.001 **bcx**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.016±0.0003 **cx**	0.015±0.0003 **abx**	0.017±0.0004 **acx**

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

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

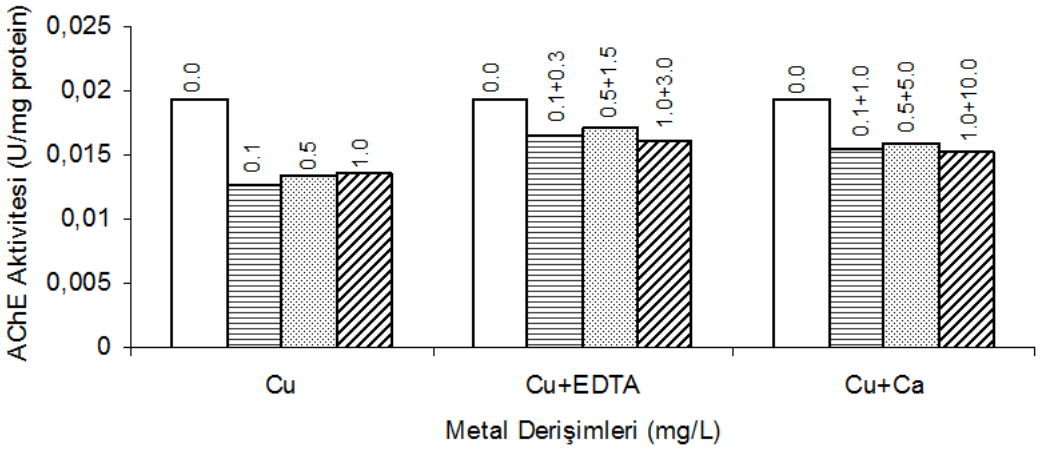
O. niloticus'da belirli bir sürede böbrek AChE aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.16 – 4.18'de verilmiştir.

7. günde Cu ve Cu karışımlarında AChE aktivitesi kontrole kıyasla azalmıştır. Cu ortam derişimlerinin etkisindeki azalmanın karışımların etkisine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinin etkisinde kontrol grubuna göre sırasıyla % 32, %11 ve %26 oranında azalma saptanmıştır (Şekil 4.16; SNK, $P<0.05$).



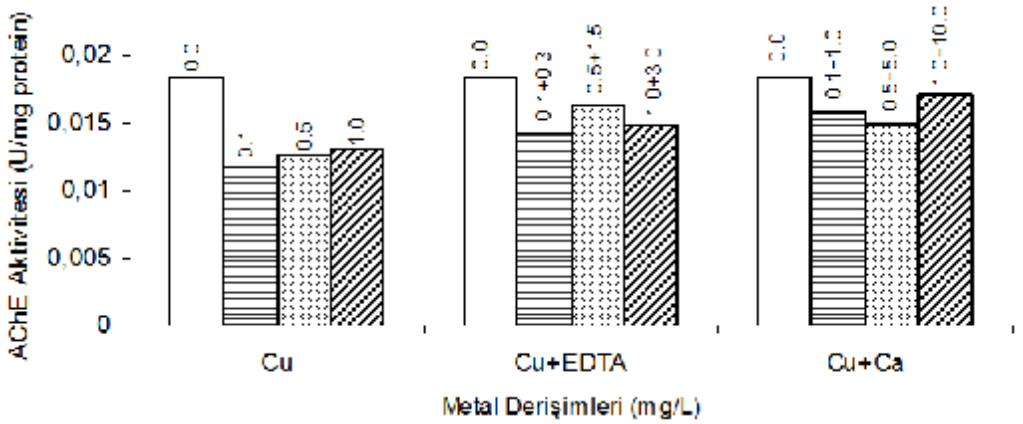
Şekil 4.16. 7. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde Cu, Cu + Ca ve Cu + EDTA ortam derişimlerinin etkisinde AChE aktivitesi kontrol grubuna göre, önemli düzeylerde azalmıştır. 1.0 mg/L Cu, 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA ve 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca ortam derişimlerinin etkisinde AChE aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sırasıyla %26, %16 ve %21 oranında azalmıştır (Şekil 4.17; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.17. 14. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu ve Cu karışımlarında AChE aktivitesinin kontrole göre önemli düzeyde azalma gösterdiği belirlenmiştir. Cu derişiminin etkisindeki azalmanın karışımların etkisine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/LCu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinin etkisinde AChE aktivitesi kontrolle karşılaştırıldığında sırasıyla %28, %11 ve %17 oranında azalma saptanmıştır (Şekil 4.18; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.18. 28. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.2.4. Böbrek Dokusunda Glutatyon S-Transferaz Aktivitesi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde böbrek dokusundaki GST aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.22-4.24'te gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde denenen süreler sonunda Cu ve Cu karışımlarında GST aktivitesi kontrole göre önemli oranda azalırken 7. ve 14. günlerde 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA metal karışımlarında kontrole göre önemli değişiklik olmazken 28. günde önemli azalma gözlenmiştir. 0.1 mg/L Cu ve 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde GST aktivitesi süreye bağlı olarak önemli düzeyde azalmış ve bu azalmanın istatistiksel olarak önem taşıdığı saptanmıştır (Çizelge 4.22; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.22. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	41.36±0.244 **ax**	41.35±0.654 **ax**	40.34±0.239 **ax**
0.1 Cu	38.41±0.544 **bx**	36.85±0.530 **by**	33.18±0.737 **bcz**
0.1 Cu+0.3 EDTA	40.19±0.873 **abx**	40.76±0.498 **ax**	35.002±0.559 **by**
0.1 Cu+1.0 Ca	37.62±0.805 **bx**	34.80±0.782 **cy**	32.073±0.774 **cz**

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

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde denenen her üç sürede de Cu ve Cu karışımlarında GST aktivitesi kontrolle karşılaştırıldığında önemli oranda azaldığı belirlenmiştir. GST aktivitesinde gözlenen bu azalma 7. ve 28. günlerde Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir. GST aktivitesinde denenen sürelere bağlı olarak 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA karışımında önemli bir değişiklik olmazken 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam

derişiminde ise önemli düzeyde azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.23; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.23. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	41.36±0.244 **ax**	41.35±0.654 **ax**	40.34±0.239 **ax**
0.5 Cu	37.07±0.403 **bx**	36.20±0.661 **bcx**	29.61±0.320 **by**
0.5 Cu+1.5 EDTA	39.07±0.441 **cx**	38.19±0.770 **bx**	37.61±0.556 **cx**
0.5 Cu+5.0 Ca	38.36±0.292 **cx**	34.98±0.626 **cy**	32.45±0.260 **dz**

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

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

1.0 mg/L Cu ortam derişimi etkisinde ve 14. gün Cu + Ca ortam derişimi hariç Cu ve Cu karışımlarında GST aktivitesi kontrol grubuna önemli düzeyde azalma göstermiştir. GST aktivitesinde gözlenen bu azalma Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir. Cu ortam derişiminde süreye bağlı olarak böbrek GST aktivitesinde istatistik ayrım gözlenmiştir (Çizelge 4.24; SNK, P<0.05).

Çizelge 4. 24. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

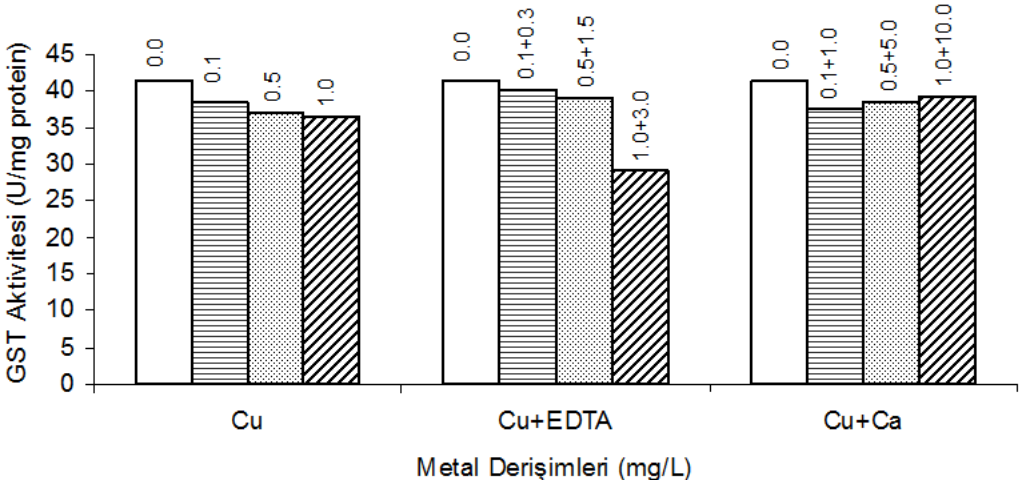
	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	41.36±0.244 **ax**	41.35±0.654 **ax**	40.34±0.239 **ax**
1.0 Cu	36.43±0.352 **bx**	29.54±0.571 **by**	27.28±0.302 **bz**
1.0 Cu+3.0 EDTA	29.31±0.313 **cx**	24.33±0.728 **cy**	24.67±0.226 **cy**
1.0 Cu+10.0 Ca	39.35±0.649 **dx**	39.34±0.446 **ax**	33.08±0.861 **dy**

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

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

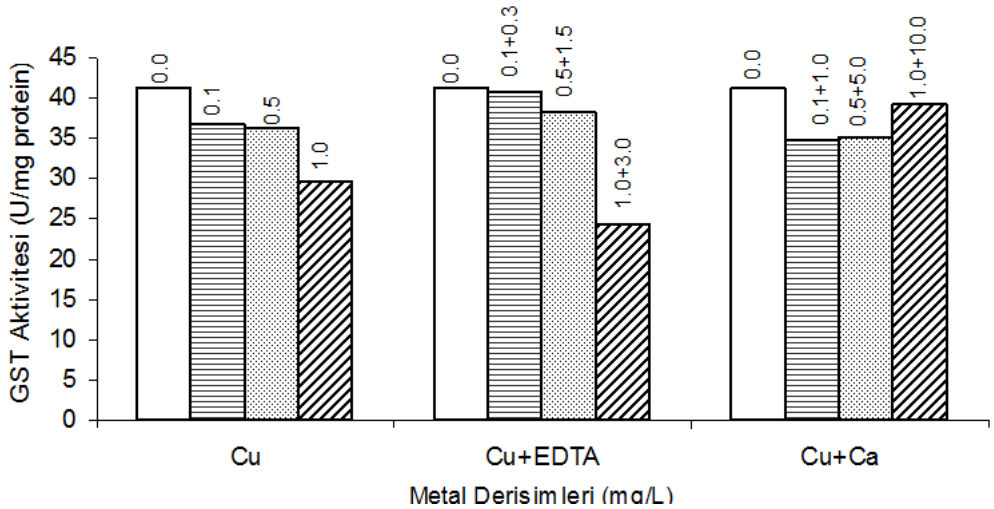
O. niloticus'da belirli bir sürede böbrek dokusundaki GST aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarınınının derişime bağlı etkileri Şekil 4.19 – 4.21'de verilmiştir.

7. günde 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA metal karışımı hariç denenen tüm Cu ve Cu karşımlarında kontrole göre GST aktivitesinde önemli düzeyde bir azalma gerçekleşmiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/LCu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde kontrol grubuna göre sırasıyla %10, %5 ve %7 oranında bir azalma olduğu saptanmıştır (Şekil 4.19; SNK, $P<0.05$).



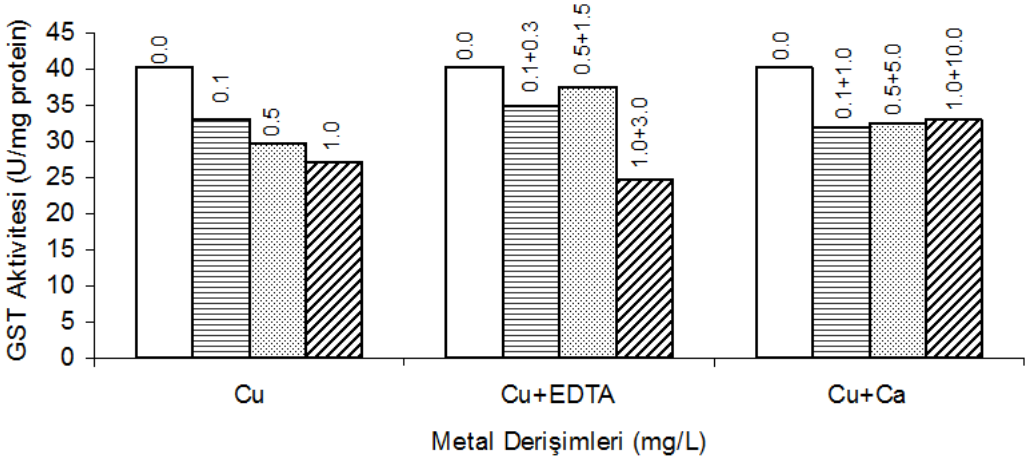
Şekil 4.19. 7. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ve 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca ortam derişimi hariç diğer ortam derişimlerinde kontrole göre GST aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde kontrol grubuna göre sırasıyla %12, %8 ve %15 düzeyinde bir azalma saptanmıştır (Şekil 4.20; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.20. 14. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu ve Cu karışımlarının etkisinde GST aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. Ortamda bulunan Cu derişimleri arttıkça GST aktivitesinin de azaldığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Yüksek Cu ve Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde GST aktivitesi kontrol grubuyla kıyaslandığında sırasıyla %32, %39 ve %18 oranında azalma saptanmıştır (Şekil 4.21; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.21. 28. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.2.5. Solungaç Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde solungaç dokusundaki AChE aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.25-4.27'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde denenen her üç sürede de Cu ve Cu karışımlarının etkisinde AChE aktivitesi kontrole göre artış göstermiştir. Bu artışlar 7. ve 14. günler sonunda 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA metal karışımı hariç diğer derişimlerde kontrole göre istatistik ayrım göstermiştir. Cu, Cu + Ca ve Cu + EDTA karışımlarında AChE aktivitesinin 7. ve 14. güne oranla 28. günde arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.25; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.25. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	0.071±0.003 **ax**	0.072±0.004 **ax**	0.073±0.002 **ax**
0.1 Cu	0.086±0.001 **bx**	0.091±0.005 **bcx**	0.161±0.002 **by**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.081±0.004 **abx**	0.079±0.004 **abx**	0.146±0.003 **cy**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.107±0.004 **cx**	0.101±0.006 **cx**	0.190±0.003 **dy**

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

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

0.5 mg/L ortam derişiminde doğrudan Cu'nun etkisinde AChE aktivitesi denenen tüm sürelerde kontrole göre bir artış göstermiştir. 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA ve 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde AChE aktivitesi 7. ve 14. günlerde kontrole göre önemli değişiklik göstermezken 28. günde önemli düzeyde artmıştır. Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımlarında AChE aktivitesi diğer sürelere oranla 28. günde istatistik önem taşımaktadır (Çizelge 4.26; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.26. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.071±0.003 **ax**	0.072±0.004 **ax**	0.073±0.002 **ax**
0.5 Cu	0.094±0.006 **bx**	0.084±0.001 **bx**	0.154±0.003 **by**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.077±0.001 **ax**	0.074±0. 003 **abx**	0.100±0.005 **cy**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.071±0.004 **ax**	0.075±0. 0002 **abx**	0.089±0.004 **dy**

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

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

1.0 mg/L Cu'nun doğrudan etkisinde AChE aktivitesi kontrole göre önemli oranda artmıştır. Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımlarında 28. günde AChE aktivitesi kontrole göre artış göstermiştir. Cu, Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımlarında AChE aktivitesi 7. ve 14. güne oranla 28. günde artış göstermiştir (Çizelge 4.27; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.27. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

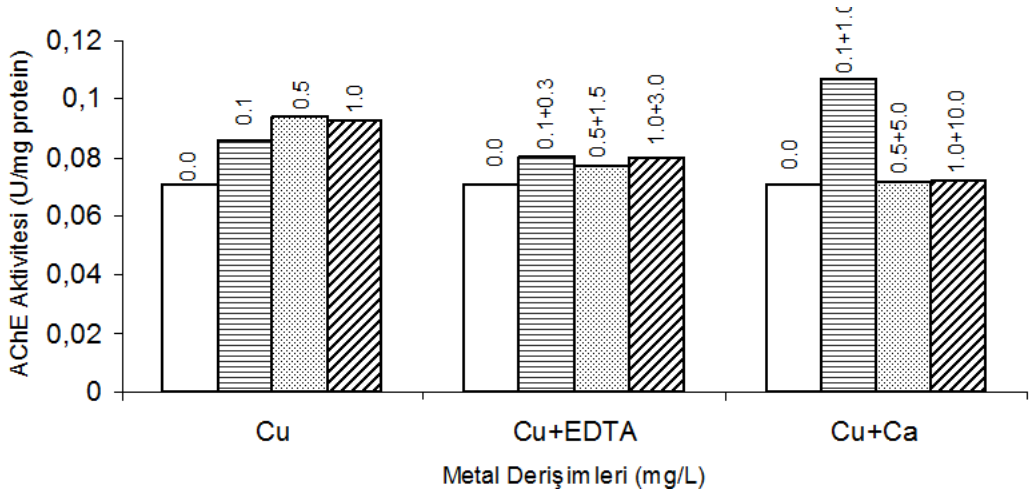
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.071±0.003 **ax**	0.072±0.004 **ax**	0.073±0.002 **ax**
1.0 Cu	0.093±0.002 **bx**	0.092±0.001 **bx**	0.138±0.008 **by**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.080±0.008 **abx**	0.064±0.005 **ax**	0.167±0.003 **cy**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.072±0.004 **ax**	0.067±0.002 **ax**	0.147±0.008 **bcy**

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

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

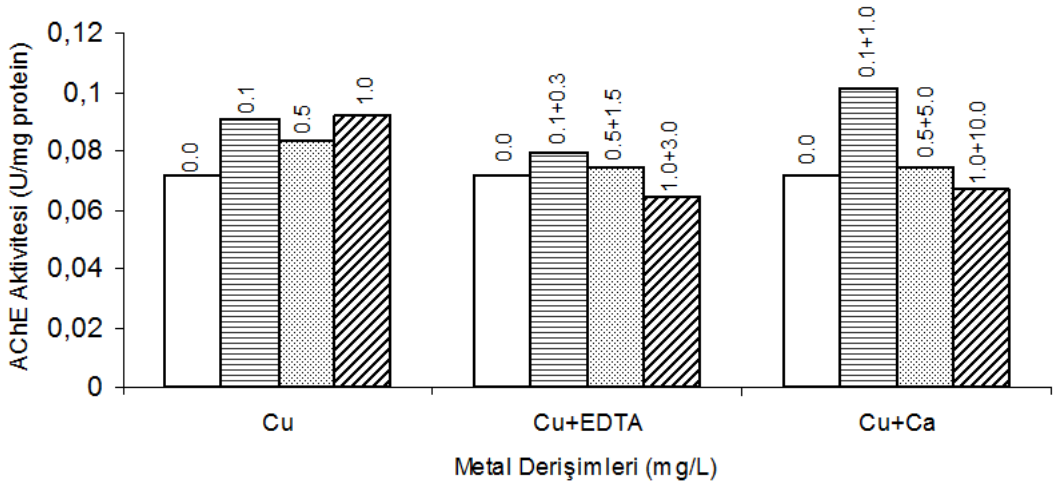
O. niloticus'da belirli bir sürede solungaç dokusundaki AChE aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarınınının derişime bağlı etkileri Şekil 4.22 – 4.24'te verilmiştir.

7. günde denenen tüm ortam derişimleri etkisinde AChE aktivitesi kontrole göre artış göstermiştir. Ortamda bulunan Cu derişimleri arttıkça AChE aktivitesinin de arttığı belirlenmiştir (P<0.05). 0.1 mg/L Cu, 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ve 01 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde AChE aktivitesinde kontrole kıyasla sırasıyla %21, %14 ve %51 oranında artış gerçekleşmiştir (Şekil 4.22; SNK, P<0.05).



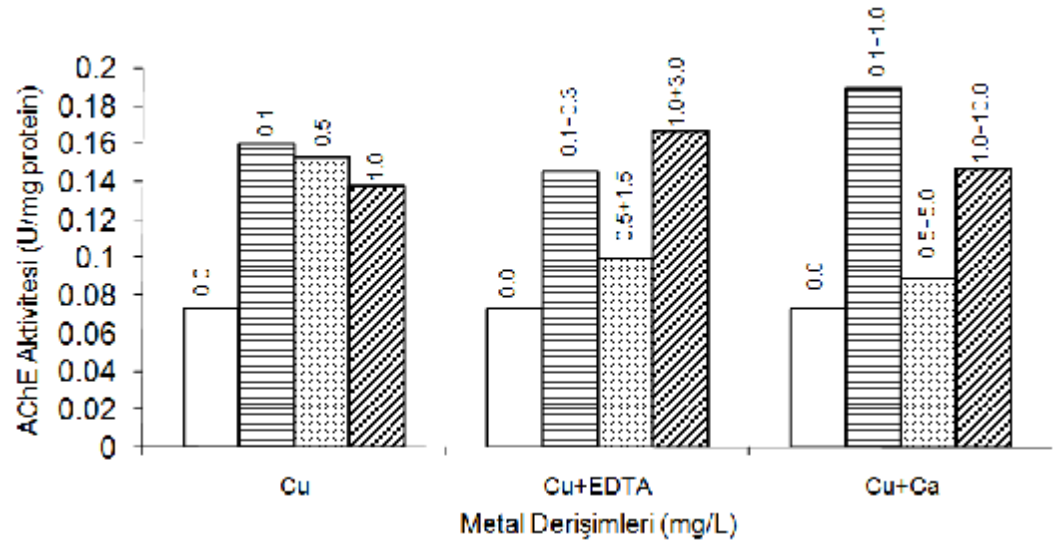
Şekil 4.22. 7. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde AChE aktivitesinde tüm derişimlerde1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA ve 1.0 mg/L Cu + 10.0 Ca mg/L ortam derişimleri hariç kontrole oranla artış gerçekleşmiştir. AChE aktivitesi 0.1 mg/L Cu, 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ve 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişimlerinin etkisinde kontrole göre sırasıyla %26, %10 ve %40 oranında artış göstermiştir (Şekil 4.23; SNK, P<0.05).



Şekil 4.23. 14. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm ortam derişimlerinde AChE aktivitesinde kontrole oranla önemli artışlar gözlenmiş olup bu artışların istatistik önem taşıdığı belirlenmiştir ($P<0.05$). AChE aktivitesi 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/LCu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde kontrol grubuna göre sırasıyla %110, %37 ve %22 oranında artış gerçekleşmiştir (Şekil 4.24; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.24. 28. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.2.6. Solungaç Dokusunda Glutatyon S-Transferaz Aktivitesi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde solungaç dokusundaki GST aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.28-4.30'da gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde 7. gün 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ve 0.1 mg/L Cu +1.0 mg/L Ca hariç denenen tüm ortam derişimlerinde ve sürelerde GST aktivitesi kontrole göre önemli düzeyde artış göstermiştir. Cu + EDTA, Cu + Ca derişimlerinde süreye bağlı olarak solungaç GST aktivitesinde bir artışın olduğu ve bu artışın istatistik olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.28; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.28. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	2.121±0.249 **ax**	2.426±0.184 **ax**	2.359±0.231 **ax**
0.1 Cu	4.951±0.434 **bx**	4.855±0.436 **bx**	5.613±0.197 **bx**
0.1 Cu+0.3 EDTA	3.821±0.343 **abx**	5.330±0.197 **bcy**	6.646±0.255 **cz**
0.1 Cu+1.0 Ca	3.175±0.647 **abx**	6.011±0.298 **cy**	5.766±0.157 **bz**

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

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

0.5 mg/L ortam derişiminde denenen tüm süre sonlarında Cu'nun tek başına etkisinde GST aktivitesinde kontrole göre istatistik ayrım göstermiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde süreye bağlı olarak solungaç GST aktivitesinde önemli bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir (Çizelge 4.29; SNK, $P>0.05$).

Çizelge 4. 29. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GST aktivitesi(U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	2.121±0.249 **ax**	2.426±0.184 **ax**	2.359±0.231 **ax**
0.5 Cu	4.284±0.272 **bx**	5.010±0.058 **bx**	4.497±0.109 **bx**
0.5 Cu+1.5 EDTA	2.314±0.285 **ax**	2.751±0.231 **ax**	2.650±0.453 **ax**
0.5 Cu+5.0 Ca	2.307±0.409 **ax**	3.438±0.269 **cx**	3.128±0.214 **ax**

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

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

1.0 mg/L ortam derişimi etkisinde denenen sürelerde Cu'nun tek başına etkisinde kontrole kıyasla önemli artışlar saptanırken 14. gün 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca ortam derişimi hariç diğer ortam derişimlerinde kontrole göre istatistik bir ayrım belirlenmemiştir. 14 ve 28. gün 1.0 mg/L Cu ortam derişimi hariç Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde süreye bağlı olarak solungaç GST aktivitesinde önemli bir değişikliğin olmadığı belirlenmiştir. (Çizelge 4.30; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.30. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

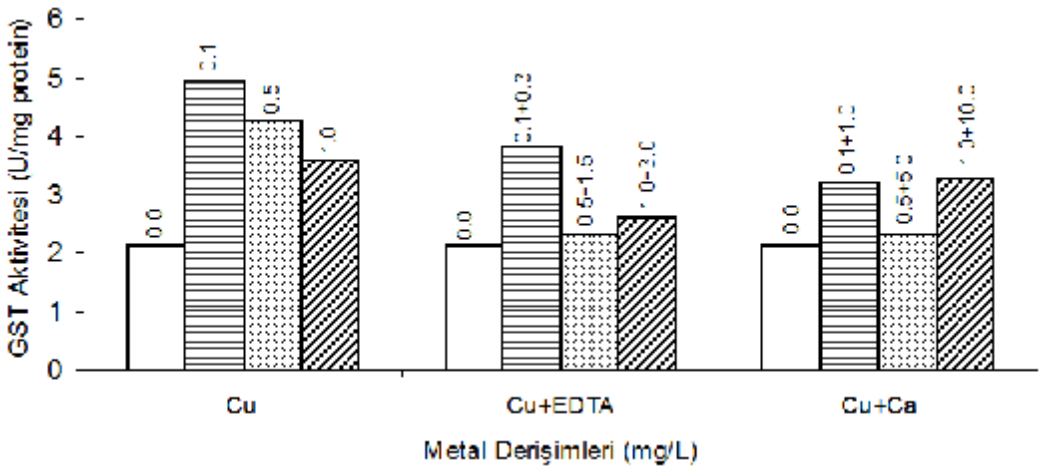
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	2.121±0.249 **ax**	2.426±0.184 **ax**	2.359±0.231 **ax**
1.0 Cu	3.586±0.160 **bx**	4.343±0.131 **by**	4.765±0.126 **by**
1.0 Cu+3.0 EDTA	2.624±0.483 **abx**	2.722±0.426 **acx**	2.994±0.397 **ax**
1.0 Cu+10.0 Ca	3.342±0.237 **abx**	3.446±0.146 **cx**	2.278±0.385 **ax**

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

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

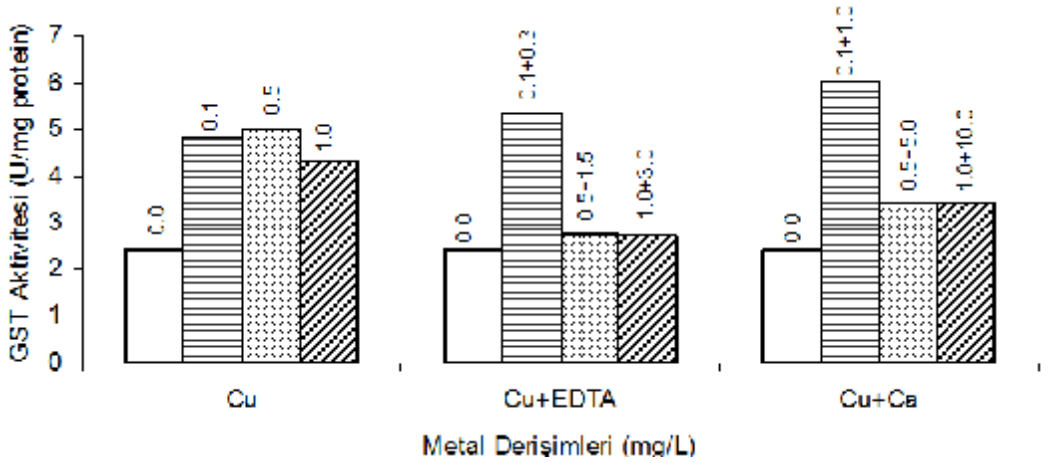
O. niloticus'da belirli bir sürede solungaç dokusundaki GST aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.25 – 4.27'de verilmiştir.

7. günde GST aktivitesinde 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA ve 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca hariç denenen tüm ortam derişimlerinde kontrole göre önemli oranda arttığı belirlenmiştir. 0.1 mg/L Cu, 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ve 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişimlerinin etkisinde kontrole göre sırasıyla %133, %80 ve %50 oranlarında artış gözlenmiştir (Şekil 4.25; SNK, P<0.05).



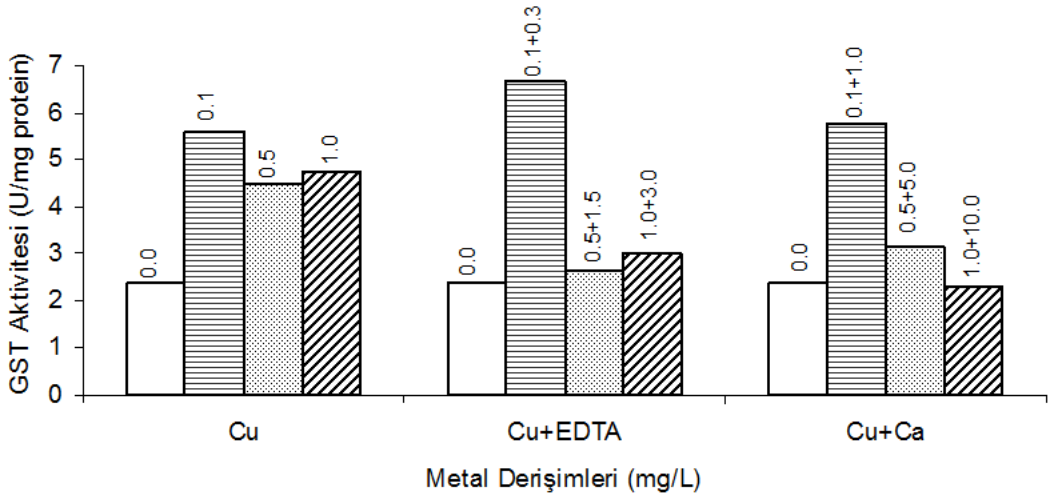
Şekil 4.25. 7. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde denenen tüm ortam derişimlerinde GST aktivitesi kontrole göre artış göstermiştir. Bu artış 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA ve 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA ortam derişimi hariç diğer derişimlerde kontrole göre istatistik ayrım göstermiştir. 0.1 mg/L Cu, 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA, 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde GST aktivitesi kontrolle kıyaslandığında sırasıyla %100, %120 ve %148 oranında bir artışın olduğu saptanmıştır (Şekil 4.26; SNK, P<0.05).



Şekil 4.26. 14. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde doğrudan Cu derişimlerinin etkisinde GST aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde artış göstermiştir. 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ve 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca metal karışımları kontrol grubuna göre önemli artış gösterirken diğer metal karışımlarındaki değişikliğin istatistik olarak önemli olmadığı saptanmıştır. 0.1 mg/L Cu, 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA, 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişimlerinin etkisinde GST aktivitesindeki artış kontrol grubuna göre sırasıyla %138, %182 ve %144 düzeyinde saptanmıştır (Şekil 4.27; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.27. 28. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.2.7. Beyin Dokusunda Asetilkolinesteraz Aktivitesi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde beyin dokusundaki AChE aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.31-4.33'te gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ve Cu karışımları etkisinde denenen süreler sonunda AChE aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli oranda arttığı belirlenmiştir. Cu ve Cu + Ca ortam derişimlerinde AChE aktivitesi 7. güne göre 14 günlük süre sonunda önemli oranda artarken 28. günde önemli oranda azalmıştır AChE aktivitesinde gözlenen bu artışlar Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir (Çizelge 4.31; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.31. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde beyin AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.142±0.002 **ax**	0.143±0.004 **ax**	0.147±0.002 **ax**
0.1 Cu	0.229±0.003 **bx**	0.241±0.003 **by**	0.181±0.008 **bz**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.187±0.006 **cx**	0.210±0.001 **cy**	0.209±0.002 **cy**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.206±0.007 **dx**	0.308±0.010 **dy**	0.274±0.006 **dz**

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

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

0.5 mg/L Cu ve Cu karışımları etkisinde (28. gün 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA hariç) AChE aktivitesi denenen her üç sürede de kontrole kıyasla önemli artış göstermiştir. AChE aktivitesinde gözlenen bu artışlar Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir (Çizelge 4.32; SNK, $P<0.05$). Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarında sürenin uzamasına bağlı olarak AChE aktivitesi önemli oranda azalma göstermiştir.

Çizelge 4. 32. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde beyin AChE aktivitesi(U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.142±0.002 **ax**	0.143±0.004 **ax**	0.147±0.002 **ax**
0.5 Cu	0.267±0.005 **bx**	0.253±0.002 **bx**	0.235±0.022 **bx**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.227±0.005 **cx**	0.201±0. 007 **cy**	0.182±0.005 **acz**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.248±0.005 **dx**	0.228±0. 006 **dy**	0.208±0.008 **bcz**

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

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

1.0 mg/L Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde denenen süreler sonunda kontrole göre önemli artış kaydedilmiştir. Cu + EDTA ve Cu + Ca metal karışımlarında sürenin uzamasıyla önce artmış daha sonra ise azalmıştır. 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde ise 7 ve 14 günlük süreler arasında istatistik ayrım gözlenmezken 28. günde önemli düzeyde bir azalma gerçekleşmiştir (Çizelge 4.33; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.33. *O. niloticus*'da 1.0 mg Cu/L ortam derişiminde beyin AChE aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

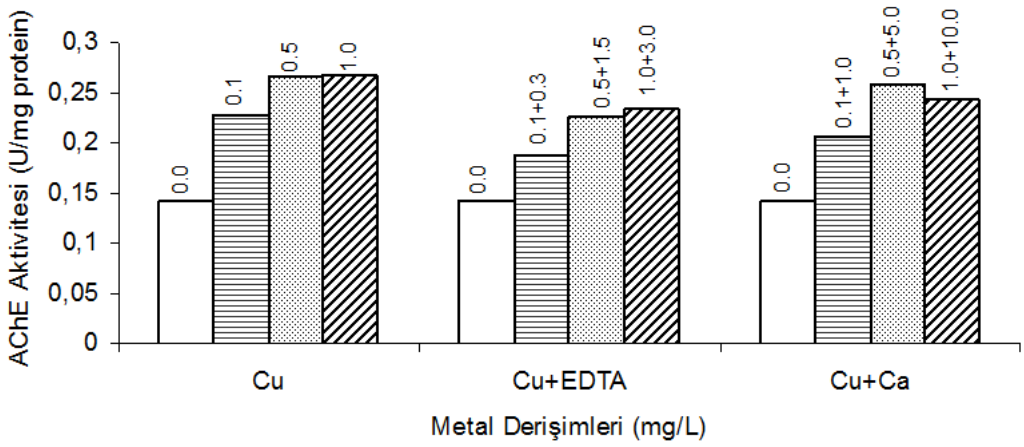
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.142±0.002 **ax**	0.143±0.004 **ax**	0.147±0.002 **ax**
1.0 Cu	0.269±0.005 **bx**	0.262±0.003 **bx**	0.245±0.008 **by**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.235±0.004 **cx**	0.276±0.026 **cy**	0.265±0.003 **by**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.254±0.009 **bx**	0.324±0.006 **dy**	0.255±0.006 **bx**

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

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

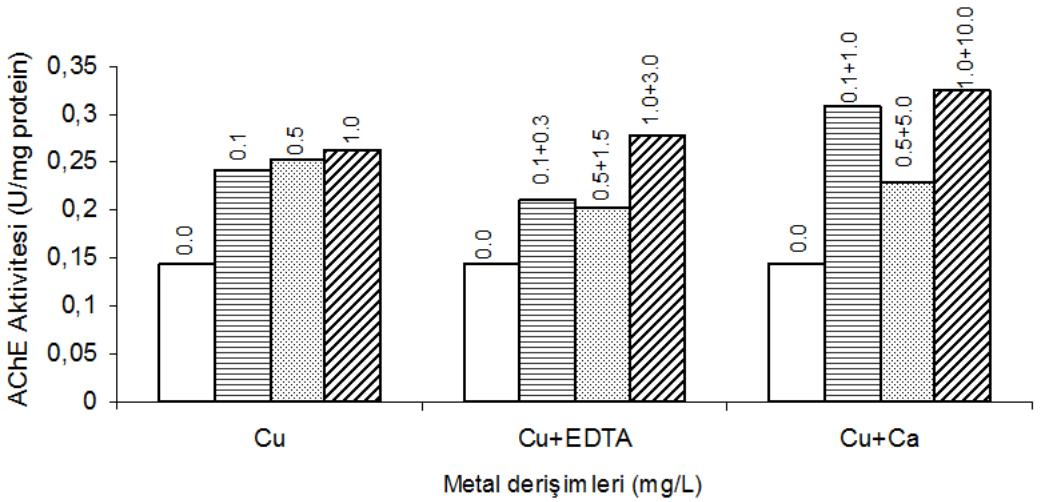
O. niloticus'da belirli bir sürede beyin dokusundaki AChE aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarınınının derişime bağlı etkileri Şekil 4.28 – 4.30'da verilmiştir.

7. günde denenen ortam derişimlerinde AChE aktivitesi kontrol grubuna kıyasla önemli oranda artış göstermiştir. Cu'nun doğrudan etkisindeki artışın karışımların etkisine oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ortamda bulunan Cu derişimleri arttıkça AChE aktivitesinin de arttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca en düşük ortam derişimlerinde AChE aktivitesinde kontrole göre sırasıyla %61, %32 ve %45 oranlarında artış kaydedilmiştir (Şekil 4.28; SNK, $P<0.05$).



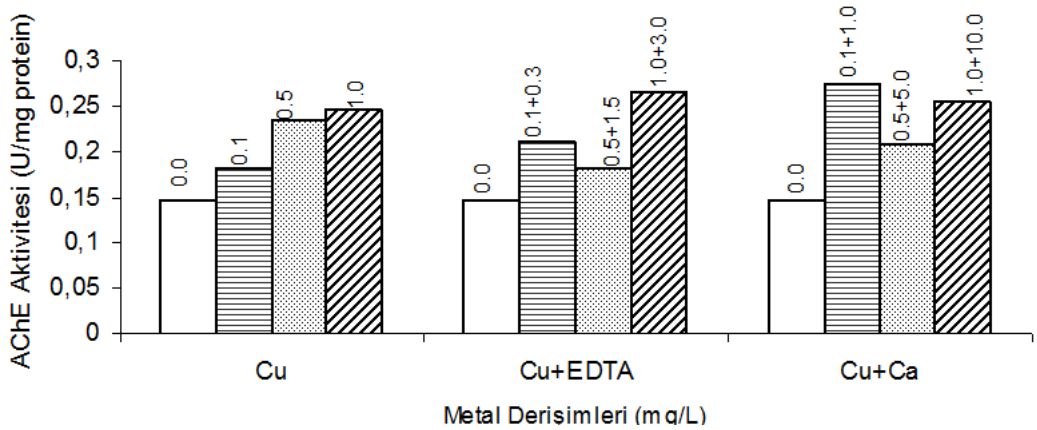
Şekil 4.28. 7. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde denenen tüm ortam derişimleri etkisinde AChE aktivitesi kontrolle karşılaştırıldığında önemli oranda artış belirlenmiştir. 0.5 mg/L Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde beyin AChE aktivitesinde kontrole göre sırasıyla %77, %41 ve %59 oranında artış gerçekleşmiştir (Şekil 4.29; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.29. 14. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde beyin AChE aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde artmıştır. 0.1 mg/L Cu, 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ile 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişimlerinin etkisinde kontrol grubuna göre sırasıyla %20, %42 ve %86 oranında artış olmuştur (Şekil 4.30; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.30. 28. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda AChE enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.2.8. Beyin Dokusunda Glutatyon S-Transferaz Aktivitesi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde beyin dokusundaki GST aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.34-4.36'da gösterilmiştir.

0.1 mg/L ortam derişiminde beyin GST aktivitesi denenen her üç sürede de Cu'nun tek başına etkisinde kontrole göre önemli düzeyde azalma gösterdiği belirlenmiştir. Enzim aktivitesi 28. günde Cu karışımlarında kontrole göre önemli azalmaya neden olmuştur (Çizelge 4.34; SNK, $P<0.05$). Beyin GST aktivitesi Cu ve Cu + Ca ortam derişimlerinde süreye bağlı olarak istatistik ayrım gösterdiği saptanmıştır.

Çizelge 4.34. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	6.488±0.263 **ax**	6.232±0.265 **ax**	6.227±0.241 **ax**
0.1 Cu	3.167±0.483 **bx**	3.570±0.237 **bx**	4.223±0.119 **by**
0.1 Cu+0.3 EDTA	5.287±0.082 **ax**	5.545±0.299 **ax**	5.087±0.155 **cx**
0.1 Cu+1.0 Ca	5.646±0.466 **ax**	5.289±0.251 **ay**	5.252±0.299 **cy**

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

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde GST aktivitesinde tüm sürelerde kontrol grubuna göre önemli düzeyde azaldığı saptanmıştır. Denenen tüm sürelerde Cu karışımlarının etkisinde GST aktivitesi kontrole göre azalma gösterirken bu azalmalar 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA derişiminde 7. ve 14. günde, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişiminde ise 28. günde kontrole göre istatistik ayrım göstermemiştir. Denenen süreler arasında, 28. günde 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA derişimi hariç istatistiksel ayrım gözlenmemiştir (Çizelge 4.35; SNK, $P>0.05$).

Çizelge 4. 35. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	6.488±0.263 **ax**	6.232±0.265 **ax**	6.227±0.241 **ax**
0.5 Cu	3.165±0.291 **bx**	2.475±0.243 **bx**	3.290±0.401 **bx**
0.5 Cu+1.5 EDTA	3.945±0.375 **bcx**	4.181±0.360 **cx**	4.692±0.356 **cy**
0.5 Cu+5.0 Ca	4.747±0.410 **cx**	4.877±0.243 **cx**	4.790±0.241 **ax**

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

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

1.0 mg/L Cu ve Cu karışımlarında beyin GST aktivitesi kontrolle karşılaştırıldığında denenen tüm sürelerde azalma göstermiştir. 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca karışımında 7. ve 14. günde ve 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA karışımında 28. günde kontrole göre istatistik ayrım saptanmamıştır (P>0.05). Cu ve Cu + EDTA ortam derişimlerinde sürenin uzamasına bağlı olarak önemli bir değişiklik olmamıştır. 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca ortam derişiminde ise 28. günde 7 ve 14. güne göre önemli bir azalmaya neden olmuştur (Çizelge 4.36; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.36. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GST aktivitesi (U/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

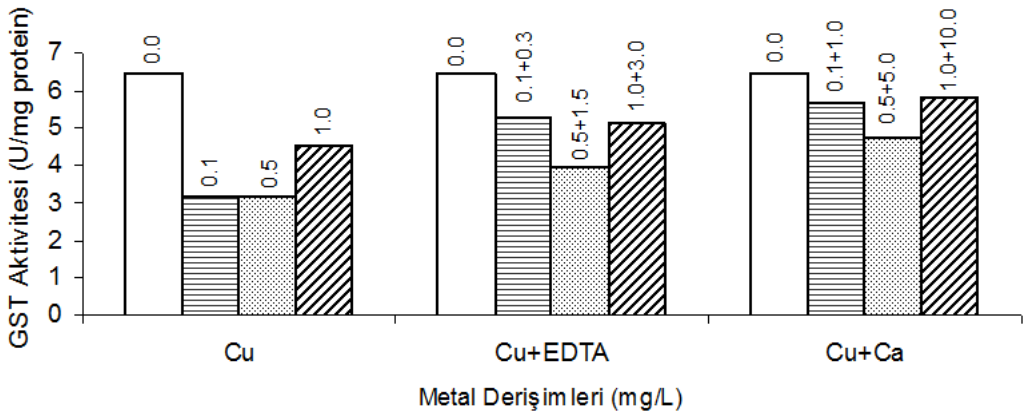
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	6.488±0.263 **ax**	6.232±0.265 **ax**	6.227±0.241 **ax**
1.0 Cu	4.529±0.284 **bx**	4.323±0.328 **bx**	3.519±0.558 **bx**
1.0 Cu+3.0 EDTA	5.155±0.228 **bcx**	4.773±0.318 **bx**	4.575±0.620 **abx**
1.0 Cu+10.0 Ca	5.815±0.387 **acx**	5.798±0.214 **ax**	3.341±0.651 **by**

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

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

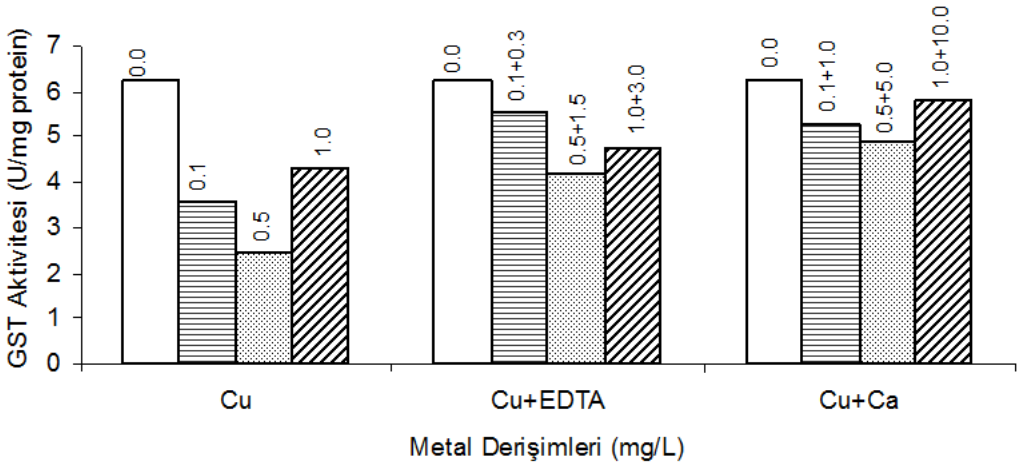
O. niloticus'da belirli bir sürede beyin GST aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarınınının derişime bağlı etkileri Şekil 4.31 – 4.33'de verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu ve Cu karışımlarında GST aktivitesi kontrole göre azalmaya neden olmuştur. Bu azalma doğrudan Cu derişimlerinde ve 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ile 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA karışımlarında önemli istatistik ayrım göstermiştir. 7 günlük süre sonunda Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca metal karışımlarının yüksek ortam derişimlerinde kontrol grubuna göre GST aktivitesinde sırasıyla %30, %21 ve %10 düzeyinde azalma saptanmıştır (Şekil 4.31; SNK, $P<0.05$).



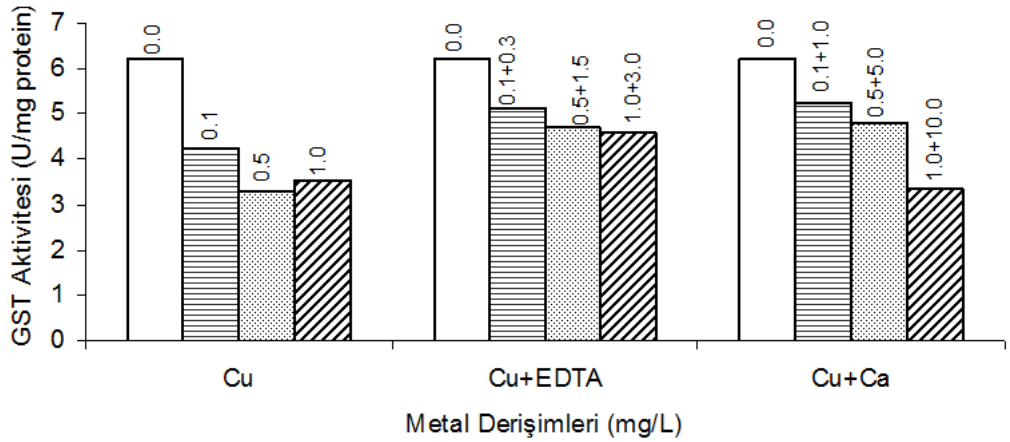
Şekil 4.31. 7. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimleri etkisinde beyin GST aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında azalma gözlenmiştir. Doğrudan denenen tüm Cu etkisinde ve 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA ile 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA karışımlarında GST aktivitesinin istatistik ayrım gösterdiği saptanmıştır. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sırasıyla %30, %23 ve %7 oranında azalma gerçekleşmiştir (Şekil 4.32; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.32. 14. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde Cu ve Cu karışımlarında GST aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında azalmıştır. Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca metal karışımlarının yüksek ortam derişimlerinde kontrol grubuna göre GST aktivitesinde sırasıyla %43, %27 ve %46 düzeyinde bir azalma saptanmıştır (Şekil 4.33; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.33. 28. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GST enzim aktivitesi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.3. Cu ve Cu – Ca, Cu – EDTA Karışımlarının Enzimatik Olmayan Antioksidantlar Üzerine Etkileri

4.3.1. Total Glutatyon Düzeyi

4.3.1.1. Karaciğer Dokusu Glutatyon Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde karaciğer dokusundaki GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.37-4.39'da gösterilmiştir.

0.1 mg/L ortam derişimi etkisinde denenen her üç sürede de Cu ve Cu karışımlarında GSH düzeyi kontrol grubuna göre 28. gün 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ortam derişimi hariç önemli düzeyde artmıştır ($P<0.05$). 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde süreye bağlı olarak GSH düzeyinde önce artış olurken sürenin uzamasıyla azalmıştır. Cu + EDTA karışımında süreler arasında istatistik ayrım gözlenmezken Cu + Ca karışımında 28. günde 7. ve 14. güne göre önemli azalma gözlenmiştir (Çizelge 4.37; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.37. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14. Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.552±0.010 **ax**	0.557±0.009 **ax**	0.554±0.005 **ax**
0.1 Cu	0.837±0.016 **bx**	0.877±0.012 **by**	0.741±0.011 **bz**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.612±0.013 **cx**	0.596±0.003 **cx**	0.570±0.011 **ax**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.732±0.009 **dx**	0.719±0.004 **dx**	0.632±0.015 **cy**

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

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

0.5 mg/L Cu ve Cu karışımları etkisinde 28. gün 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimi hariç denenen tüm sürelerde GSH düzeyi kontrole göre önemli artış göstermiştir. GSH düzeyinde gözlenen bu artışlar Cu ve Cu karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir. Cu'nun doğrudan etkisinde Cu karışımlarına oranla daha fazla artış gerçekleşmiştir. Cu ve Cu karışımlarında sürelerin uzamasına bağlı olarak GSH düzeyinde önemli azalma saptanmış olup bu azalma istatistik ayrım göstermiştir. (Çizelge 4.38; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.38. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14. Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	0.552±0.010 **ax**	0.557±0.009 **ax**	0.554±0.005 **ax**
0.5 Cu	1.011±0.031 **bx**	0.923±0.010 **by**	0.783±0.004 **bz**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.824±0.011 **cx**	0.733±0.006 **cy**	0.590±0.004 **cz**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.940±0.008 **dx**	0.876±0.011 **dy**	0.555±0.007 **az**

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

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

1.0 mg/L Cu ortam derişimlerinin doğrudan etkisinde tüm sürelerde GSH düzeyinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde artış olmuştur. Cu karışımlarında denenen her üç sürede de GSH düzeyi kontrole göre önemli oranda artarken sürenin uzamasıyla azalmıştır. GSH düzeyinde gözlenen bu artışlar Cu ve Cu karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir (Çizelge 4.39; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.39. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

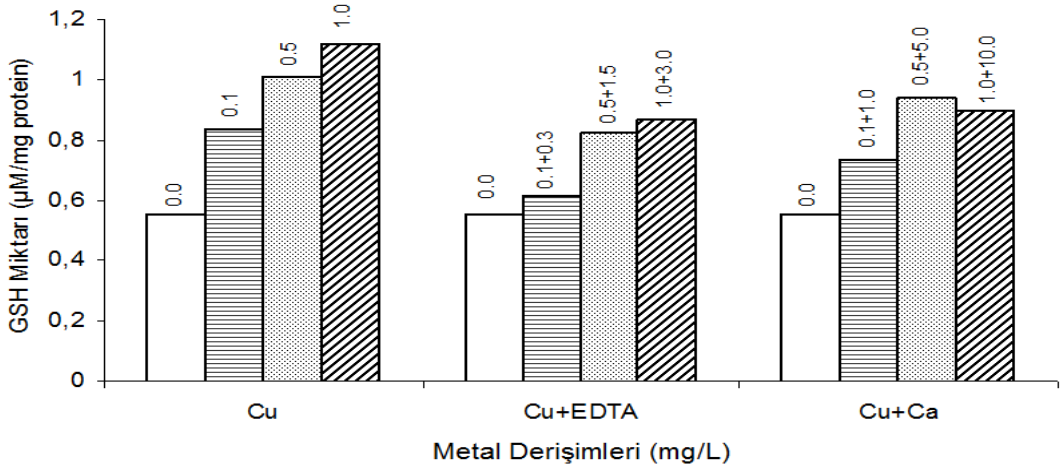
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.552±0.010 **ax**	0.557±0.009 **ax**	0.554±0.005 **ax**
1.0 Cu	1.121±0.045 **bx**	0.941±0.005 **by**	0.879±0.004 **by**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.870±0.019 **cx**	0.802±0.003 **cy**	0.783±0.003 **cy**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.895±0.011 **cx**	0.874±0.004 **dxy**	0.854±0.002 **dy**

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

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

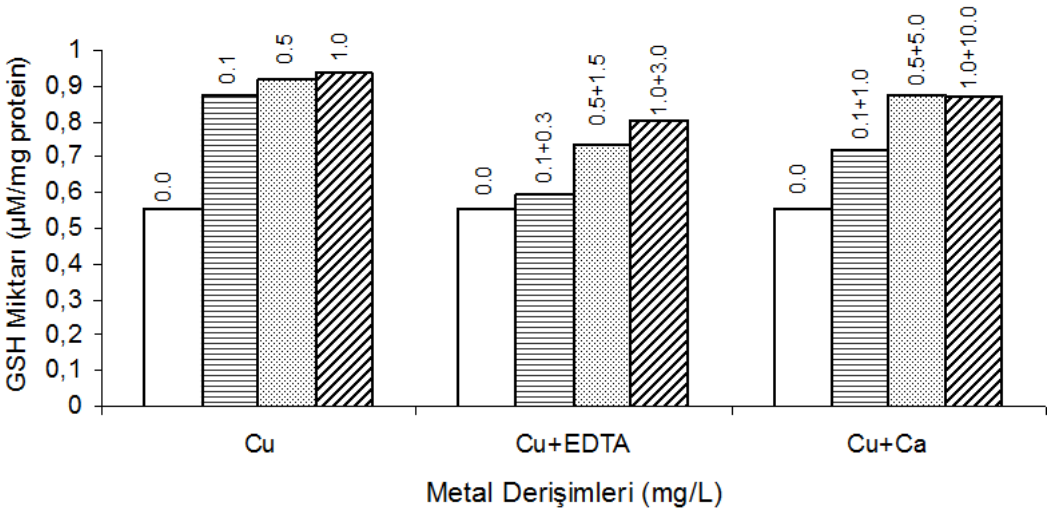
O. niloticus'da belirli bir sürede karaciğer GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.31 – 4.33'de verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde GSH düzeyi kontrol grubuna göre önemli artış göstermiştir. Ortamda bulunan Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA derişimleri arttıkça GSH düzeyinin arttığı saptanmıştır (P<0.05). Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en düşük derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %52, %11 ve %33 oranında artış gerçekleşmiştir (Şekil 4.34; SNK, P<0.05).



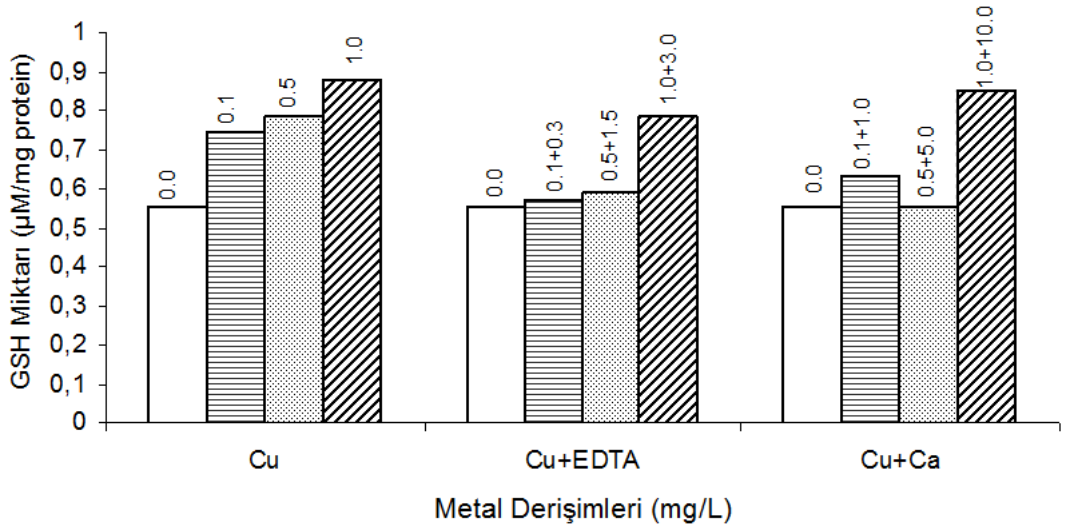
Şekil 4.34. 7. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu+ EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde denenen tüm Cu ve Cu karışımlarında GSH düzeyi kontrole göre önemli oranda artmıştır. Cu'nun doğrudan etkisindeki artış diğer derişimlere göre daha fazla olmuştur. Ortamda bulunan Cu, Cu + Ca ile Cu + EDTA derişimleri arttıkça GSH düzeyinin de arttığı belirlenmiştir. 1.0 mg/L Cu, 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA, 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde GSH düzeyi kontrole oranla sırasıyla % 69, %44 ve %57 oranında artmıştır (Şekil 4.35; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.35. 14. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen Cu ve Cu karışımlarında GSH düzeyi kontrol grubuna göre önemli düzeyde artmıştır. Bu değerler 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ve 0.5 mg/L Cu ve 5.0 mg/L Ca metal karışımlarında istatistik ayrım göstermezken diğer ortam derişimlerinde önemli istatistik ayrım göstermiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en yüksek derişimlerinde GSH düzeyinde kontrole göre sırasıyla %59, %41 ve %54 oranında artış saptanmıştır (Şekil 4.36; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.36. 28. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.3.1.2. Böbrek Dokusu Glutatyon Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde böbrek dokusundaki GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.40-4.42'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde denenen her üç sürede de GSH düzeyinde kontrole göre önemli artış gözlenirken süreler arasında istatistik ayrım gözlenmemiştir. 28. gün Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımları ile 14. gün Cu + Ca karışımında GSH düzeyinde kontrole göre önemli değişiklik gözlenmezken, diğer ortam derişimlerinde kontrole göre önemli düzeyde artış olmuştur. Cu karışımları etkisinde böbrek GSH düzeyi sürenin uzamasına bağlı olarak önemli düzeyde azaldığı saptanmıştır (Çizelge 4.40; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.40. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.126±0.003 **ax**	0.122±0.005 **ax**	0.123±0.003 **ax**
0.1 Cu	0.154±0.005 **bx**	0.161±0.002 **bx**	0.150±0.004 **bx**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.169±0.003 **cx**	0.146±0.002 **cy**	0.122±0.003 **az**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.157±0.007 **bcx**	0.129±0.005 **ay**	0.120±0.005 **ay**

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

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

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde denenen her üç sürede de Cu ve Cu karışımlarında böbrek GSH düzeyinde bir artış olduğu belirlenmiştir. 28. gündeki Cu karışımları hariç diğer derişimlerde kontrole göre önemli istatistik ayrım gözlenmiştir. Böbrek GSH düzeyinde Cu ve Cu + Ca ortam derişimlerinde süreler arasında istatistik ayrım gözlenmezken Cu + EDTA ortam derişiminde 28. günde 14. güne oranla önemli azalma gerçekleşmiştir (Çizelge 4.41; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.41. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.126±0.003 **ax**	0.122±0.005 **ax**	0.123±0.003 **ax**
0.5 Cu	0.167±0.003 **bx**	0.172±0.004 **bx**	0.157±0.005 **bx**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.144±0.004 **cxy**	0.150±0.002 **cx**	0.131±0.006 **ay**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.148±0.004 **cx**	0.135±0.006 **dx**	0.133±0.007 **ax**

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

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

1.0 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde böbrek GSH düzeyinde denenen tüm sürelerde kontrole göre önemli oranda artış belirlenmiştir.

Cu karışımlarının etkisinde 7. günde GSH düzeyi kontrole göre önemli düzeyde arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.42; SNK, P<0.05). İncelenen Cu karışımlarının etkisinde böbrek GSH düzeyinin sürenin uzamasına bağlı olarak önemli düzeyde azaldığı saptanmıştır.

Çizelge 4. 42. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

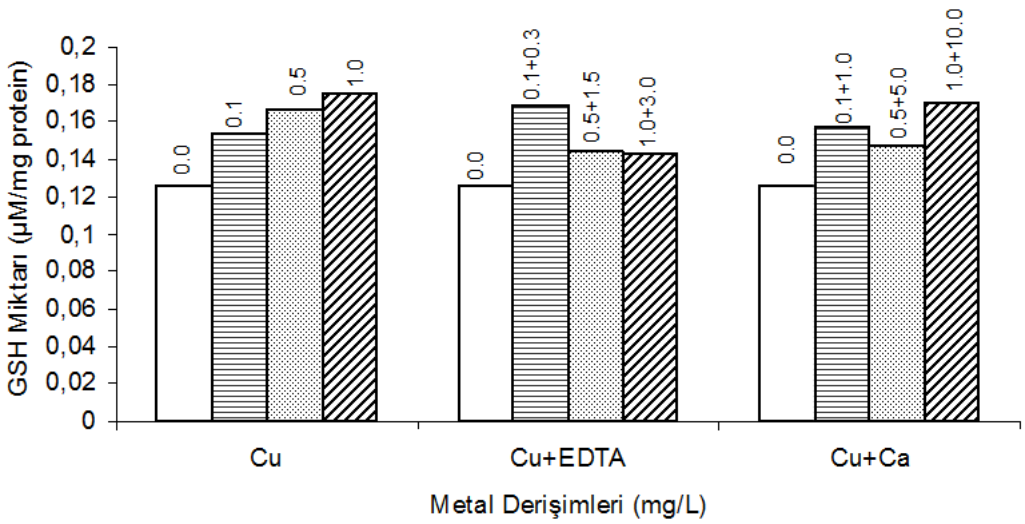
	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.126±0.003 **ax**	0.122±0.005 **ax**	0.123±0.003 **ax**
1.0 Cu	0.176±0.002 **bx**	0.181±0.004 **bx**	0.161±0.004 **by**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.143±0.004 **cx**	0.123±0.004 **ay**	0.128±0.006 **ay**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.170±0.009 **bx**	0.138±0.006 **cy**	0.122±0.010 **ay**

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

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

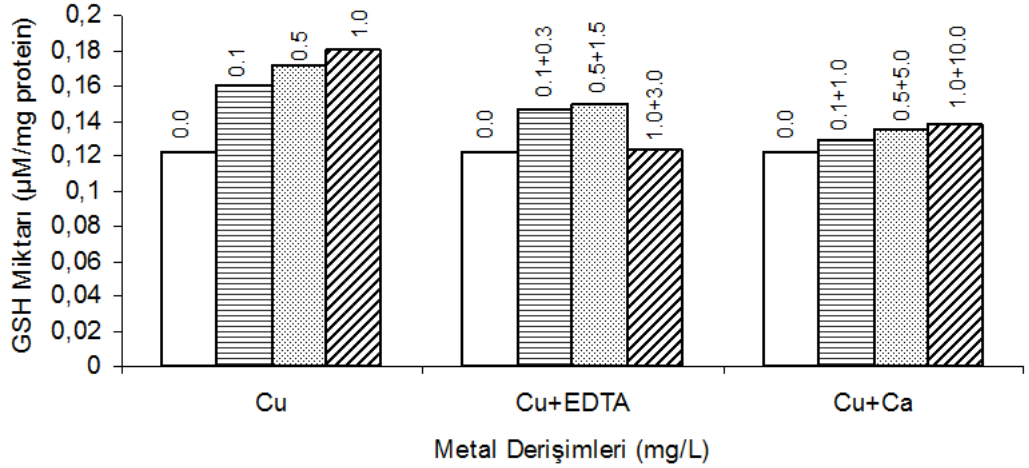
O. niloticus'da belirli bir sürede böbrek dokusundaki GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.34 – 4.36'da verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde GSH düzeyi kontrol grubuna göre yüksek çıkmıştır. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en düşük derişimlerinde GSH düzeyi kontrole göre sırasıyla %22, %34 ve %25 oranında artmıştır (Şekil 4.37; SNK, P<0.05). Ortamda bulunan Cu derişimi arttıkça böbrek GSH düzeyinin de arttığı belirlenmiştir.



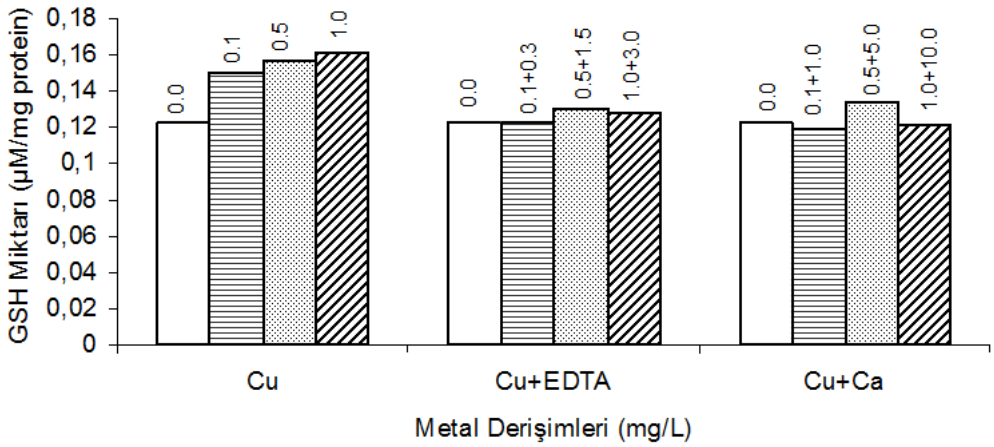
Şekil 4.37. 7. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde Cu ve Cu karışımlarında beyin GSH düzeyinde kontrole göre artış olmuştur. 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ve 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA karışımlarında kontrole göre istatistik ayrım gözlenmemiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde GSH düzeyi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sırasıyla %41, %23 ve %11 düzeyinde artış gerçekleşmiştir (Şekil 4.38; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.38. 14. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde böbrek GSH düzeyinde Cu'nun doğrudan etkisinde kontrole kıyasla önemli artış saptanmıştır. Cu karışımlarında ise kontrole göre istatistiksel bir ayrım gözlenmemiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/LCu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde GSH düzeyi kontrole göre sırasıyla %28, %7 ve %8 oranında artış göstermiştir (Şekil 4.39; SNK, P<0.05).



Şekil 4.39. 28. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.3.1.3. Solungaç Dokusu Glutatyon Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde solungaç dokusundaki GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.43-4.45'te gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde denenen tüm sürelerde Cu'nun tek başına etkisinde solungaç GSH düzeyi kontrole oranla önemli artış göstermiştir. GSH düzeyi 7. günde Cu + Ca ile 14. günde Cu + EDTA karışımlarında kontrole göre istatistik ayrım gözlenmezken diğer Cu karışımlarında denenen tüm sürelerde önemli artış belirlenmiştir. 0.1 mg/L Cu ile 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca karışımlarında süreye bağlı olarak 14. günde 7. güne oranla önemli oranda azalırken sürenin uzamasıyla önemli oranda artmıştır. 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişiminde ise süreye bağlı olarak önemli oranda artış gözlenmiştir (Çizelge 4.43; SNK, P<0.05).

Çizelge 4. 43. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.229±0.003 **ax**	0.227±0.009 **ax**	0.225±0.006 **ax**
0.1 Cu	0.292±0.001 **bx**	0.257±0.003 **by**	0.470±0.005 **bz**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.247±0.003 **cx**	0.223±0.006 **ay**	0.423±0.004 **cz**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.226±0.004 **ax**	0.291±0.007 **cy**	0.466±0.009 **bz**

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

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

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde denenen tüm sürelerde Cu'nun tek başına etkisinde GSH düzeyinde kontrole göre ve sürelerin uzamasına bağlı olarak önemli oranda artış kaydedilmiştir. 14 günlük süre sonunda Cu karışımlarında 7 günlük süre sonlarında ise 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA ortam derişimleri hariç Cu karışımlarının etkisinde GSH düzeyi önemli düzeyde artmıştır. Cu karışımlarında GSH düzeyinin süreye bağlı olarak önce azaldığı, sürenin uzamasıyla da arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.44; SNK, P<0.05).

Çizelge 4. 44. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.229±0.003 **ax**	0.227±0.009 **ax**	0.225±0.006 **ax**
0.5 Cu	0.303±0.003 **bx**	0.335±0.008 **by**	0.510±0.006 **bz**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.232±0.003 **ax**	0.212±0.008 **ax**	0.353±0.004 **cy**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.267±0.003 **cx**	0.232±0.006 **ay**	0.387±0.005 **dz**

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

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

1.0 mg/L Cu ve Cu karışımları etkisinde denenen tüm sürelerde GSH düzeyi kontrole göre önemli oranda artış göstermiştir. GSH düzeyi Cu'nun doğrudan etkisinde sürenin uzamasına bağlı olarak önemli oranda artarken 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA karışımında önce azalmış sonra artmıştır. 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca karışımında ise 28. günde 14. güne göre önemli oranda artış gözlenmiştir (Çizelge 4.45; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.45. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

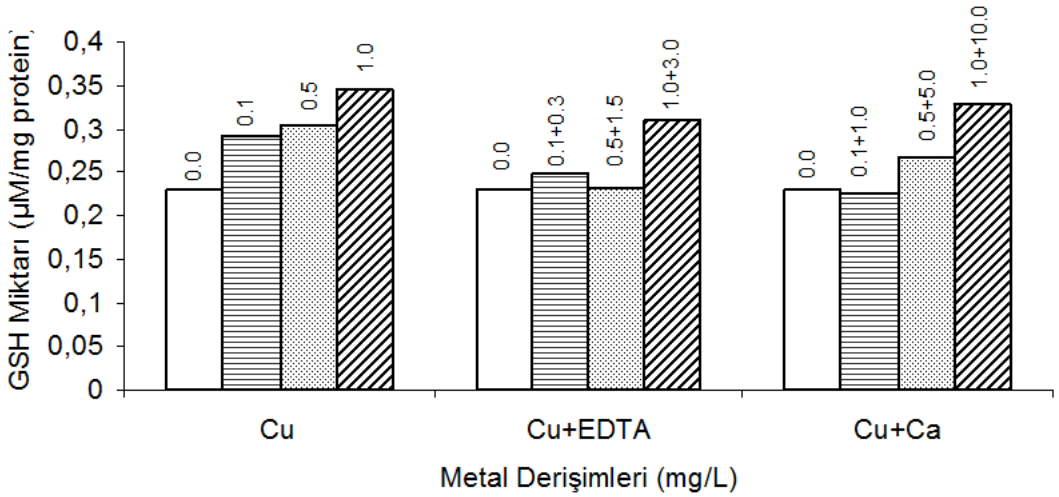
	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14. Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.229±0.003 **ax**	0.227±0.009 **ax**	0.225±0.006 **ax**
1.0 Cu	0.344±0.005 **bx**	0.396±0.003 **by**	0.569±0.006 **bz**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.311±0.004 **cx**	0.241±0.006 **cy**	0.380±0.004 **cz**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.329±0.004 **dx**	0.324±0.003 **dx**	0.351±0.005 **dy**

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

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

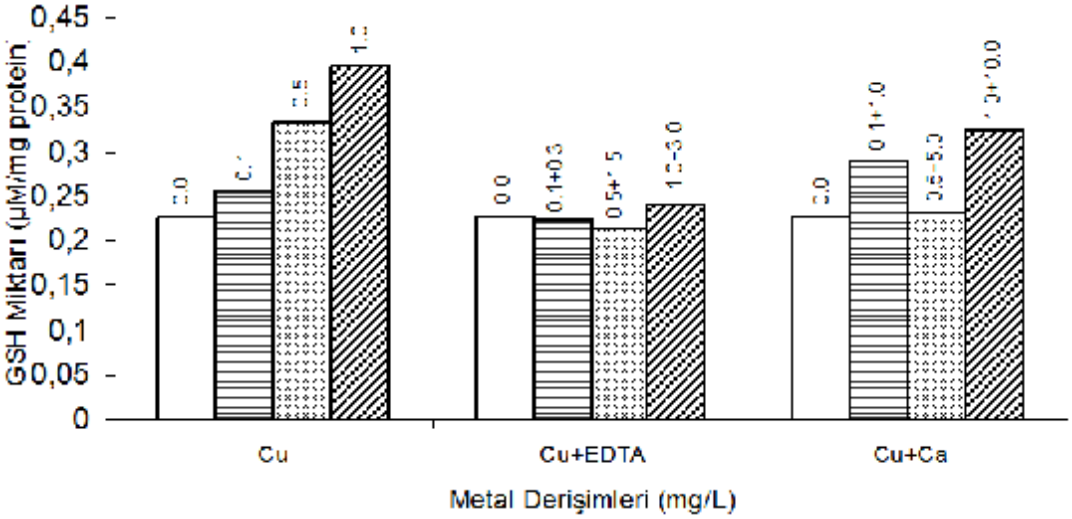
O. niloticus'da belirli bir sürede solungaç GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.37 – 4.39'da verilmiştir.

7. günde GSH düzeyi 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ile 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA ortam derişimleri hariç Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinde kontrole göre artmıştır. GSH düzeyinde en fazla artış 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde olmuştur. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en yüksek derişimlerinde GSH düzeyi kontrol grubuna göre sırasıyla %50, %36 ve %44 oranında artmıştır (Şekil 4.40; SNK, $P<0.05$).



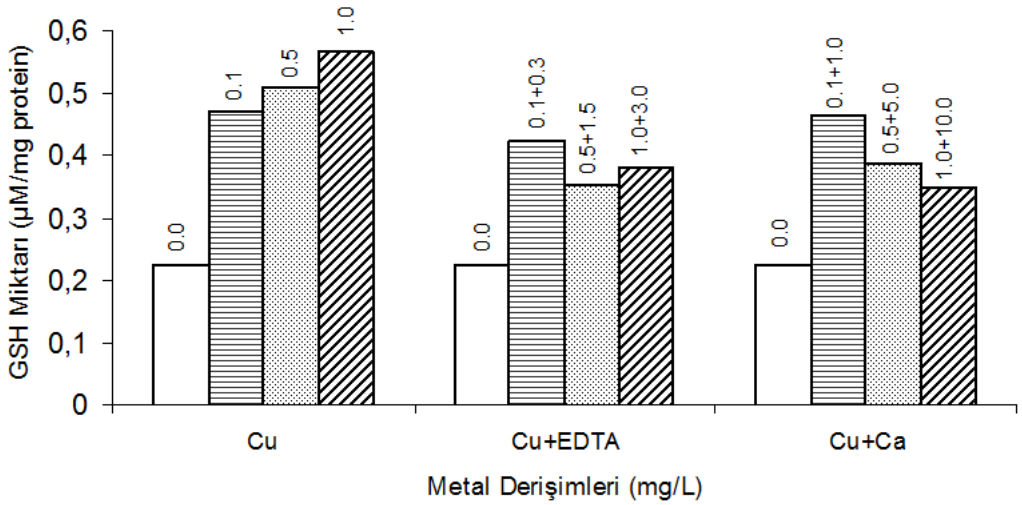
Şekil 4.40. 7. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi

14. günde doğrudan Cu ortam derişiminlerinin etkisinde GSH düzeyi kontrole kıyasla önemli oranda artmıştır. Cu + EDTA karışımlarında kontrole göre önemli bir değişiklik olmazken Cu + Ca ortam derişimlerinde 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimi hariç kontrole göre önemli artış olmuştur. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en yüksek derişimlerinde GSH düzeyi kontrole göre sırasıyla %74, %6 ve %43 oranında artmıştır (Şekil 4.41; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.41. 14. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde GSH düzeyi kontrole göre önemli oranda artış göstermiştir. Ortamda bulunan Cu derişimleri arttıkça solungaç GSH düzeyinin de arttığı belirlenmiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca metal karışımlarının en düşük derişimlerinde GSH düzeyi kontrol grubuna göre sırasıyla %109, %88 ve %107 oranında artmıştır (Şekil 4.42; SNK, P<0.05).



Şekil 4.42. 28. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.3.1.4. Beyin Dokusu Glutatyon Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde beyin dokusundaki GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.46-4.48'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ile Cu karışımlarında GSH düzeyi denenen tüm sürelerde kontrole göre azalmıştır. GSH düzeyinde gözlenen bu azalma Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir (P<0.05) Cu ve Cu + Ca ortam derişimlerinde beyin GSH düzeyi sürenin uzamasına bağlı olarak, Cu'nun tek başına etkisinde azalmış, Cu + Ca karışımında ise 14. günde azalmış, 28. günde ise artış göstermiştir (Çizelge 4.46; SNK, P<0.05).

Çizelge 4. 46. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.719±0.001 **ax**	0.718±0.002 **ax**	0.717±0.004 **ax**
0.1 Cu	0.432±0.007 **bx**	0.324±0.003 **by**	0.343±0.013 **by**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.610±0.001 **cx**	0.581±0.003 **cx**	0.613±0.003 **cx**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.593±0.004 **cx**	0.513±0.008 **dy**	0.640±0.009 **cz**

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

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

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde, denenen tüm sürelerde Cu'nun tek başına etkisinde GSH düzeyi kontrole göre önemli düzeyde azalmıştır. Cu + EDTA karışımının 7. ve 14. günü ile Cu + Ca karışımının 14. ve 28. gününde GSH düzeyi kontrolle karşılaştırıldığında önemli bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir. Cu ve Cu karışımlarında sürenin uzamasına bağlı olarak GSH düzeyinde önemli oranda artış saptanmıştır (Çizelge 4.47; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.47. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.719±0.001 **ax**	0.718±0.002 **ax**	0.717±0.004 **ax**
0.5 Cu	0.489±0.003 **bx**	0.521±0.002 **by**	0.529±0.007 **by**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.671±0.020 **acx**	0.686±0.014 **ay**	0.781±0.011 **cz**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.611±0.030 **cx**	0.659±0.032 **ay**	0.721±0.002 **az**

* : 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 ($P<0.05$).

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

1.0 mg/L Cu'nun tek başına etkisinde denenen her üç sürede de GSH düzeyi kontrole oranla önemli azalma göstermiş ve 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA ortam derişimi 7. günde kontrole göre önemli düzeyde azalırken 28. günde önemli oranda artmıştır. Süreye bağlı olarak Cu karışımlarında GSH düzeyinde istatistik ayrım olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.48; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4. 48. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde beyin GSH miktarı (µM/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

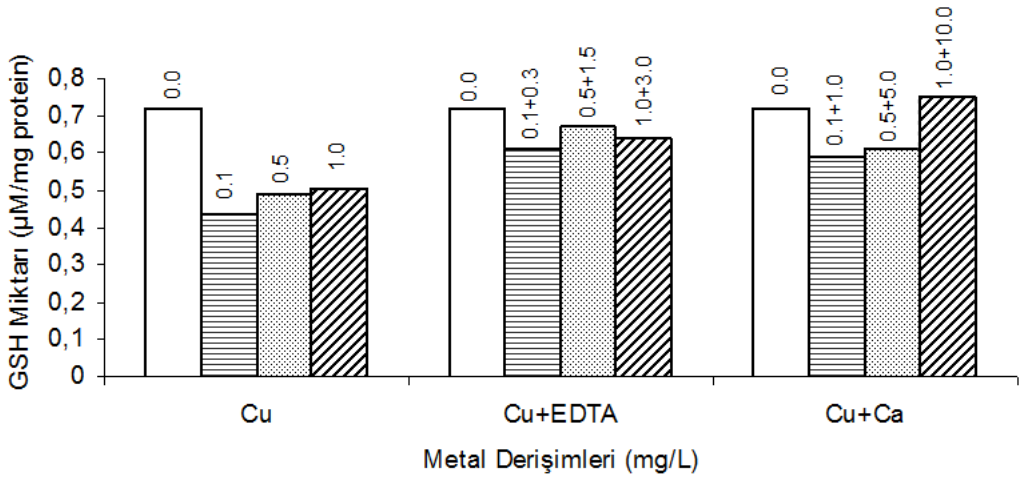
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.719±0.001 **ax**	0.718±0.002 **ax**	0.717±0.004 **ax**
1.0 Cu	0.499±0.004 **bx**	0.561±0.005 **by**	0.553±0.004 **bz**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.639±0.004 **cx**	0.733±0.016 **ay**	0.769±0.011 **cy**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.752±0.032 **ax**	0.705±0.005 **ay**	0.703±0.006 **ay**

* : 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 ($P<0.05$).

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

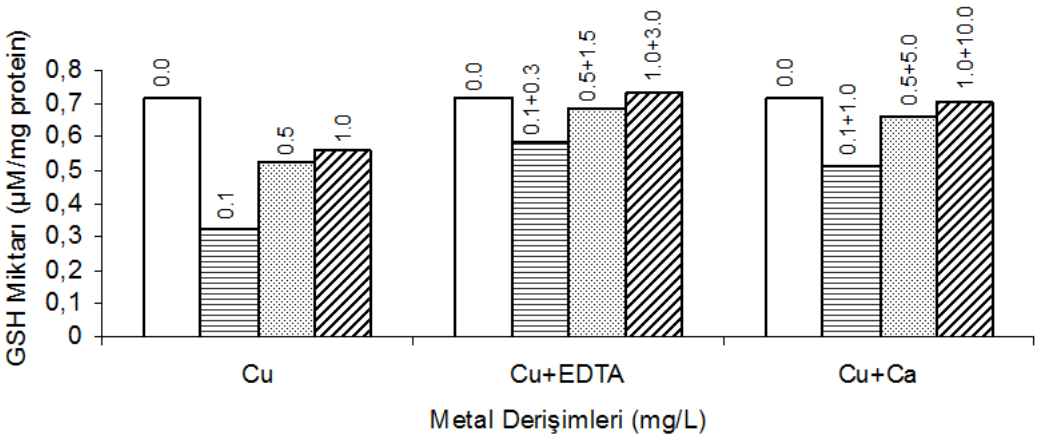
O. niloticus'da belirli bir sürede beyin GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.43 – 4.45'te verilmiştir.

7. günde 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca karışımı hariç denenen Cu ve Cu ortam derişimlerinde GSH düzeyi kontrol grubuna göre önemli oranda azalmıştır. GSH düzeyindeki azalma Cu ortam derişimlerinin doğrudan etkilerinde daha fazla olmuştur. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en düşük derişimlerinde GSH düzeyi kontrolle karşılaştırıldığında sırasıyla %40, %15 ve %18 oranında azalma belirlenmiştir (Şekil 4.43; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.43. 7. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

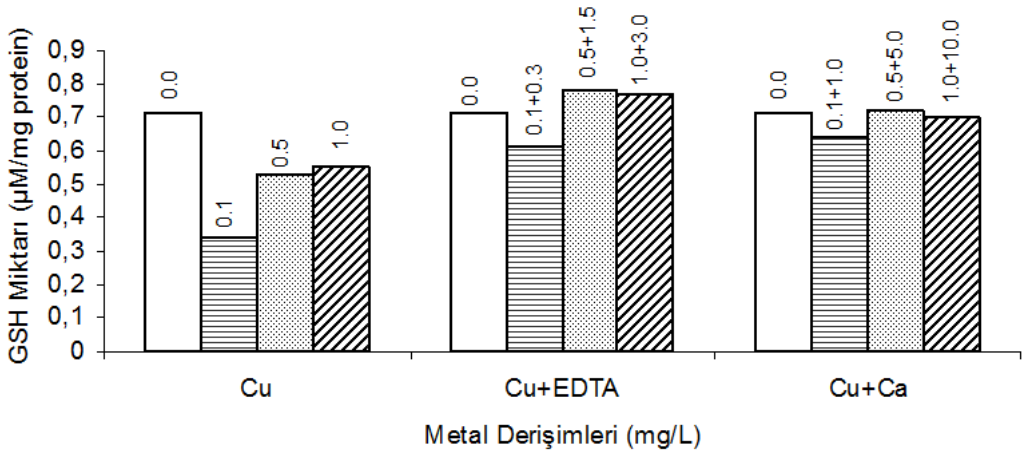
14. günde 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA ortam derişimi hariç denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde, beyin GSH düzeyi kontrolle karşılaştırıldığında önemli oranda azaldığı belirlenmiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde, GSH düzeyinde kontrole kıyasla sırasıyla %27, %4 ve %8 oranında bir azalma gerçekleşmiştir (Şekil 4.44; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.44. 14. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi

28. günde denenen tüm Cu ortam derişimleri ve 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ile 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca karışımları etkisinde beyin GSH düzeyi kontrole göre önemli oranda azalma göstermiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca

metal karışımlarının en düşük derişimlerinde GSH düzeyi kontrol grubuna göre sırasıyla %52, %15 ve %11 oranında azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.45; SNK, P<0.05).



Şekil 4.45. 28. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda GSH düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.3.2. Albumin Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde serum albumin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.49-4.51'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ile Cu karışımlarında serum albumin düzeyinde denenen tüm sürelerde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli artışlar saptanmıştır. 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde 7. ve 14. günler arasında istatistik ayrım gözlenmezken 28. günde önemli artış gözlenmiştir. Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarında sürenin uzamasına bağlı olarak önemli oranda artışın olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.49; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.49. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde serum albumin düzeyi (g/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	1.317±0.018 **ax**	1.320±0.023 **ax**	1.313±0.022 **ax**
0.1 Cu	1.473±0.012 **bx**	1.513±0.019 **bx**	1.650±0.116 **by**
0.1 Cu+0.3 EDTA	1.373±0.019 **cx**	1.410±0.012 **cxy**	1.460±0.017 **cy**
0.1 Cu+1.0 Ca	1.447±0.012 **bx**	1.507±0.009 **by**	1.587±0.003 **dz**

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

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

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde denenen her üç sürede de Cu ve Cu karışımlarında serum albumin düzeyinde kontrole göre önemli artışın olduğu gözlenmiştir. Albumin düzeyinde gözlenen artışlar Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir (P<0.05). Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarında sürenin uzamasına bağlı olarak önemli oranda artışın olduğu kaydedilmiştir (Çizelge 4.50; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.50. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde serum albumin düzeyi (g/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	1.317±0.018 **ax**	1.320±0.023 **ax**	1.313±0.022 **ax**
0.5 Cu	1.550±0.015 **bx**	1.603±0.009 **by**	1.667±0.012 **bz**
0.5 Cu+1.5 EDTA	1.427±0.015 **cx**	1.483±0.007 **cy**	1.533±0.015 **cz**
0.5 Cu+5.0 Ca	1.500±0.006 **dx**	1.533±0.009 **dy**	1.603±0.009 **dz**

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

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

1.0 mg/L Cu etkisinde ve Cu karışımlarında denenen her üç sürede de serum albumin düzeyinde kontrol grubuna göre önemli artış gözlenmiştir. Albumin

düzeyinde gözlenen artışlar Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir (P<0.05). Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarında süreye bağlı olarak serum albumin düzeyinde önemli bir artışın olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.51; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.51. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde serum albumin düzeyi (g/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

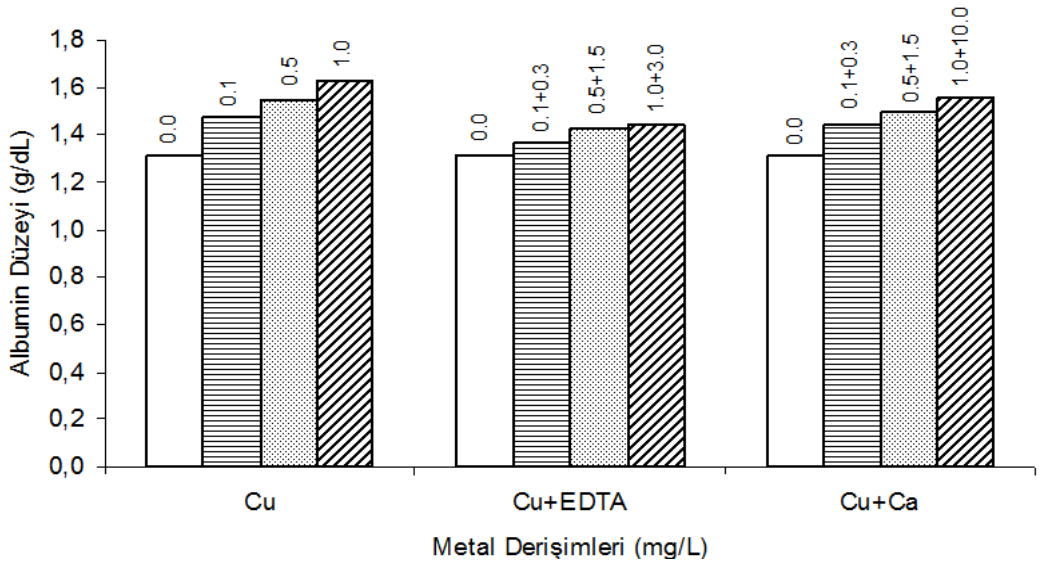
	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14. Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	1.317±0.018 **ax**	1.320±0.023 **ax**	1.313±0.022 **ax**
1.0 Cu	1.627±0.015 **bx**	1.703±0.009 **by**	1.807±0.015 **bz**
1.0 Cu+3.0 EDTA	1.443±0.012 **cx**	1.497±0.012 **cy**	1.573±0.012 **cz**
1.0 Cu+10.0 Ca	1.560±0.015 **dx**	1.610±0.027 **dy**	1.727±0.009 **dz**

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

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

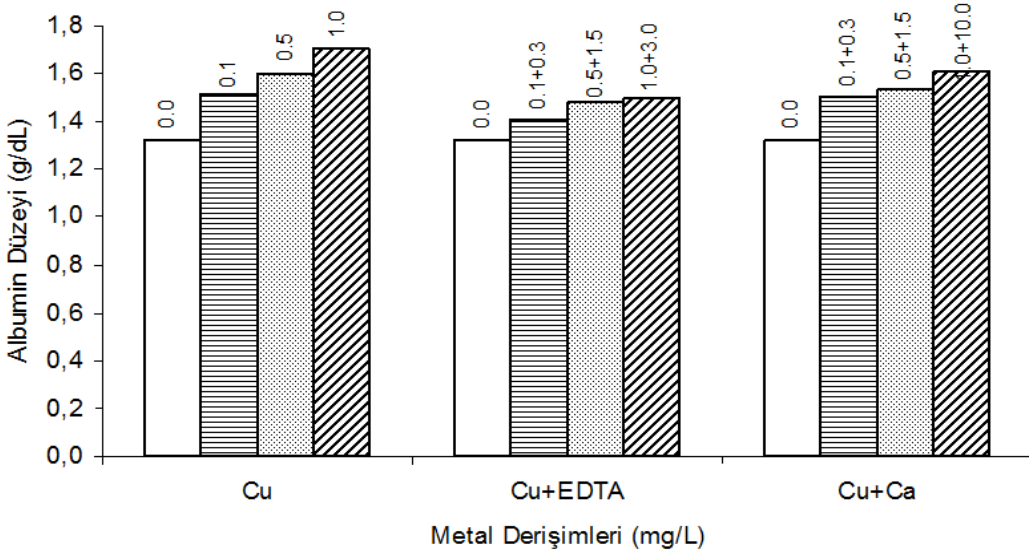
O. niloticus'da belirli bir sürede serum albumin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.43 – 4.45'te verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde serum albumin düzeyi kontrole göre önemli artış göstermiştir. Cu'nun etkisindeki artışın karışımların etkisine oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ortamda bulunan Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca derişimlerinin artmasıyla albumin düzeyinin de arttığı belirlenmiştir (SNK, P<0.05). Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en yüksek derişimlerinde albumin düzeyi kontrole göre sırasıyla %24, %9 ve %18 oranında artmıştır (Şekil 4.46; SNK, P<0.05).



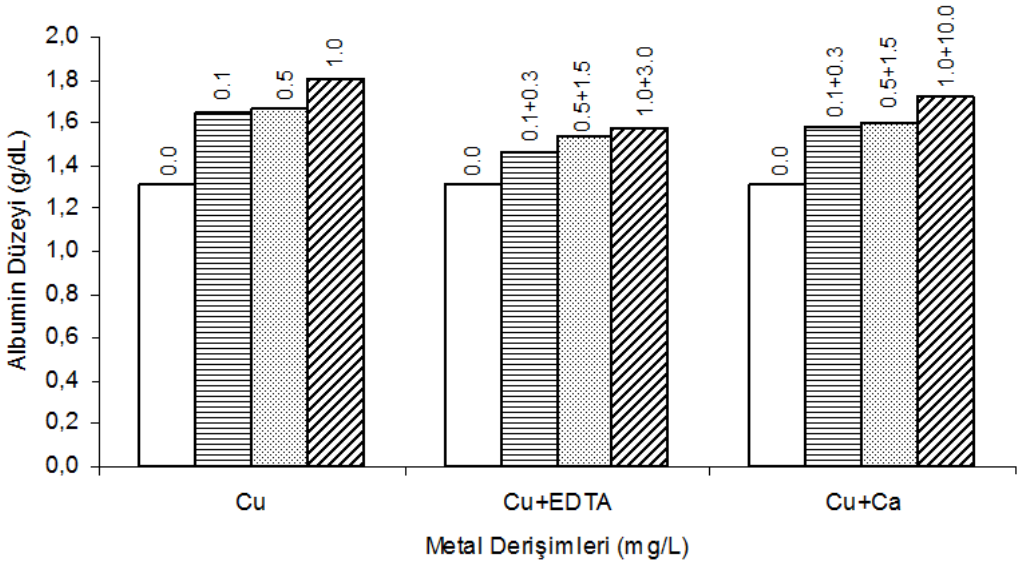
Şekil 4.46. 7. günde *O. niloticus*'un serum albumin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde Cu ve Cu karışımlarının etkisinde serum albumin düzeyi kontrole kıyasla önemli artış göstermiştir. Ortamda bulunan Cu, Cu + Ca ve Cu + EDTA derişimleri arttıkça albümin düzeyinin de arttığı saptanmıştır (SNK, $P<0.05$). 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/LCu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimleri etkisinde kontrol grubuna göre sırasıyla %21, %12 ve %16 oranında artış kaydedilmiştir (Şekil 4.47; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.47. 14. günde *O. niloticus*'un serum albumin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinde serum albumin düzeyi kontrol grubuna göre önemli artış göstermiştir. Ortamda bulunan Cu, Cu + Ca ve Cu + EDTA derişimleri arttıkça albümin düzeyinin de arttığı saptanmıştır (SNK, P<0.05). Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en yüksek derişimlerinde albumin düzeyinde kontrole kıyasla sırasıyla %38, %20 ve %32 oranında artış gerçekleşmiştir (Şekil 4.48; SNK, P<0.05).



Şekil 4.48. 28. günde *O. niloticus*'un serum albumin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.3.3. Bilirubin Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde serum bilirubin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.52-4.54'te gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde denenen süreler sonunda Cu ve Cu karışımlarında serum bilirubin düzeyi kontrol grubuna kıyasla önemli oranda artmıştır. Cu ve Cu karışımlarında sürenin uzamasına bağlı olarak serum bilirubin düzeyinde önemli artış olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.52; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.52. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde serum bilirubin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.014±0.003 **ax**	0.013±0.002 **ax**	0.014±0.002 **ax**
0.1 Cu	0.042±0.002 **bx**	0.041±0.001 **by**	0.044±0.002 **bz**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.024±0.002 **cx**	0.031±0.001 **cx**	0.037±0.001 **cy**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.029±0.001 **cx**	0.038±0.002 **by**	0.045±0.001 **bz**

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

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

0.5 mg/L Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA ortam derişiminde denenen her üç sürede de serum bilirubin düzeyi kontrole göre önemli artış göstermiştir. Serum bilirubin düzeyi denenen tüm ortam derişimlerinde sürenin uzamasıyla önemli artış göstermiştir (Çizelge 4.53; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.53. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde serum bilirubin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.014±0.003 **ax**	0.013±0.002 **ax**	0.014±0.002 **ax**
0.5 Cu	0.045±0.002 **bx**	0.054±0.002 **by**	0.062±0.002 **bz**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.023±0.001 **cx**	0.034±0.001 **cx**	0.038±0.001 **cy**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.032±0.002 **dx**	0.040±0.001 **dy**	0.043±0.001 **dz**

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

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

1.0 mg/L Cu ve Cu karışımları etkisinde bilirubin düzeyinde denenen tüm sürelerde kontrole göre önemli artış olmuştur. Cu ve Cu + EDTA ortam derişiminde sürenin uzamasıyla bilirubin düzeyinde önemli artış gerçekleşmiştir (Çizelge 4.54; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.54. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde serum bilirubin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

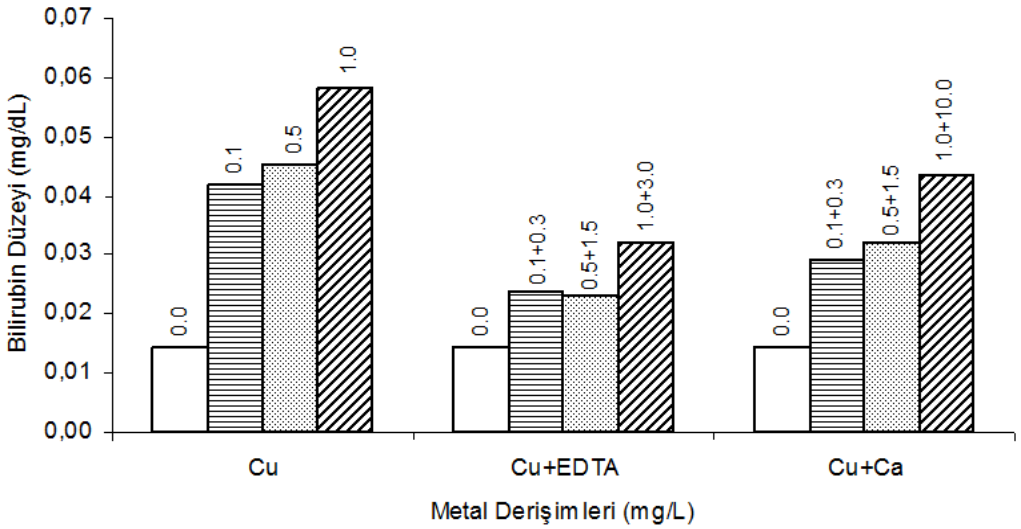
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.014±0.003 **ax**	0.013±0.002 **ax**	0.014±0.002 **ax**
1.0 Cu	0.058±0.001 **bx**	0.067±0.001 **by**	0.073±0.001 **bz**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.032±0.002 **cx**	0.040±0.002 **cx**	0.045±0.002 **cy**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.044±0.001 **dx**	0.047±0.001 **dxy**	0.052±0.002 **dy**

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

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

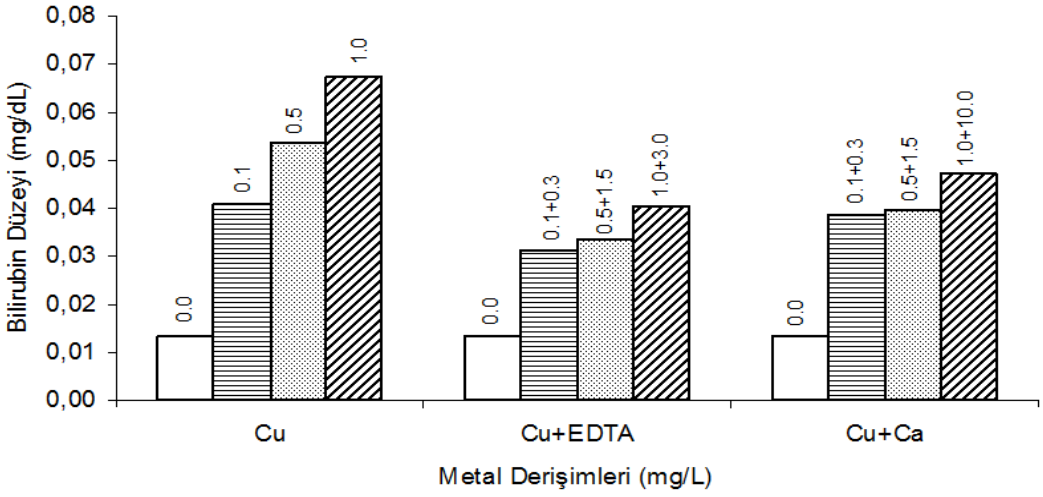
O. niloticus'da belirli bir sürede serum bilirubin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.49 – 4.51'de verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde serum bilirubin düzeyi kontrole göre önemli artış göstermiştir. Ortamda bulunan Cu ve Cu derişimlerinin artışına bağlı olarak bilirubin düzeyinin de arttığı belirlenmiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca metal karışımlarının en düşük derişimlerinde bilirubin düzeyi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yaklaşık olarak sırasıyla 3 kat ve 2'şer kat arttığı saptanmıştır (Şekil 4.49; SNK, $P<0.05$).



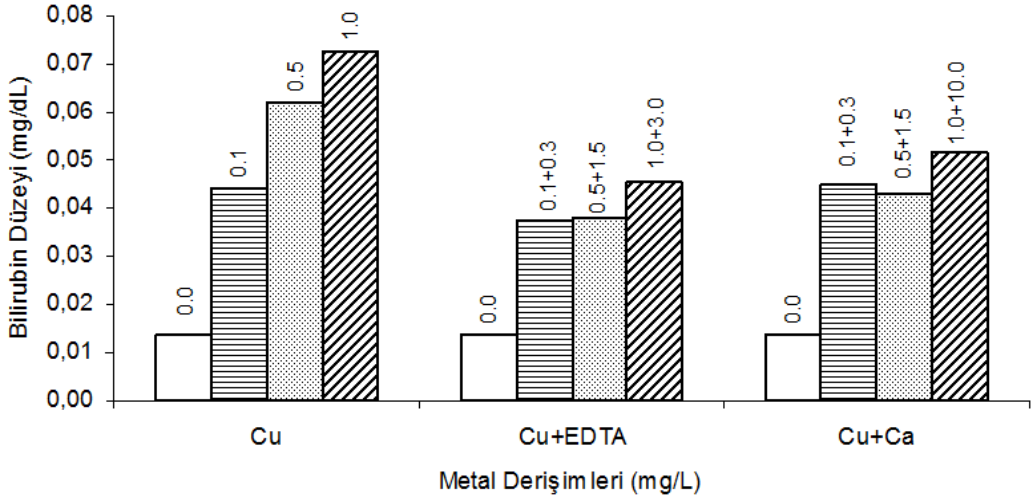
Şekil 4.49. 7. günde *O. niloticus*'un serum bilirubin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde denenen tüm Cu ve Cu karışımlarında serum bilirubin düzeyinde kontrole göre önemli artış belirlenmiştir. Cu derişiminde 10 katlık bir artış serum bilirubin düzeyinde yaklaşık 2 katlık bir artışa neden olmuştur. Bilirubin düzeyindeki artışın Cu'nun doğrudan etkisinde Cu karışımları etkisine oranla daha fazla olduğu gözlenmiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/LCu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimleri etkisinde kontrole göre yaklaşık olarak sırasıyla 4 ve 3'er katlık bir artış gerçekleşmiştir (Şekil 4.50; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.50. 14. günde *O. niloticus*'un bilirubin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde serum bilirubin düzeyi kontrole göre önemli oranda artmıştır. Ortamda bulunan Cu ve Cu derişimleri arttıkça serum bilirubin düzeyinin de arttığı belirlenmiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca metal karışımlarının en yüksek derişimlerinde bilirubin düzeyi kontrole göre yaklaşık olarak sırasıyla 5, 3 ve 4 katlık bir artışın olduğu saptanmıştır (Şekil 4.51; SNK, P<0.05).



Şekil 4.51. 28. günde *O. niloticus*'un bilirubin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.3.4. Transferrin Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde serum transferrin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.55-4.57'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ve Cu karışımlarında ortam derişiminde her üç sürede de serum transferrin düzeyi kontrole kıyasla önemli oranda artmıştır. Serum transferrin düzeyindeki bu artış Cu ve Cu + Ca ile Cu + EDTA karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişimlerinde serum transferrin düzeyinde 7 ve 14. günler arasında istatistik ayrım vardır (Çizelge 4.55; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.55. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde serum transferrin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.220±0.006 **ax**	0.233±0.009 **ax**	0.227±0.007 **ax**
0.1 Cu	0.307±0.009 **bx**	0.373±0.012 **by**	0.347±0.009 **by**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.263±0.003 **cx**	0.297±0.012 **cy**	0.260±0.006 **cx**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.287±0.007 **bcx**	0.320±0.006 **cy**	0.293±0.003 **cx**

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

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

0.5 mg/L Cu ve Cu karışımlarında 7, 14 ve 28 günlük süre sonlarında serum transferrin düzeyi kontrol grubuna kıyasla önemli oranda artmıştır. Transferrin düzeyindeki bu artış Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir. Denenen tüm ortam derişimlerinde transferrin düzeyi 14. günde önemli oranda artmış sürenin uzamasıyla da önemli oranda azalmıştır (Çizelge 4.56; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.56. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde serum transferrin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.220±0.006 **ax**	0.233±0.009 **ax**	0.227±0.007 **ax**
0.5 Cu	0.370±0.012 **bx**	0.440±0.006 **by**	0.407±0.012 **bz**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.287±0.001 **cx**	0.337±0.007 **cy**	0.313±0.007 **cz**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.323±0.007 **dx**	0.410±0.010 **dy**	0.377±0.003 **dz**

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

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

1.0 mg/L Cu ve Cu karışımları etkisinde denenen tüm sürelerde serum transferrin düzeyi kontrol grubuna göre önemli bir artış göstermiştir. Cu ve Cu +

EDTA ile Cu + Ca karışımlarının etkisinde serum transferrin düzeyinde 7. güne oranla 14. günde önemli bir artış olmuştur. 14 ve 28. günler arasında ise önemli bir değişikliğin olmadığı belirleniştir (Çizelge 4.57; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.57. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde serum transferrin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

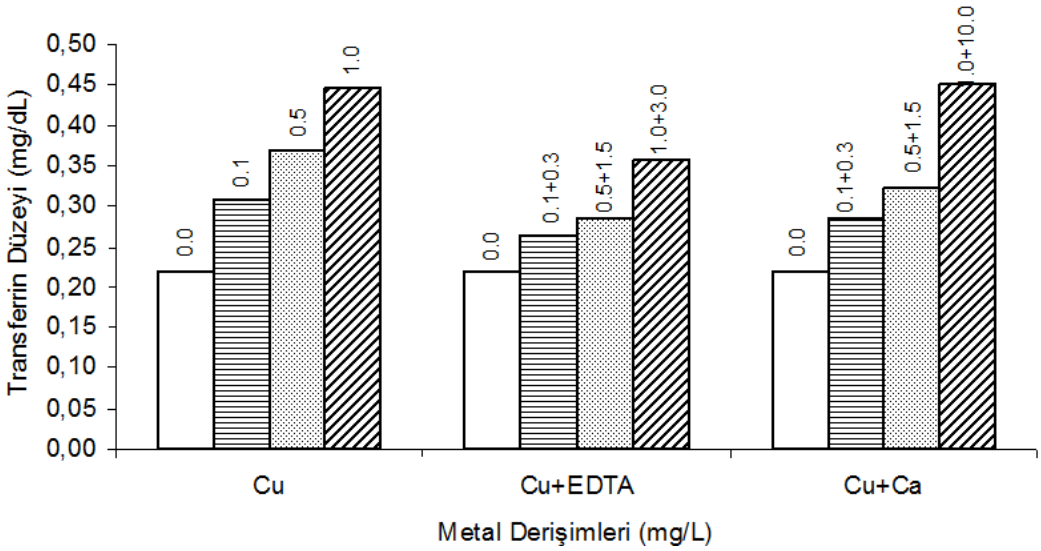
	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.220±0.006 **ax**	0.233±0.009 **ax**	0.227±0.007 **ax**
1.0 Cu	0.447±0.015 **bx**	0.527±0.007 **by**	0.520±0.006 **by**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.357±0.018 **cx**	0.450±0.173 **cy**	0.417±0.003 **cy**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.450±0.015 **bx**	0.497±0.012 **by**	0.507±0.015 **by**

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

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

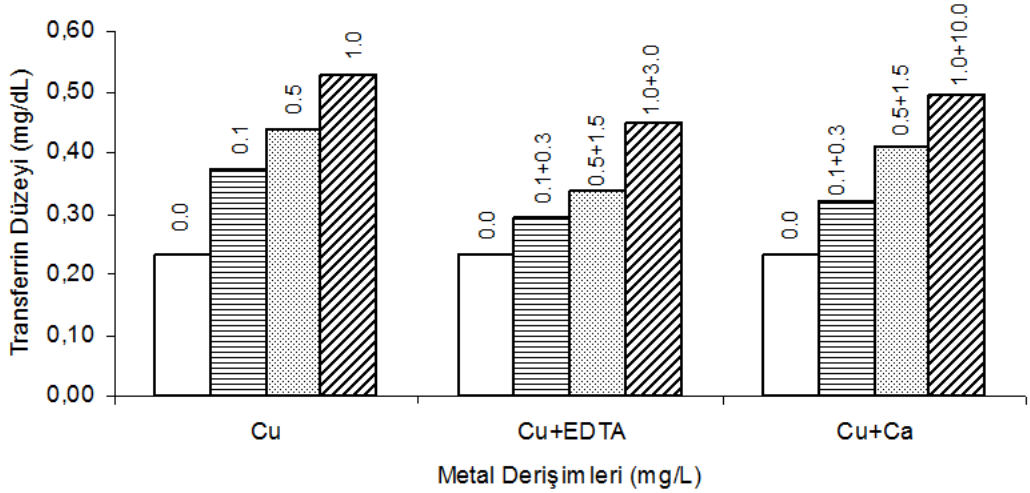
O. niloticus'da belirli bir sürede serum transferrin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.52 – 4.54'te verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde transferrin düzeyinde kontrol grubuna göre önemli artış gerçekleşmiştir. Transferrin düzeyindeki artış doğrudan Cu etkisinde derişimin artışıyla daha yüksek olmuştur. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca metal karışımlarının en düşük derişimlerinde transferrin düzeyi kontrol grubuna göre sırasıyla %40, %20 ve %30 oranında bir artış saptanmıştır (Şekil 4.52; SNK, P<0.05).



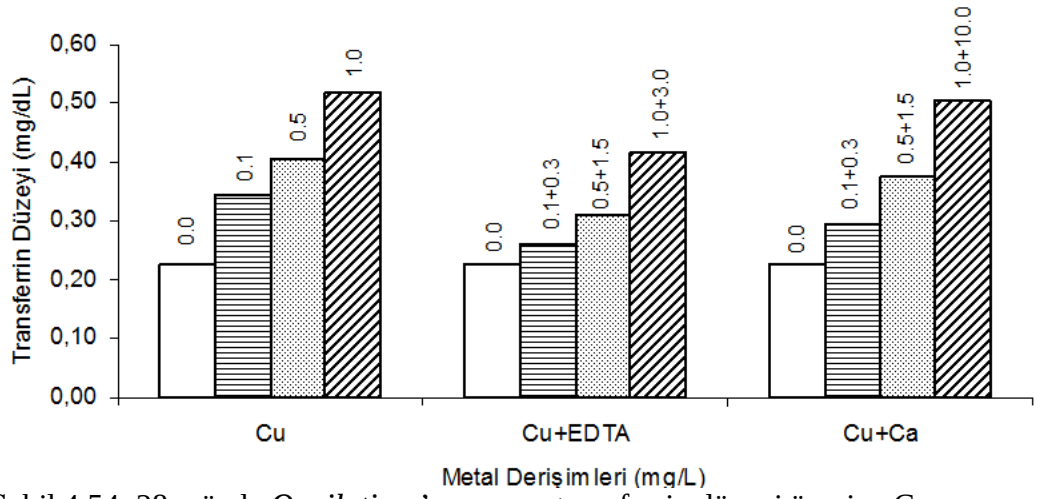
Şekil 4.52. 7. günde *O. niloticus*'un serum transferrin düzeyi üzerine Cu, Cu +EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde denenen tüm Cu ve Cu karışımlarında serum transferrin düzeyi kontrole göre önemli oranda artmıştır. Cu'nun etkisindeki artışın karışımların etkisine oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ortamda bulunan Cu, Cu + Ca ve Cu + EDTA derişimleri arttıkça serum transferrin düzeyinin de arttığı belirlenmiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/LCu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimleri etkisinde transferrin düzeyinde kontrole göre sırasıyla %89, %45 ve %76 düzeyinde bir artış gerçekleşmiştir (Şekil 4.53; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.53. 14. günde *O. niloticus*'un serum transferrin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde serum transferrin düzeyi kontrole göre önemli düzeyde artmıştır. Ortamda bulunan Cu, Cu + Ca ve Cu + EDTA derişimleri arttıkça serum transferrin düzeyinin de arttığı belirlenmiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en düşük derişimlerinin etkisinde transferrin düzeyi kontrole göre yaklaşık 2 katlık bir artış göstermiştir (Şekil 4.54; SNK, P<0.05).



Şekil 4.54. 28. günde *O. niloticus*'un serum transferrin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.3.5. Haptoglobin Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde serum haptoglobin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.58-4.60'da gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde denenen her üç sürede de serum haptoglobin düzeyinde önemli azalma gözlenmiştir. Cu + EDTA ortam derişiminde kontrol grubuna göre haptoglobin düzeyinde 7. günde önemli azalma gözlenirken 28. günde artış gözlenmiştir. Cu + Ca karışımında ise kontrole kıyasla 7. günde önemli azalma belirlenirken 14. ve 28. günlerde önemli artış belirlenmiştir. Cu ve Cu karışımlarında sürenin uzaması haptoglobin düzeyinde bir artışa neden olmuştur. (Çizelge 4.58; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.58. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde serum haptoglobin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	4.090±0.040 **ax**	4.140±0.056 **ax**	4.177±0.026 **ax**
0.1 Cu	1.950±0.250 **bx**	3.403±0.081 **by**	3.557±0.173 **by**
0.1 Cu+0.3 EDTA	3.250±0.259 **cx**	4.297±0.184 **ay**	4.853±0.049 **cy**
0.1 Cu+1.0 Ca	2.983±0.264 **cx**	4.730±0.099 **cy**	4.660±0.221 **cy**

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

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

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde serum haptoglobin düzeyinde kontrole göre önemli oranda azalma gözlenirken sürenin uzamasına bağlı olarak bir istatistik ayrım gözlenmemiştir. Cu + EDTA karışımında kontrole göre 7. günde önemli azalma gerçekleşirken 14. ve 28. günde istatistik olarak önemli bir değişiklik gerçekleşmemiştir. Cu + Ca karışımında 7. günde önemli azalma, 28. günde ise önemli bir artış gerçekleşmiş olup (P>0.05), sürenin uzamasıyla serum haptoglobin düzeyinde bir artış olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.59; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.59. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde serum haptoglobin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	4.090±0.040 **ax**	4.140±0.056 **ax**	4.177±0.026 **ax**
0.5 Cu	2.923±0.045 **bx**	3.143±0.170 **bx**	3.420±0.240 **bx**
0.5 Cu+1.5 EDTA	3.250±0.056 **cx**	4.237±0.149 **ay**	4.547±0.352 **acy**
0.5 Cu+5.0 Ca	3.063±0.030 **bx**	4.223±0.269 **ay**	5.203±0.146 **cz**

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

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

1.0 mg/L Cu etkisinde serum haptoglobin düzeyinde 7. ve 14. günlerde kontrole göre önemli azalma gerçekleşmiş ve sürenin uzamasına bağlı olarak bir istatistik ayrım gözlenmemiştir. Cu + EDTA karışımında 7. günde kontrole göre azalma gerçekleşirken 14. günde önemli derecede artmış ve 28. günde de bir artış meydana gelirken bu artış önemsiz düzeyde kalmıştır. Cu + Ca karışımında ise 7. ve 14. günlerde kontrole göre azalma olurken 28. günde artma olmuştur. Cu karışımlarında sürenin uzamasına bağlı olarak haptoglobin düzeyinde artış gözlenmiştir (Çizelge 4.60; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.60. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde serum haptoglobin düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

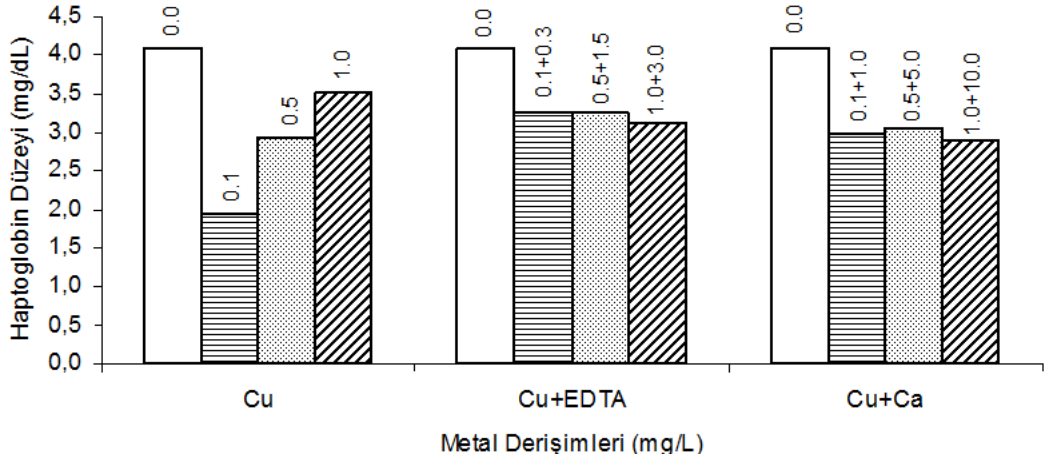
	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	4.090±0.040 **ax**	4.140±0.056 **ax**	4.177±0.026 **abx**
1.0 Cu	3.523±0.206 **bx**	3.217±0.020 **bx**	3.603±0.326 **ax**
1.0 Cu+3.0 EDTA	3.127±0.058 **cx**	4.343±0.043 **cy**	4.893±0.373 **bcy**
1.0 Cu+10.0 Ca	2.907±0.059 **cx**	3.847±0.063 **dy**	5.520±0.136 **cz**

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

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

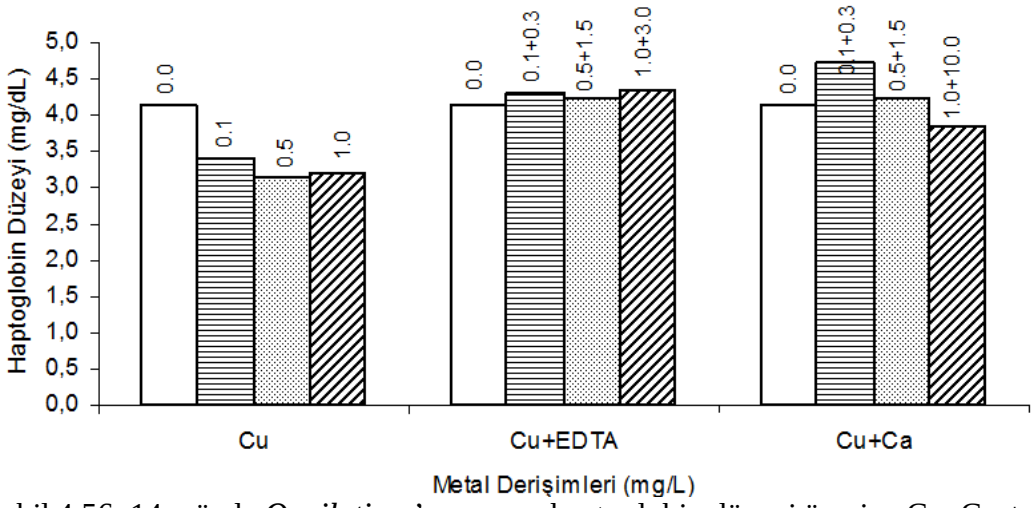
O. niloticus'da belirli bir sürede serum haptoglobin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.55 – 4.57'de verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimleri serum haptoglobin düzeyinde kontrole göre önemli bir azalmaya neden olmuştur. Bu azalma 0.1 mg/L Cu derişiminde diğer ortam derişimlerine kıyasla daha fazla gerçekleşmiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en düşük derişimlerinin etkisinde haptoglobin düzeyi kontrole göre sırasıyla %52, %26 ve %27 oranında azalmıştır (Şekil 4.55; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.55. 7. günde *O. niloticus*'un serum haptoglobin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

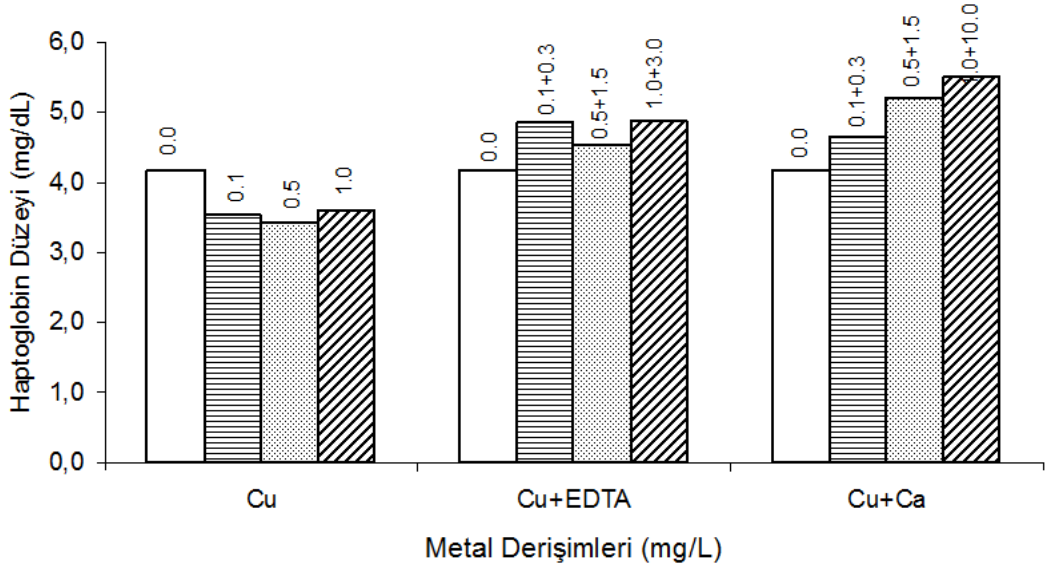
14. günde denenen Cu ve Cu karışımlarından 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca derişiminde serum haptoglobin düzeyi, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli oranda azalma gözlenmiştir. Diğer Cu karışımlarında ise genelde bir artışın olduğu saptanmıştır. Cu ve Cu karışımlarının en yüksek derişimlerinde haptoglobin düzeyinde kontrole göre Cu ve Cu + Ca karışımında sırasıyla %22 ve %7 azalma, Cu + EDTA karışımında ise %5 artma gözlenmiştir (Şekil 4.56; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.56. 14. günde *O. niloticus*'un serum haptoglobin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde serum haptoglobin düzeyi kontrol grubuna göre Cu'nun doğrudan etkisinde önemli oranda azalırken Cu karışımlarında önemli oranda artmıştır. 0.5

mg/L Cu ortam derişiminde haptoglobin düzeyi kontrole göre %18 oranında azalırken, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimleri etkisinde ise sırasıyla %9 ve %25 oranında artış gözlenmiştir (Şekil 4.57; SNK, P<0.05).



Şekil 4.57. 28. günde *O. niloticus*'un serum haptoglobin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.3.6. Hemoglobin Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde hemoglobin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.61-4.63'te gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde denenen her üç sürede de hemoglobin düzeyi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli artış kaydedilmiştir. Cu karışımlarında 14. günde önemli artış, 28. günde ise kontrole kıyasla önemli azalma gözlenmiştir. 7. günde Cu + EDTA karışımında hemoglobin düzeyi kontrole göre istatistik ayrım göstermezken Cu + Ca karışımı istatistik ayrım göstermiştir. Cu ve Cu + Ca ortam derişiminde ise süreye bağlı olarak hemoglobin düzeyinde önce artış daha sonra ise bir azalma saptanmıştır (Çizelge 4.61; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.61. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde hemoglobin düzeyi (g/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	7.317±0.1431 **ax**	7.313±0.092 **ax**	7.813±0.092 **ax**
0.1 Cu	8.433±0.1099 **bx**	10.50±0.167 **by**	8.960±0.252 **bx**
0.1 Cu+0.3 EDTA	7.267±0.0933 **ax**	8.603±0.105 **cy**	6.580±0.078 **cz**
0.1 Cu+1.0 Ca	8.050±0.1102 **cx**	9.827±0.110 **dy**	7.120±0.121 **dz**

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

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

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde hemoglobin düzeyinde kontrol grubuna göre denenen her üç sürede de kontrole göre önemli düzeyde artış gözlenmiştir. Cu karışımlarında 14. günde kontrole göre artış olurken 28. günde önemli azalma olmuştur. Hemoglobin düzeyi Cu'nun doğrudan etkisinde ve Cu + Ca karışımında süreye bağlı olarak önemli azalma göstermiştir (SNK, P<0.05). Cu + EDTA karışımında sürenin uzamasına bağlı olarak önce artma daha sonra ise azalma gerçekleşmiştir (Çizelge 4.62; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.62. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde hemoglobin düzeyi (g/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	7.317±0.143 **ax**	7.313±0.092 **ax**	7.813±0.092 **ax**
0.5 Cu	9.440±0.133 **bx**	8.523±0.217 **by**	8.760±0.246 **bxy**
0.5 Cu+1.5 EDTA	7.503±0.223 **ax**	9.717±0.208 **cy**	6.470±0.286 **cz**
0.5 Cu+5.0 Ca	8.373±0.115 **cx**	7.677±0.116 **ay**	6.850±0.049 **cz**

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

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

1.0 mg/L Cu ortam derişiminde hemoglobin düzeyi kontrole kıyasla 7. ve 14. günde önemli oranda artarken 28. günde istatistik ayrım göstermemiştir (P>0.01). Hemoglobin düzeyi kontrole kıyasla Cu + EDTA karışımının etkisinde 14. günde artma, 28. günde azalma göstermiştir. Cu + Ca karışımında ise 7. günde artma, 28. günde ise azalma gösterirken 14. günde istatistik ayrım gözlenmemiştir (Çizelge 4.63; SNK, P>0.05). Cu ve Cu + Ca karışımında sürenin uzamasına bağlı olarak azalma gösterdikleri belirlenmiştir.

Çizelge 4.63. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde hemoglobin düzeyi (g/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

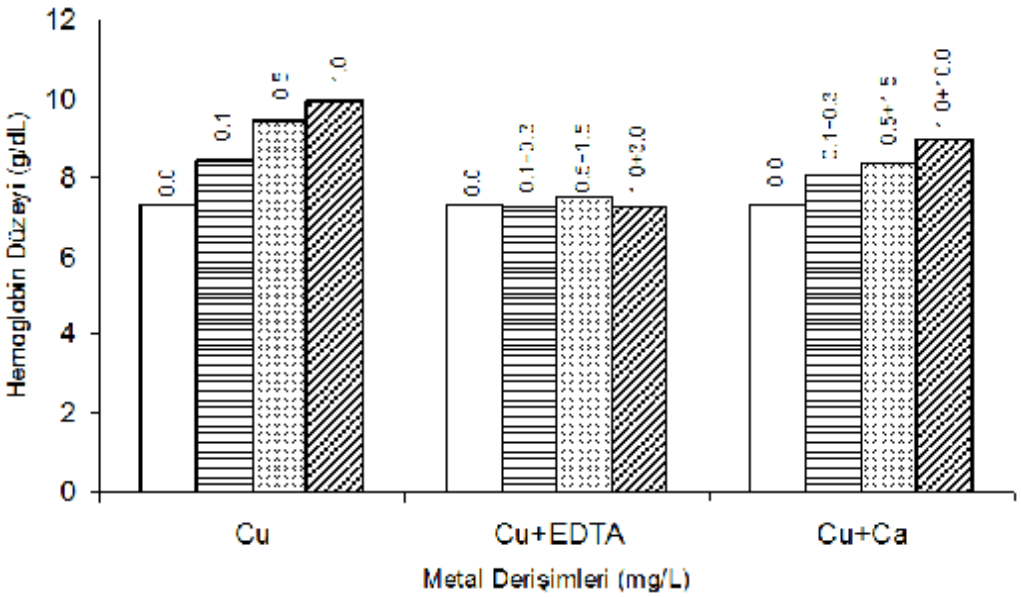
	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	7.317±0.143 **ax**	7.313±0.092 **ax**	7.813±0.092 **ax**
1.0 Cu	9.943±0.092 **bx**	8.227±0.194 **by**	7.357±0.132 **abz**
1.0 Cu+3.0 EDTA	7.247±0.138 **ax**	9.230±0.127 **cy**	7.047±0.171 **bx**
1.0 Cu+10.0 Ca	8.953±0.113 **cx**	7.510±0.098 **ay**	6.467±0.181 **cz**

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

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

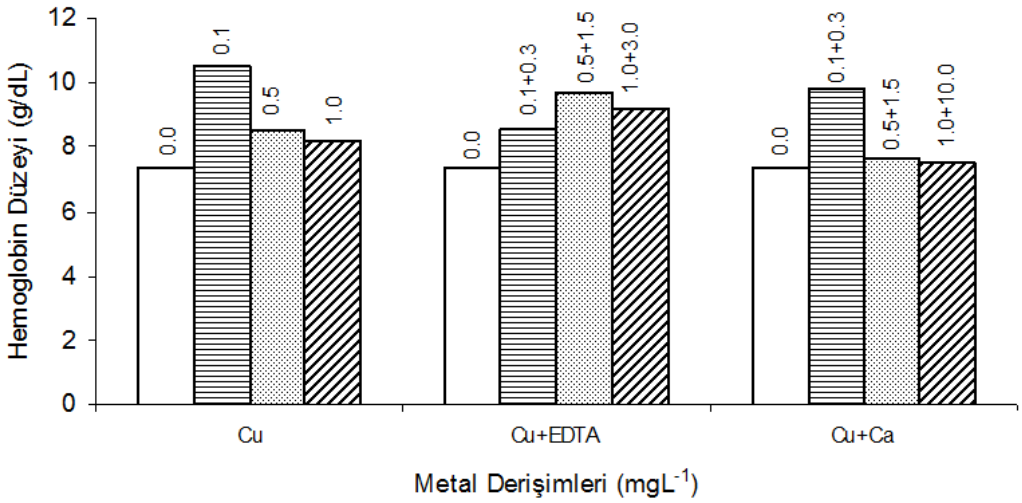
O. niloticus'da belirli bir sürede hemoglobin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.58 – 4.60'da verilmiştir.

7. günde kontrol grubuna göre denenen tüm Cu ve Cu + Ca ortam derişimlerinde hemoglobin düzeyi önemli oranda artarken Cu + EDTA karışımlarında istatistik ayrım göstermemiştir. Denenen tüm Cu ve Cu + Ca karışımlarının en yüksek derişimlerinde hemoglobin düzeyinde kontrole göre sırasıyla %29 ve %14 oranında bir artış saptanmıştır (Şekil 4.58; SNK, P<0.05).



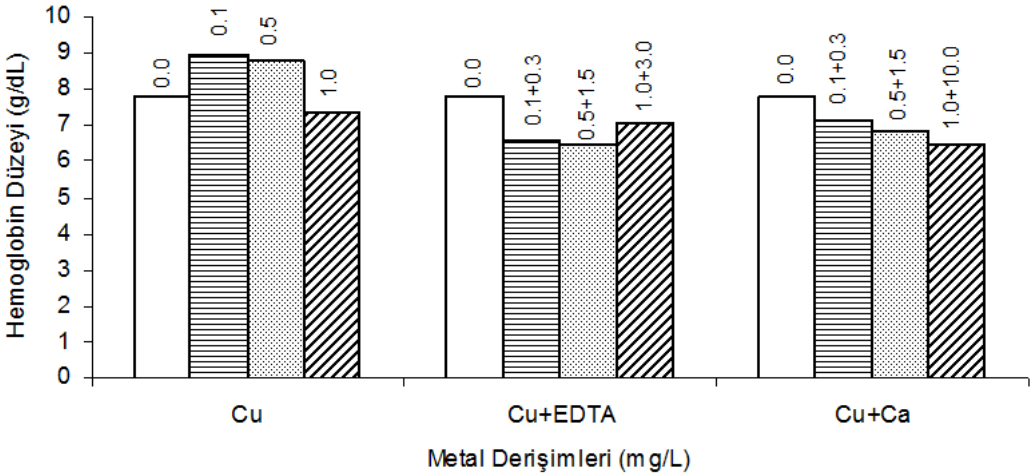
Şekil 4.58. 7. günde *O. niloticus*'un hemoglobin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde kontrole kıyasla denenen tüm Cu ve Cu karışımlarının etkisinde hemoglobin düzeyi önemli oranda artmıştır. Denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının en düşük ortam derişimlerinde hemoglobin düzeyi kontrolle karşılaştırıldığında sırasıyla %44, %18 ve %34 oranında bir artış göstermiştir (Şekil 4.59; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.59. 14. günde *O. niloticus*'un hemoglobin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde 0.1 ve 0.5 mg/L Cu ortam derişimlerinde hemoglobin düzeyi kontrole göre önemli oranda artarken 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde istatistik ayrım gözlenmemiştir (P>0.01). Denenen tüm Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarında ise kontrole göre önemli azalma gerçekleşmiştir. 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %17 ve %12 azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.60; SNK, P<0.05).



Şekil 4.60. 28. günde *O. niloticus*'un hemoglobin düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.3.7. Glukoz Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde serum glukoz düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.64-4.66'da gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ve Cu karışımlarında denenen tüm sürelerde glukoz düzeyinde kontrole göre önemli artış gözlenmiştir. Glukoz düzeyinde gözlenen artış Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir (P<0.05). Cu ve Cu + Ca karışımında sürenin uzamasına bağlı olarak önemli azalma gerçekleşmiştir. Cu + EDTA karışımında ise 7. ve 14. günlerde istatistik ayrım gözlenmezken 28. günde önemli bir azalma gerçekleşmiştir (Çizelge 4.64; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.64. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde serum glukoz düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	48.19±0.137 **ax**	49.31±0.103 **ax**	49.10±0.228 **ax**
0.1 Cu	62.29±0.189 **bx**	60.91±0.421 **by**	58.94±0.245 **bz**
0.1 Cu+0.3 EDTA	53.22±0.217**cx**	52.61±0.289 **cx**	50.21±0.105 **cy**
01 Cu+1.0 Ca	59.90±0.158 **dx**	58.35±0.058 **dy**	57.33±0.064 **dz**

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

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

0.5 mg/L Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca ortam derişiminde denenen her üç sürede de glukoz düzeyinde kontrole göre önemli artış belirlenmiştir. Glukoz düzeyindeki artış Cu ve Cu karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir (P<0.05). Serum glukoz düzeyindeki bu artışlar tüm ortam derişimlerinde sürenin uzamasıyla önemli oranda azalma göstermiştir (Çizelge 4.65; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.65. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde serum glukoz düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	48.19±0.137 **ax**	49.31±0.103 **ax**	49.10±0.228 **ax**
0.5 Cu	76.13±0.421 **bx**	73.46±0.522 **by**	69.20±0.559 **bz**
0.5 Cu+1.5 EDTA	66.14±0.227 **cx**	63.44±0.038 **cy**	62.24±0.035 **cz**
0.5 Cu+5.0 Ca	77.47±0.197 **dx**	75.11±0.173 **dy**	70.46±0.185 **dz**

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

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

1.0 mg/L Cu ve Cu karışımları etkisinde denenen tüm sürelerde glukoz düzeyi önemli oranda artmıştır. Glukoz düzeyindeki bu artış Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca arasında istatistik ayrım göstermiştir (P<0.05). Sürenin uzamasıyla tüm

ortam derişimlerinde glukoz düzeyi önemli oranda azalmıştır (Çizelge 4.66; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.66. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde serum glukoz (mg/dL) düzeyi üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

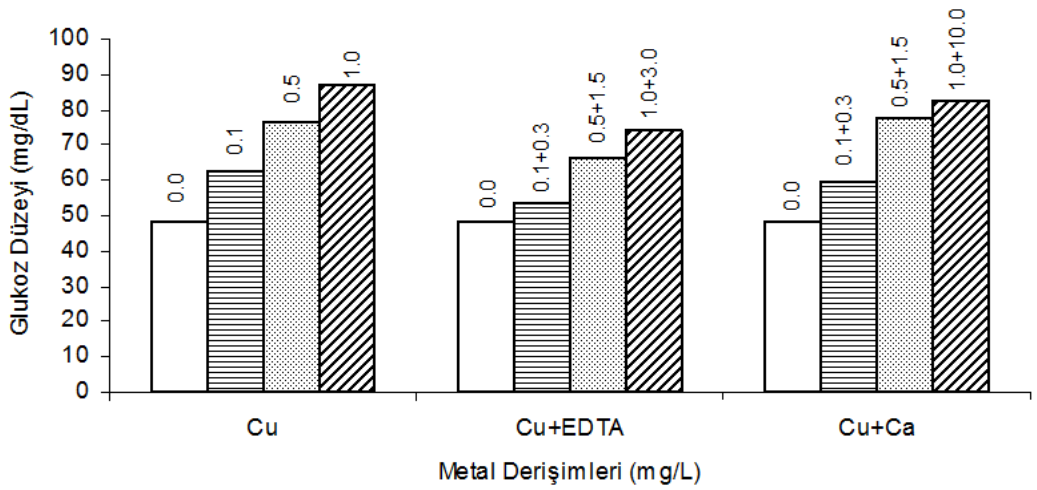
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	48.19±0.137 **ax**	49.31±0.103 **ax**	49.10±0.228 **ax**
1.0 Cu	86.84±0.939 **bx**	79.86±0.349 **by**	74.20±0.460 **bz**
1.0 Cu+3.0 EDTA	74.07±0.138 **cx**	70.31±0.125 **cy**	69.48±0.167 **cz**
1.0 Cu+10.0 Ca	82.52±0.476 **dx**	80.32±0.129 **dy**	78.30±0.121 **dz**

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

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

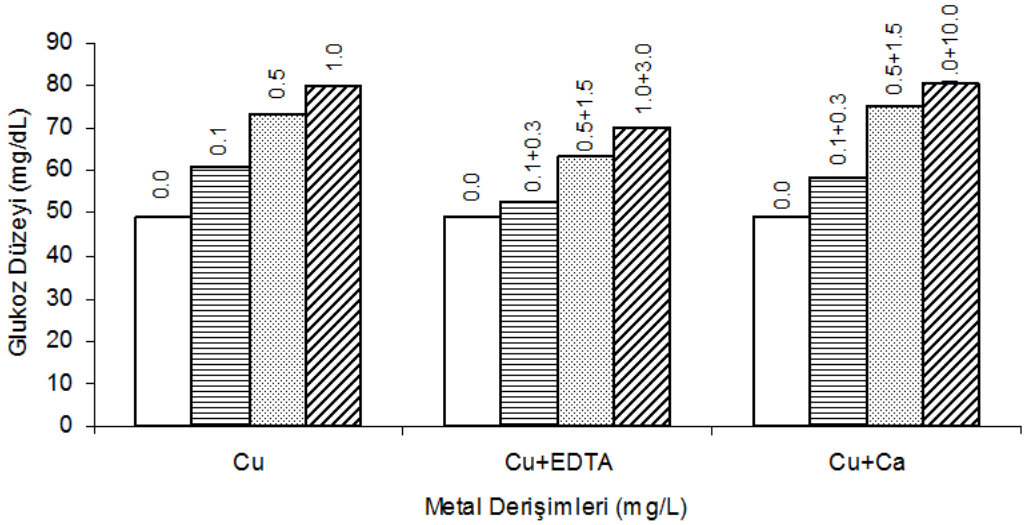
O. niloticus'da belirli bir sürede serum glukoz düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.61 – 4.63'te verilmiştir.

7. günde kontrol grubuna göre denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde glukoz düzeyinde kontrol grubuna kıyasla önemli artış gözlenmiştir. Ortamda bulunan Cu ve Cu karışımlarının derişimleri arttıkça glukoz düzeyinin de arttığı belirlenmiştir (P<0.05). Denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının en düşük ortam derişimlerinde glukoz düzeyi kontrolle karşılaştırıldığında sırasıyla %29, %10 ve %24 oranında artış saptanmıştır (Şekil 4.61; SNK, P<0.05).



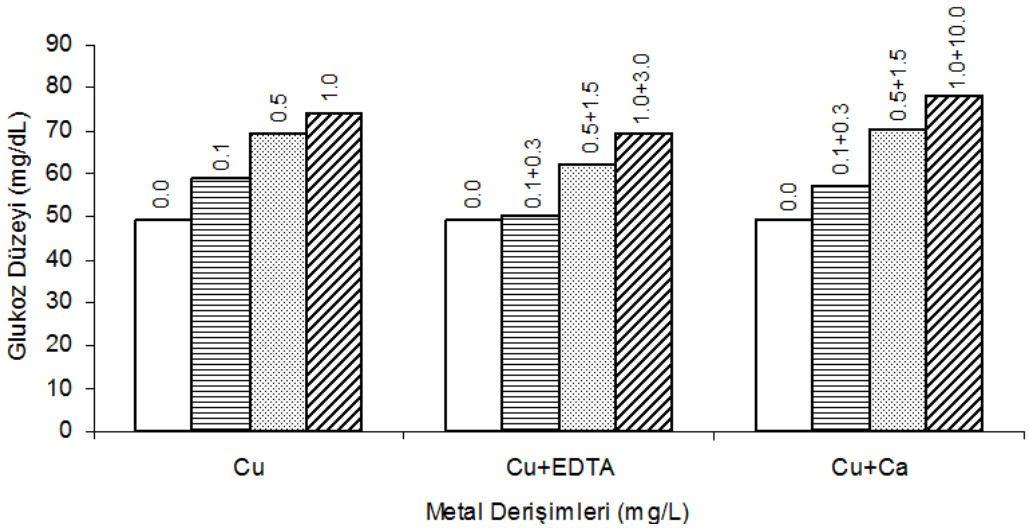
Şekil 4.61. 7. günde *O. niloticus*'un serum glukoz düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi

14. günde denenen tüm Cu ve Cu karışımlarında serum glukoz düzeyi kontrol grubuna kıyasla önemli oranda artmıştır. Ortamda bulunan Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca derişimleri arttıkça glukoz düzeyinin de artış gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.05$). 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/LCu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinin etkisinde glukoz düzeyi kontrole göre sırasıyla %49, %29 ve %52 oranında artış göstermiştir (Şekil 4.62; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.62. 14. günde *O. niloticus*'un serum glukoz düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde kontrol grubuna göre denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimleri serum glukoz düzeyinde önemli oranda artmaya neden olmuştur. Ortamda bulunan Cu ve Cu karışımlarının ortam derişimleri arttıkça glukoz düzeyinin de arttığı saptanmıştır ($P<0.05$). Denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının en yüksek ortam derişimlerinin etkisinde glukoz düzeyinde kontrole kıyasla sırasıyla %51, %42 ve %59 oranında artış saptanmıştır (Şekil 4.63; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.63. 28. günde *O. niloticus*'un serum glukoz düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.3.8. Ürik Asit Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde serum ürik asit düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.67-4.69'da gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ve Cu + Ca karışımında ortam derişiminde serum ürik asit düzeyi, denenen tüm süreler sonunda kontrol grubuna göre ve sürenin uzamasına bağlı olarak önemli oranda artmıştır. Ürik asit düzeyi kontrole göre Cu + EDTA karışımında 14. gün hariç diğer karışımlarda denenen tüm sürelerde önemli artış olmuştur. Cu + EDTA karışımında 7. ve 14. günler arasında istatistik ayrım belirlenmezken 28. günde önemli artış belirlenmiştir (Çizelge 4.67; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.67. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde serum ürik asit düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.143±0.019 **ax**	0.147±0.020 **ax**	0.157±0.015 **ax**
0.1 Cu	0.240±0.006 **bx**	0.277±0.012 **by**	0.333±0.015 **bz**
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.183±0.003 **cx**	0.173±0.003 **acx**	0.227±0.015 **cy**
0.1 Cu+1.0 Ca	0.220±0.006 **bx**	0.207±0.009 **cy**	0.287±0.012 **dz**

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

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

0.5 mg/L Cu ve Cu karışımlarında denenen her üç sürede de serum ürik asit düzeyi kontrol grubuna göre önemli oranda artmıştır. Ürik asit düzeyinde gözlenen bu artış Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımları arasında 14 ve 28. günlerde istatistik ayrım göstermiştir (P<0.05). Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde sürenin uzamasına bağlı olarak önemli artış gözlenmiştir (Çizelge 4.68; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.68. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde serum ürik asit düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.143±0.019 **ax**	0.147±0.020 **ax**	0.157±0.015 **ax**
0.5 Cu	0.397±0.042 **bx**	0.487±0.009 **by**	0.630±0.012 **bz**
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.237±0.018 **cx**	0.330±0.012 **cy**	0.477±0.030 **cz**
0.5 Cu+5.0 Ca	0.320±0.0173 **bcx**	0.417±0.018 **dy**	0.550±0.021 **dz**

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

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

1.0 mg/L Cu ve Cu karışımlarında serum ürik asit düzeyi denenen tüm sürelerde kontrole göre önemli oranda artış göstermiştir. Ürik asit düzeyindeki artış

Cu ve Cu karışımları arasında istatistik ayrım göstermiştir (P<0.05). Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi altında sürenin uzamasına bağlı olarak arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.69; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.69. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde serum ürik asit düzeyi (mg/dL) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

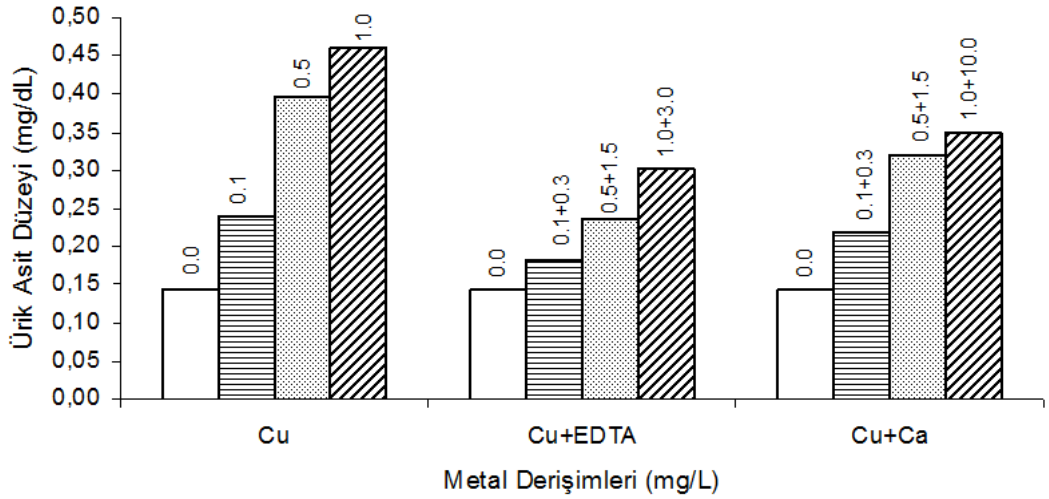
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	0.143±0.019 **ax**	0.147±0.020 **ax**	0.157±0.015 **ax**
1.0 Cu	0.460±0.006 **bx**	0.593±0.013 **by**	0.673±0.012 **bz**
1.0 Cu+3.0 EDTA	0.303±0.009 **cx**	0.407±0.027 **cy**	0.450±0.015 **cz**
1.0 Cu+10.0 Ca	0.350±0.012 **dx**	0.483±0.015 **dy**	0.530±0.012 **dz**

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

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

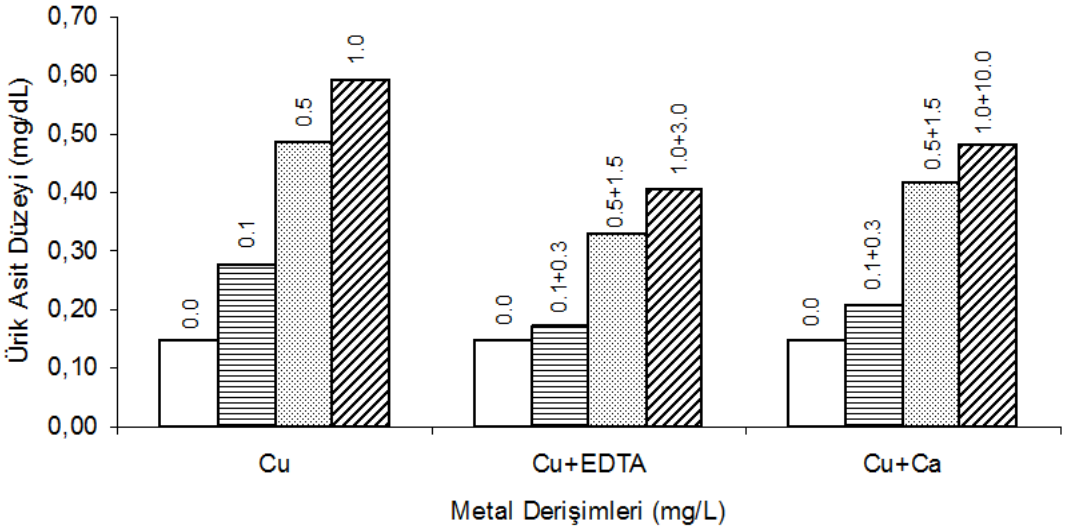
O. niloticus'da belirli bir sürede serum ürik asit düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.64 – 4.66'da verilmiştir.

7. günde kontrol grubuna göre denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde ürik asit düzeyi kontrol grubuna kıyasla önemli oranda artmıştır. Ortamda bulunan Cu ve Cu karışımlarının derişimleri arttıkça ürik asit düzeyinin de arttığı saptanmıştır (P<0.05). 7 günlük süre sonunda denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının en yüksek ortam derişimlerinin etkisinde serum ürik asit düzeyinde kontrole göre yaklaşık olarak sırasıyla 3 ve 2'şer katlık bir artış gerçekleşmiştir (Şekil 4.64; SNK, P<0.05).



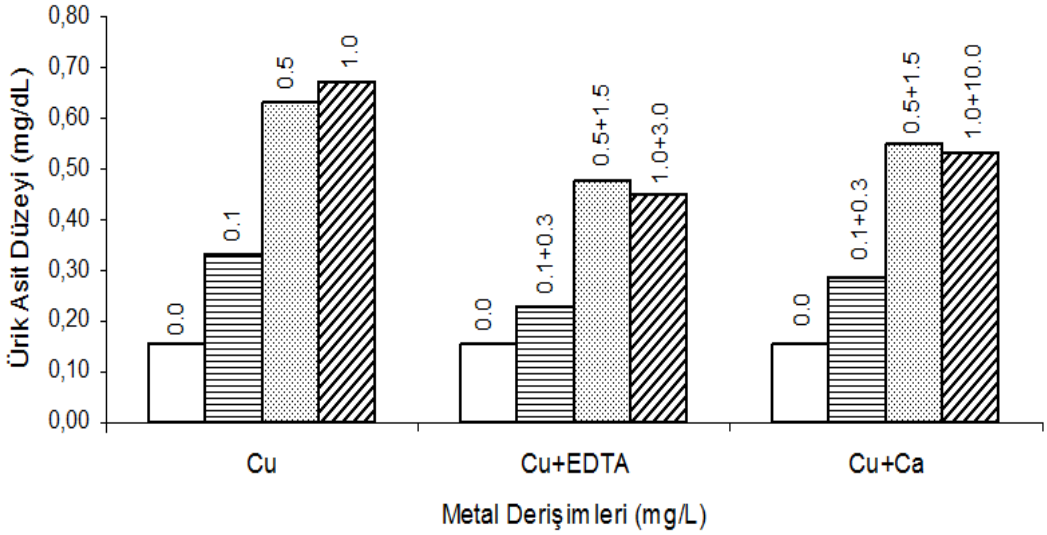
Şekil 4.64. 7. günde *O. niloticus*'un serum ürik asit düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde Cu ve Cu karışımlarında serum ürik asit düzeyi kontrole kıyasla önemli artış göstermiştir. Doğrudan Cu ve Cu karışımlarının etkisinde derişimin artmasıyla ürik asit düzeyinde kontrole göre önemli oranda artış olduğu belirlenmiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde kontrole kıyasla yaklaşık olarak sırasıyla 3, 2 ve 3 katlık bir artış saptanmıştır (Şekil 4.65; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.65. 14. günde *O. niloticus*'un serum ürik asit düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimleri serum ürik asit düzeyinde kontrol grubuna göre önemli artmaya neden olmuştur. Ürik asit düzeyindeki artışların Cu'nun doğrudan etkisinde Cu karışımlarına oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının en yüksek ortam derişimlerinin etkisinde serum ürik asit düzeyi kontrolle karşılaştırıldığında yaklaşık olarak sırasıyla 4 ve 3'er katlık bir artış kaydedilmiştir (Şekil 4.66; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.66. 28. günde *O. niloticus*'un serum ürik asit düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.4. Cu ve Cu – Ca, Cu – EDTA Karışımlarının Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkileri

4.4.1. Karaciğer Dokusu Malondialdehit Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde karaciğer dokusundaki MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.70-4.72'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde denenen her üç sürede de karaciğer MDA düzeyi kontrole göre önemli azalma gösterirken süreler arasında istatistik ayrım gözlenmemiştir (SNK, P>0.05). Cu + EDTA karışımında 7. günün sonunda, Cu + Ca karışımında ise her üç sürede de kontrole göre önemli azalma gerçekleşmiştir. Cu + Ca ve Cu + EDTA karışımlarında süreye bağlı olarak önemli oranda artış kaydedilmiştir (Çizelge 4.70; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.70. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	15.39±0.575 **ax**	15.26±0.397 **ax**	15.51±0.740 **ax**
0.1 Cu	8.878±0.431 **bx**	9.584±0.329 **bx**	9.707±0.390 **bx**
0.1 Cu+0.3 EDTA	12.84±0.362 **cx**	14.33±0.481 **axy**	14.97±0.501 **ay**
0.1 Cu+1.0 Ca	10.43±0.250 **dx**	11.88±0.388 **cy**	11.61±0.270 **cy**

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

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde karaciğer MDA düzeyinde denenen tüm süreler sonunda kontrole göre önemli azalma gerçekleşmiş ve süreler arasında istatistik ayrım saptanmamıştır (SNK, P>0.05). MDA düzeyi Cu + EDTA karışımında 7. günde Cu + Ca karışımında ise tüm sürelerde kontrole göre

önemli azalma göstermiştir. Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarında süreye bağlı olarak arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.71; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.71. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	15.39±0.575 **ax**	15.26±0.397 **ax**	15.51±0.740 **ax**
0.5 Cu	10.43±0.308 **bx**	12.05±0.548 **bx**	10.64±0.539 **bx**
0.5 Cu+1.5 EDTA	14.82±0.358 **cx**	15.11±0.259 **axy**	15.24±0.403 **ay**
0.5 Cu+5.0 Ca	12.00±0.282 **dx**	13.41±0.220 **cy**	13.07±0.399 **cy**

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

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

1.0 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde karaciğer MDA düzeyi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalma göstermiştir. Cu karışımlarında 7. gün hariç diğer günlerde kontrole göre istatistik ayrım gözlenmemiştir. Cu'nun doğrudan etkisinde süreler arasında istatistik ayrım gözlenmezken Cu karışımlarında 14. günde 7. güne oranla önemli artış gözlenmiştir (Çizelge 4.72; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.72. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde karaciğer MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

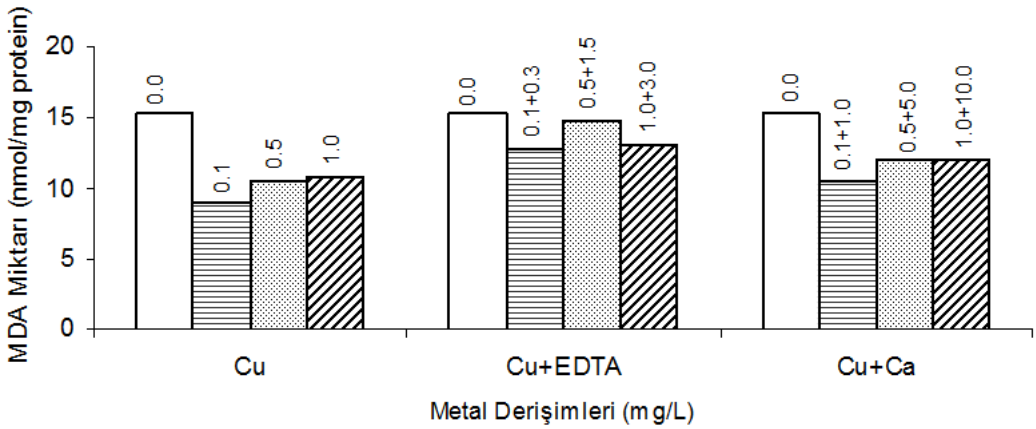
	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	15.39±0.575 **ax**	15.26±0.397 **ax**	15.51±0.740 **ax**
1.0 Cu	10.81±0.153 **bx**	12.72±0.591 **bx**	11.33±0.665 **bx**
1.0 Cu+3.0 EDTA	13.02±0.319 **cx**	15.65±0.295 **ay**	14.70±0.261 **ay**
1.0 Cu+10.0 Ca	12.10±0.424 **cx**	14.51±0.758 **aby**	13.41±0.291 **ay**

* : 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).

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

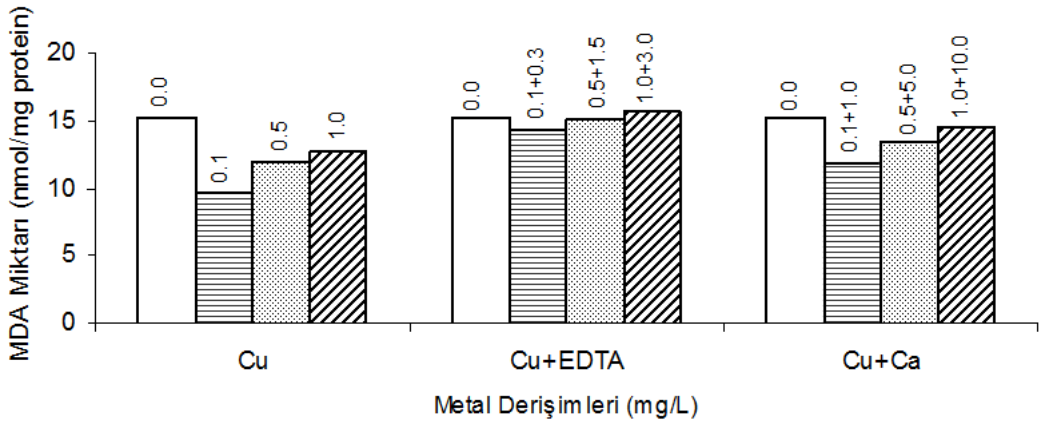
O. niloticus'da belirli bir sürede karaciğer dokusundaki MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.67 – 4.69'da verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının etkisinde karaciğer MDA düzeyi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli azalma göstermiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca metal karışımlarının en düşük derişimlerinin etkisinde MDA düzeyinin kontrol grubuna göre sırasıyla %42, %16 ve %32 oranında azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.67; SNK, $P<0.05$).



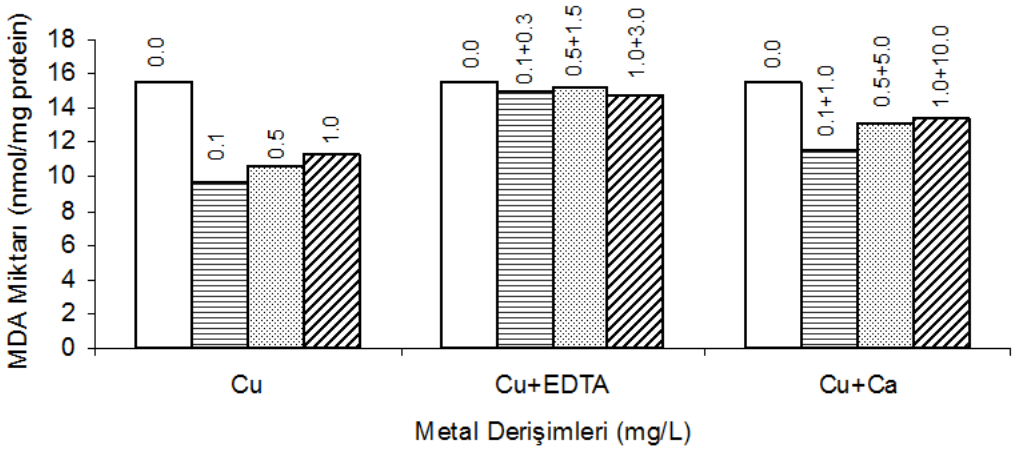
Şekil 4.67. 7. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde Cu ve Cu + Ca karışımının doğrudan etkilerinde kontrole göre karaciğer MDA düzeyinde önemli azalma gerçekleşmiştir. Cu + EDTA'nın yüksek ortam derişimlerinde kontrole göre bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en düşük derişimlerinin etkisinde MDA düzeyinde kontrole göre sırasıyla %59, %6 ve %22 oranında azalma saptanmıştır (Şekil 4.68; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.68. 14. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisinde kontrole göre karaciğer MDA düzeyinde azalma gerçekleşmiştir. Bu azalmalar Cu + EDTA karışımlarında kontrole göre istatistik ayrım göstermemiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en yüksek derişimlerinin etkisinde kontrole göre sırasıyla %27, %5 ve %14 oranında azalma saptanmıştır (Şekil 4.69; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.69. 28. günde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi

4.4.2. Böbrek Dokusu Malondialdehit Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde böbrek dokusundaki MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.73-4.75'te gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde denenen tüm sürelerde böbrek MDA düzeyi kontrole göre önemli oranda artarken süreye bağlı olarak 28. günde 7. güne göre önemli azalma göstermiştir. 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişiminde MDA düzeyinde 14. ve 28. günlerde kontrole göre değişim gözlenmezken Cu + EDTA ortam derişimlerinde tüm sürelerde kontrole göre önemli artış gerçekleşmiştir. Cu + EDTA karışımında 14. günde 7. güne göre önemli artış gözlenirken Cu + Ca derişiminde 28. günde 7. güne göre önemli azalma gerçekleşmiştir (Çizelge 4.73 SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.73. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	11.76±0.432 **ax**	11.98±0.501 **ax**	11.34±0.225 **ax**
0.1 Cu	22.82±0.829 **bx**	21.55±0.614 **bxy**	19.76±0.261 **by**
0.1 Cu+0.3 EDTA	12.75±0.307 **cx**	14.95±0.430 **cy**	13.26±0.694 **cxy**
0.1 Cu+1.0 Ca	13.79±0.385 **cx**	13.57±0.709 **acx**	11.87±0.197 **ay**

* : 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 ($P<0.05$).

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde böbrek MDA düzeyinde kontrole göre önemli artış gözlenmiştir. Cu karışımlarının 7. gününde kontrole göre önemli artış olurken 14. ve 28. günde kontrole göre istatistik ayrım gözlenmemiştir. 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde sürenin uzamasıyla önemli azalma

gözlenmiştir. Cu karışımlarında ise 14. günde 7. güne göre önemli azalma gerçekleşmiştir (Çizelge 4.74 SNK, P<0.05).

Çizelge 4.74. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE(GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	11.76±0.432 **ax**	11.98±0.501 **ax**	11.34±0.225 **ax**
0.5 Cu	21.11±0.378 **bx**	18.54±0.351 **by**	14.72±0.678 **bz**
0.5 Cu+1.5 EDTA	18.27±0.482 **cx**	12.05±0.453 **ay**	11.26±0.588 **ay**
0.5 Cu+5.0 Ca	16.37±0.516 **dx**	12.32±0.365 **ay**	11.61±0.575 **ay**

* : a, b, c ve d 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).

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

1.0 mg/L Cu ortam derişiminin etkisinde böbrek MDA düzeyinde kontrole göre önemli artış gerçekleşmiştir ve Cu'nun doğrudan etkisinde MDA düzeyi süre uzamasına bağlı olarak önemli oranda azalmıştır. 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca ortam derişiminin 14. ve 28. günleri hariç diğer Cu karışımlarında önemli artış gözlenmiştir. Cu karışımlarında böbrek MDA düzeylerinde 14. günde 7. güne göre önemli azalma gerçekleşirken 28. günde istatistik ayrım saptanmamıştır (Çizelge 4.75 SNK, P>0.05).

Çizelge 4.75. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde böbrek MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

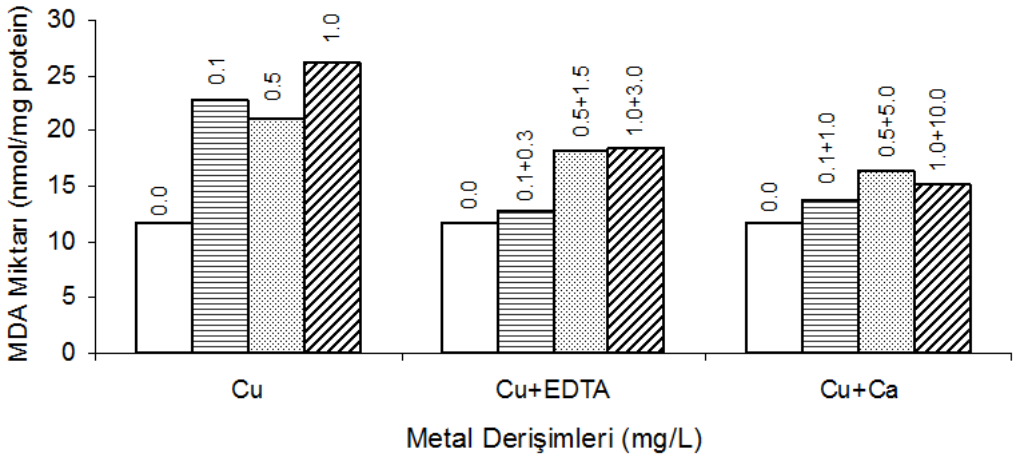
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	11.76±0.432 **ax**	11.98±0.501 **ax**	11.34±0.225 **ax**
1.0 Cu	26.15±0.195 **bx**	23.04±0.424 **by**	21.33±0.775 **by**
1.0 Cu+3.0 EDTA	18.49±0.614 **cx**	14.66±0.301 **cy**	14.54±0.698 **cy**
1.0 Cu+10.0 Ca	15.18±0.372 **dx**	12.39±0.655 **ay**	12.95±0.206 **acy**

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

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

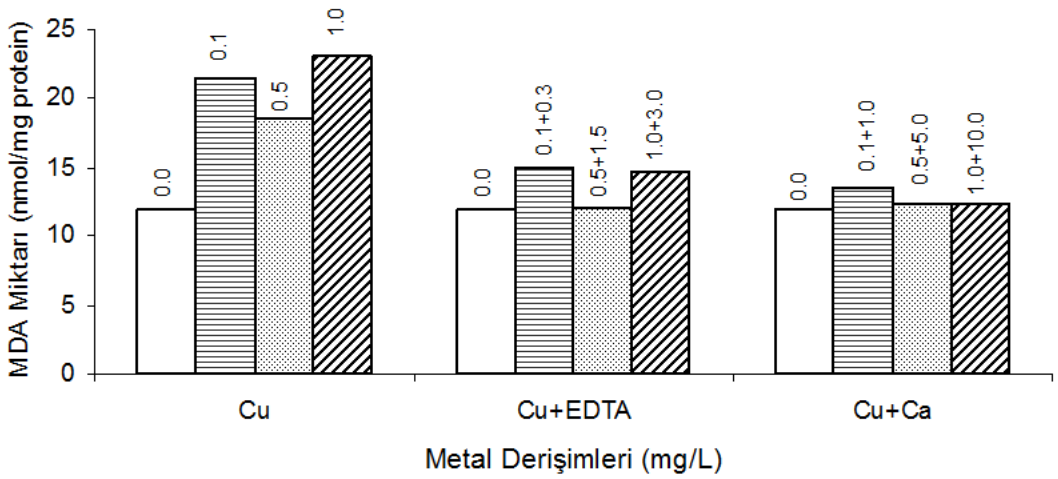
O. niloticus'da belirli bir sürede böbrek dokusundaki MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.70 - 4.72'de verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının etkisinde böbrek MDA düzeyi kontrole göre önemli artış göstermiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %80, %55 ve %39 oranında artış kaydedilmiştir (Şekil 4.71; SNK, $P<0.05$).



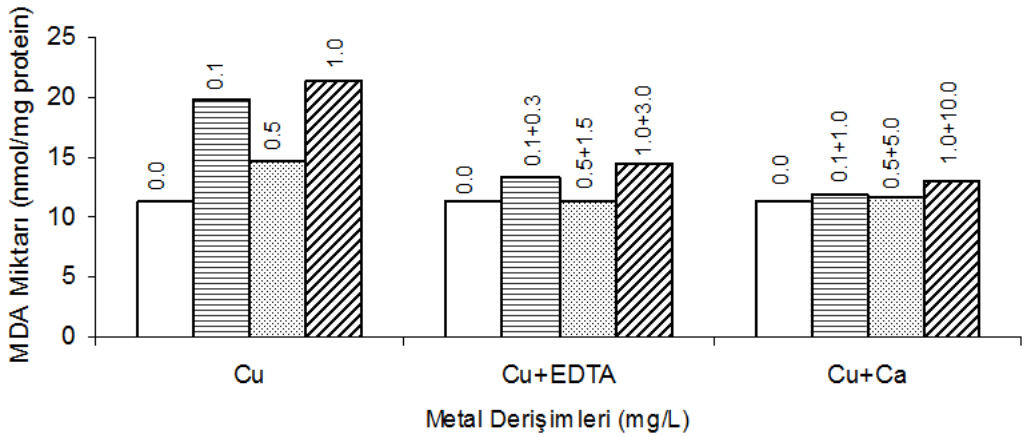
Şekil 4.70. 7. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde denenen tüm Cu ortam derişimlerinde böbrek MDA düzeyinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında artış gösterdiği belirlenmiştir. 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA derişimi hariç diğer Cu + EDTA derişimleri kontrole göre artış göstermiştir. Cu + Ca karışımlarında MDA düzeyi kontrole göre istatistik ayrım göstermemiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en düşük derişimlerinin etkisinde MDA düzeyinde kontrole göre sırasıyla %80, %25 ve %13 oranında artış saptanmıştır (Şekil 4.70; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.71. 14. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu ortam derişimlerinde böbrek MDA düzeyi kontrole göre önemli artış göstermiştir. 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ve 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA ortam derişimlerinde kontrole göre önemli artış gözlenmiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en yüksek derişimlerinin etkisinde MDA düzeyi kontrolle karşılaştırıldığında sırasıyla %88, %28 ve %14 oranında artış gerçekleşmiştir (Şekil 4.72; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.72. 28. günde *O. niloticus*'un böbrek dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu+ EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.4.3. Solungaç Dokusu Malondialdehit Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde solungaç dokusundaki MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.76-4.78'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde denenen her üç sürede solungaç MDA düzeyinde kontrole göre önemli artış gözlenmiştir. 14. gün 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişimi hariç diğer Cu karışımlarında her üç sürede de MDA düzeyi kontrole göre önemli artış göstermiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarında MDA düzeyi sürenin uzamasıyla önce azalmış daha sonra önemli oranda artmıştır (Çizelge 4.76; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.76. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	18.86±0.596 **ax**	18.96±0.748 **ax**	18.68±0.414 **ax**
0.1 Cu	25.22±0.432 **bx**	23.00±0.492 **bx**	28.85±0.381 **by**
0.1 Cu+0.3 EDTA	25.99±0.354 **bx**	23.27±0.270 **bx**	30.33±0.326 **cy**
0.1 Cu+1.0 Ca	28.61±0.375 **cx**	18.91±0.460 **ay**	31.89±0.137 **dz**

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

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

0.5 mg/L Cu ve Cu karışımlarının etkisinde denenen her üç sürede de solungaç MDA düzeyi kontrole göre önemli düzeylerde artış göstermiştir. Solungaç MDA düzeyinde Cu ve Cu karışımlarında 7. güne göre 14. günde azalırken 28. günde önemli oranda arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.77; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.77. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde solungaç MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	18.86±0.596 **ax**	18.96±0.748 **ax**	18.68±0.414 **ax**
0.5 Cu	28.03±0.424 **bx**	26.70±0.542 **bx**	32.66±0.496 **by**
0.5 Cu+1.5 EDTA	22.62±0.339 **cx**	20.05±0.447 **cx**	30.19±0.270 **cy**
0.5 Cu+5.0 Ca	23.90±0.240 **cx**	20.35±0.361 **cy**	34.04±0.073 **dz**

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

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

1.0 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde solungaç MDA düzeyinde kontrol grubuna kıyasla önemli oranda artmıştır. Cu karışımlarında 7.

günde kontrole göre değişim gözlenmezken 14. ve 28. günlerde önemli artma gözlenmiştir. 1.0 mg/L Cu etkisinde sürenin uzamasıyla önce azalmış daha sonra ise arttığı belirlenmiştir. Cu karışımlarında ise sürenin uzamasıyla önemli artışlar gözlenmiştir (Çizelge 4.78; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.78. *O. niloticus*'da 1.0 mg Cu/L ortam derişiminde solungaç MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

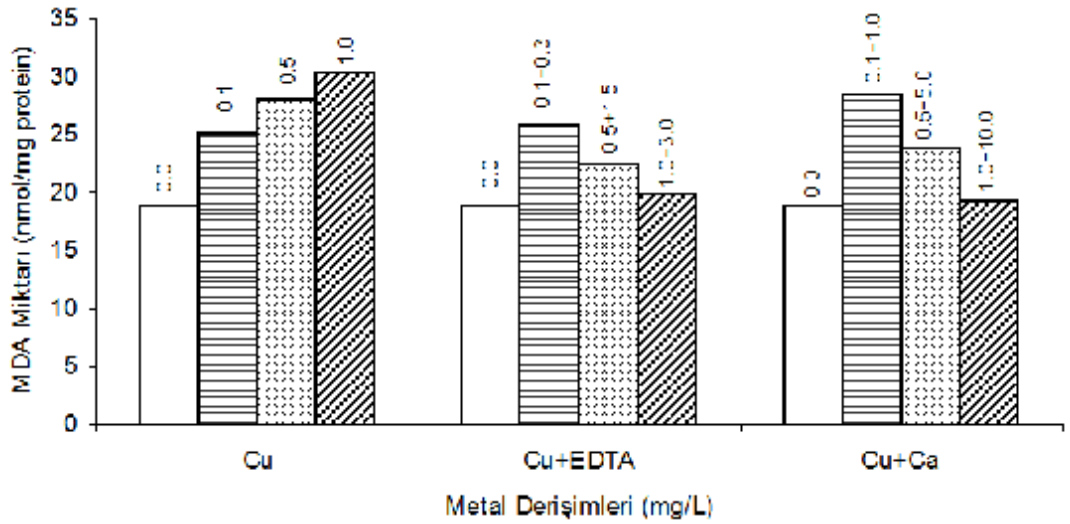
	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$ *
0.0	18.86±0.596 **ax**	18.96±0.748 **ax**	18.68±0.414 **ax**
1.0 Cu	30.42±0.524 **bx**	27.20±0.332 **by**	35.29±0.250 **bz**
1.0 Cu+3.0 EDTA	19.84±0.343 **ax**	23.01±0.832 **cy**	30.46±0.610 **cz**
1.0 Cu+10.0 Ca	19.31±0.303 **ax**	23.39±0.364 **cy**	32.98 ±0.150 **dz**

* : a, b, c ve d 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).

$\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

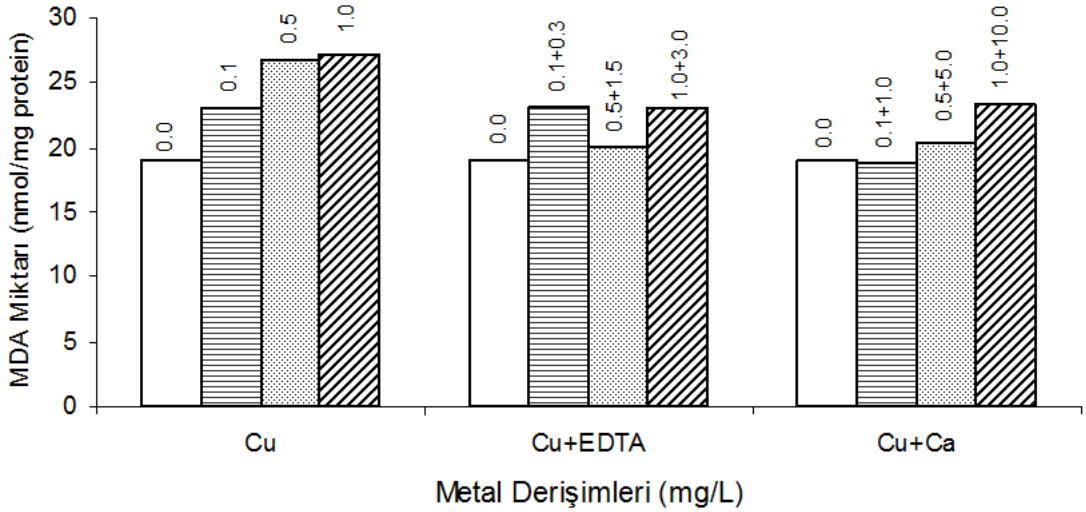
O. niloticus'da belirli bir sürede solungaç dokusundaki MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.73 – 4.75'te verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının etkisinde solungaç MDA düzeyi kontrole göre artmıştır. 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA ve 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca karışımlarında kontrole göre istatistik ayrım gözlenmezken diğer ortam derişimlerinde önemli istatistik ayrım gözlenmiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en düşük derişimlerinin etkisinde kontrole göre sırasıyla %34, %38 ve %52 oranında artış belirlenmiştir (Şekil 4.73; SNK, P<0.05).



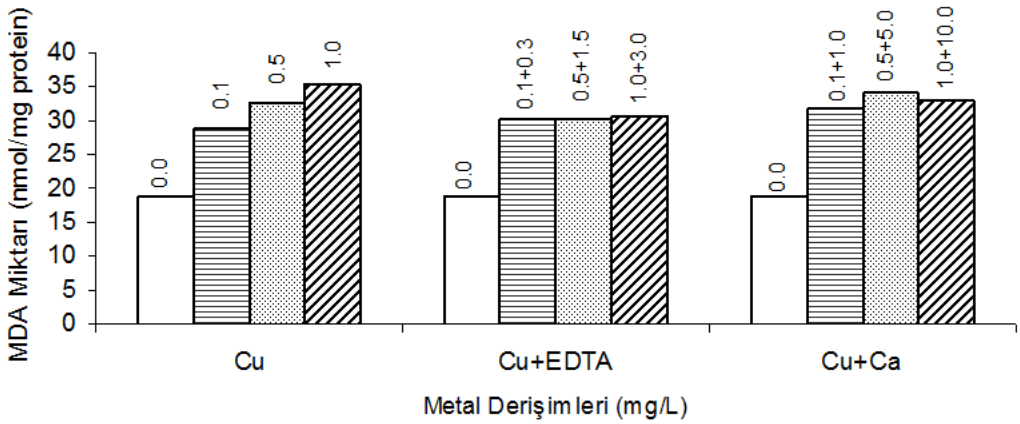
Şekil 4.73. 7. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde Cu ve Cu karışımlarının etkisinde 0.1 mg/L Cu +1.0 mg/L Ca ortam derişimi hariç solungaç MDA düzeyi kontrole göre önemli artış göstermiştir. 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde MDA düzeyi kontrole göre diğer derişimlerden daha fazla artış göstermiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/LCu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %41, %21 ve %23 oranında artış saptanmıştır (Şekil 4.74; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.74. 14. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının etkisinde solungaç MDA düzeyinde kontrole göre önemli oranda artış gerçekleşmiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en yüksek derişimlerinin etkisinde MDA düzeyi kontrole göre sırasıyla %89, %63 ve %77 oranında artış saptanmıştır (Şekil 4.75; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.75. 28. günde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

4.4.4. Beyin Dokusu Malondialdehit Düzeyi

O. niloticus'da 7, 14 ve 28. günlerde beyin dokusundaki MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi Çizelge 4.79-4.81'de gösterilmiştir.

0.1 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde beyin MDA düzeyinde denenen her üç sürede de kontrole göre önemli artış gerçekleşmiştir. Cu karışımlarında ise tüm sürelerde kontrole göre önemli azalma kaydedilmiştir. Cu ve Cu karışımlarında süreye bağlı olarak MDA düzeyinde önce azalma sürenin uzamasıyla da artış kaydedilmiştir (Çizelge 4.79; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.79. *O. niloticus*'da 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde beyin MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (ppm)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	56.81±0.404 **ax**	57.48±0.707 **ax**	57.35±0.689 **ax**
0.1 Cu	60.91±0.362 **bx**	59.15±0.315 **by**	63.28±0.338 **bz**
0.1 Cu+0.3 EDTA	44.44±0.586 **cx**	29.08±0.267 **cy**	31.49±0.559 **cz**
0.1 Cu+1.0 Ca	36.44±0.644 **dx**	30.22±0.200 **dy**	33.53±0.355 **cz**

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

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

0.5 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde beyin MDA düzeyinde önemli artmaya neden olurken Cu karışımları ise önemli azalmaya neden olmuştur. Cu ve Cu + Ca karışımında 14. günde 7. güne göre önemli azalma gerçekleşirken 28. günde önemli artış gerçekleşmiştir. Cu + EDTA karışımında ise 7. ve 14. günler arasında istatistik ayrım gözlenmezken 28. günde önemli artış belirlenmiştir (Çizelge 4.80; SNK, $P<0.05$).

Çizelge 4.80. *O. niloticus*'da 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde beyin MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

	SÜRE (GÜN)		
DERİŞİM (mg/L)	7. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	14.Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	28. Gün $\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	56.81±0.404 **ax**	57.48±0.707 **ax**	57.35±0.689 **ax**
0.5 Cu	64.89±0.363 **bx**	60.09±0.272 **by**	71.03±0.268 **bz**
0.5 Cu+1.5 EDTA	28.58±0.500 **cx**	29.04±0.256 **cx**	31.10±0.147 **cy**
0.5 Cu+5.0 Ca	30.64±0.383 **dx**	27.26±0.229 **dy**	33.21±0.428 **dz**

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

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

1.0 mg/L Cu ortam derişiminde Cu'nun doğrudan etkisinde beyin MDA düzeyinde denenen her üç sürede de kontrole göre önemli artış gözlenirken Cu karışımlarında ise önemli düzeyde azalma olduğu gözlenmiştir. Cu + Ca ve Cu + EDTA karışımlarında süreye bağlı olarak önce azalma daha sonra artma kaydedilmiştir (Çizelge 4.81; SNK, P<0.05).

Çizelge 4.81. *O. niloticus*'da 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde beyin MDA miktarı (nmol/mg protein) üzerine Ca ve EDTA'nın etkisi.

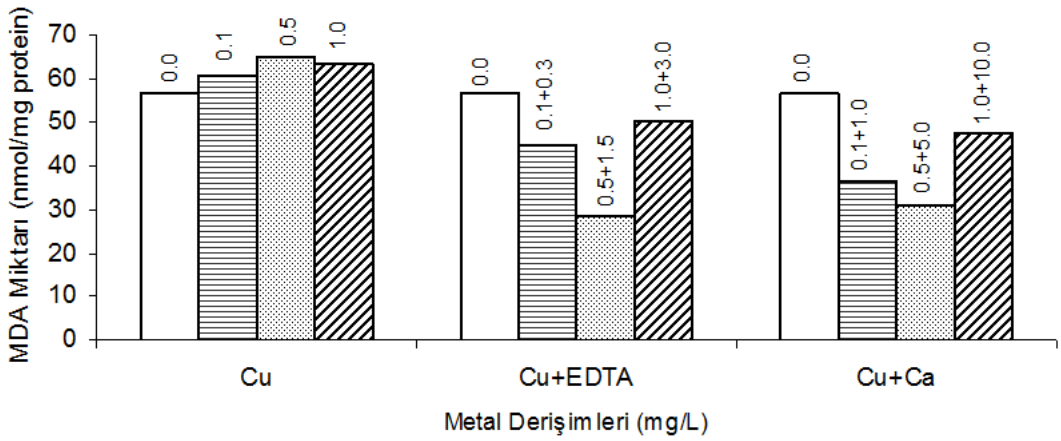
	SÜRE (GÜN)		
	7. Gün	14.Gün	28. Gün
DERİŞİM (mg/L)	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *	$\overline{X} \pm S\overline{x}$ *
0.0	56.81±0.404 **ax**	57.48±0.707 **ax**	57.35±0.689 **ax**
1.0 Cu	63.64±0.558 **bx**	61.17±0.399 **by**	59.52±0.403 **bz**
1.0 Cu+3.0 EDTA	50.00±0.422 **cx**	41.00±0.131 **cy**	45.68±0.486 **cz**
1.0 Cu+10.0 Ca	47.27±0.708 **dx**	35.94±0.173 **dy**	48.43±0.694 **dx**

* : a, b, c ve d 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).

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

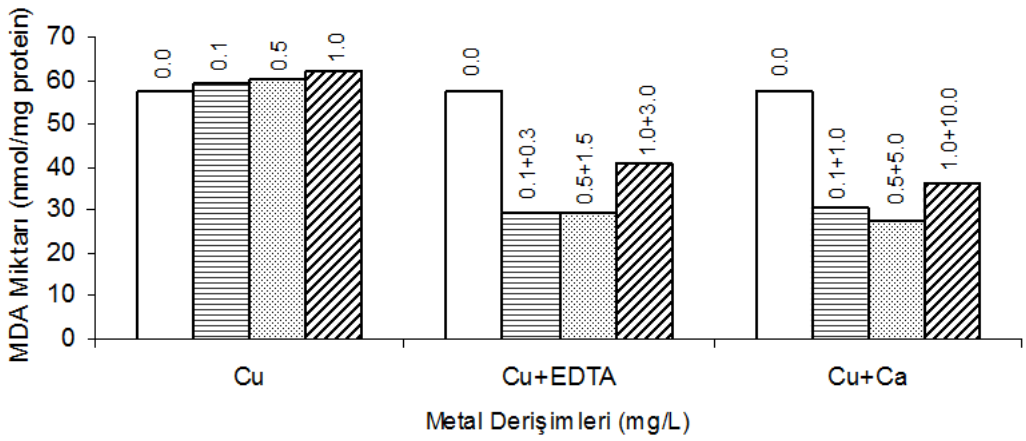
O. niloticus'da belirli bir sürede beyin dokusundaki MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarının derişime bağlı etkileri Şekil 4.76 – 4.78'de verilmiştir.

7. günde denenen tüm Cu derişimlerinde beyin MDA düzeyinde kontrole göre önemli artma gerçekleşirken Cu karışımlarında önemli azalma gerçekleşmiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en düşük derişimlerinin etkisinde kontrole göre sırasıyla %7 artış ve %22 ile %36 oranında azalma saptanmıştır (Şekil 4.76; SNK, P<0.05).



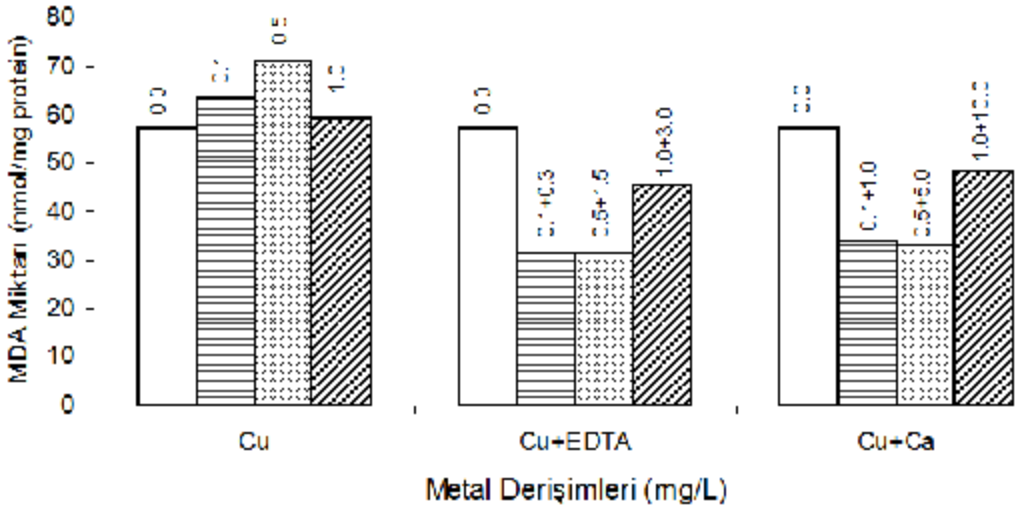
Şekil 4.76. 7. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu +EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

14. günde denenen tüm Cu derişimleri beyin MDA düzeyinde kontrole göre önemli bir artışa neden olurken Cu karışımlarında önemli bir azalmaya neden olmuştur. 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA ile 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca derişimlerinde kontrole göre MDA düzeyindeki azalma diğer ortam derişimlerine göre daha düşük oranda gerçekleşmiştir. 0.5 mg/L Cu, 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA, 0.5 mg/LCu + 5.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde MDA düzeyinde sırasıyla %4 artış ve %49 ile %53 oranında ise azalma kaydedilmiştir (Şekil 4.77; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.77. 14. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

28. günde denenen tüm Cu derişimlerinde beyin MDA düzeyi kontrol grubuna göre önemli artış göstermiştir. Cu karışımlarında ise önemli azalma olduğu belirlenmiştir. Cu ve Cu + EDTA ile Cu + Ca karışımlarının en düşük derişimlerinin etkisinde kontrole göre sırasıyla %4 artma ve %20 ile %16 oranında azalma olduğu saptanmıştır (Şekil 4.78; SNK, $P<0.05$).



Şekil 4.78. 28. günde *O. niloticus*'un beyin dokusunda MDA düzeyi üzerine Cu, Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinin etkisi.

TARTIŞMA

Ağır metallere maruz kalan balıklarda yüksek derişimlerde mortalite, düşük derişimlerde ise hareket bozuklukları, besin alamama, yavaş büyüme, omurgada deformasyonlar, anemi, iç organlarda işlev bozuklukları, doku hasarları, solunum güçlüğü ve osmoregülasyonun bozulması gibi semptomlar gözlenebilmektedir (Giles, 1984). Balıklarda mortalite akut fazda solungaçlar vasıtasıyla iyon kaybı sonucu, kronik fazda ise metal alınımının yavaşlayarak devam etmesi ve iç organlar üzerine olumsuz etkisi nedeniyle olduğu belirtilmiştir (Hansen ve ark., 2002).

28 günlük deney sürecinde denenen tüm Cu ortam derişimlerinde balıklarda herhangi bir mortaliteye rastlanmamıştır. Bu da *O. niloticus*'da absorbsiyon, depolama ve atılım yöntemlerinin çok iyi geliştiğini ve dış ortamdaki ağır metal derişimlerindeki değişikliklere karşı balığın dirençli olduğunu göstermektedir. Farklı balık türleriyle (*O. mykiss, C. carpio* ve *C. auratus gibelio*) yapılan araştırmalarda Cu miktarının artışı bu türlerde toksik etkilere neden olmuş ve bunun sonucunda türlerin hayatta kalma süreleri azalmıştır (De Boeck ve ark., 2004). Araştırıcılar Cu'nun balıklarda ölüme neden olmasını aşırı derecede mukusun oluşumu nedeniyle O_2 alınımının engellenmesi ve solungaç dokusunda iyon dengesinin bozulmasına bağlamışlardır (Heath, 1995; De Boeck ve ark., 2004). Bu araştırmada en yüksek bakır derişimi olan 1.0 mg/L ortam derişiminde ve 28 günlük süre sonunda *O. niloticus*'da ölüm gözlenmemiştir.

Düşük derişimlerde Cu; ekstraselüler veya sitozolik metal şelatlaştırıcı proteinleri indüklemekte (Pelgrom ve ark., 1995), solungaç dokularında Na dengesinin bozulmasına (Sola ve ark., 1995), karaciğerde enerji metabolizmasının değişmesine ve bunun sonucunda metabolik hasara neden olabilmektedir. Ayrıca Cu'nun solungaçlarda bulunan ve iyon regülasyon prosesinde görev alan karbonik anhidraz enzimini de inhibe ettiği bilinmektedir (Hogstrand ve ark., 1995). Bu araştırmada 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde deneyin ilk günlerinde, kontrol grubuna göre balıkların yüzme hareketlerinin azaldığı ve verilen besini çok düşük miktarda aldıkları gözlenmiştir. Bu davranışlarıyla, balıkların Cu'ya tepki gösterdikleri düşünülmektedir.

Cu solungaç dokusu üzerine direkt etkisi; nekrozisin tetiklenmesine, hipertrofi, hiperplasi ve mukus oluşumunun artışına (Mazon ve ark., 2002; Fernandes ve Mazon, 2003; Mazon ve ark., 2004) indirekt olarak da ikincil lamellerde kortizol yoluyla klorid hücrelerinin çoğalmasına (Wendelaar Bonga, 1997) ve solunum yüzeyinin azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca branşiyal epitelde çeşitli histopatolojik değişikliklere neden olmakta ve fizyolojik parametrelerde bozukluklar oluşturmaktadır (Sola ve ark., 1995; Arellano ve ark., 2000; De Boeck ve ark., 2001; Mazon ve ark., 2002).

Akuatik sistemin kirlilik düzeylerinin değerlendirilmesinde balıklar yaygın olarak kullanılmaktadır. Balıklardaki biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler, çevre kirliliğinin biyomarkırı olarak değerlendirilmektedir (Beliaeff ve Burgeot, 2002; Dautremepuits ve ark., 2004; Lavado ve ark., 2006). Bu çalışmada kullanılan *O. niloticus* akuakültür ortamında üretimi yapılan Afrika kökenli yaygın bir türdür ve su kirliliğinin biyoindikatörü olarak bir çok araştırmada kullanıldıkları saptanmıştır (Almeida ve ark., 2002).

Genellikle akuatik organizmalarda metal alınımı solungaçlar (çözünmüş formda) ve sindirim sistemiyle (besin yoluyla) olmak üzere iki büyük yolla olmaktadır (Kim ve Kang, 2004). Bakır, balıkların solungaçlarında mukusun oluşumunu arttırarak biriktiği belirtilmiştir (Tao ve ark., 2002). Solungaç epitelyumunun apikal membranlarında iki tip bakır bağlanma yeri bulunmaktadır. Bunlardan biri yüksek afinite-düşük kapasite bağlanma yeri ki bu düşük metal derişimlerinde olmakta, diğeri düşük afinite-yüksek bağlanma yeridir ki bu da yüksek metal derişimlerinin etkisinde olmaktadır (Macrae ve ark., 1999; Taylor ve ark., 2002). Bakır solungaç yüzeyinde doygunluğa ulaştığında intraselüler kompartmanlara geçerek birikmeye başlar. Bakırın intraselüler ortama taşınması ise ATP az'larla olmaktadır (Campbell ve ark., 1999).

Balıklarda metallerin alınımı atılımlarından daha fazla olduğu durumlarda dokularda birikim gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmalarda balıkların doku ve organlarındaki Cu birikiminin ortam derişiminin artmasına ve etkide kalınan sürenin uzamasına bağlı olarak arttığı bildirilmiştir (Kargın ve Erdem, 1991; Paris-Palacios ve ark., 2000; Romani ve ark., 2003; Dautremepuits ve ark., 2004). Ayrıca bir

metalin hangi doku ve organda daha çok birikebileceği türlere göre değişim göstermektedir (Kargın ve Erdem, 1992). Kaya balığı *Sebastes schlegeli*'de Cu birikiminin etkide kalınan süreye ve derişime bağlı olarak arttığı belirtilmiştir (Kim ve Kang, 2004). Bu çalışmada denenen tüm Cu ortam derişimlerinin etkisinde *O. niloticus*'un dokularında metal birikimi ortam derişimi ve etkide kalınan sürenin uzamasına bağlı olarak arttığı saptanmıştır. Bunun büyük bir olasılıkla bakırın solungaçlarda doygunluğa ulaştıktan sonra diğer dokulara serum proteinleri ve ATP az'larla taşınması sonucu olabileceği düşünülmektedir.

Balıklarda ağır metallerin birikimi türe göre farklılık gösterdiği gibi dokular arasında da farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Pelgrom ve ark., 1995; De Boeck ve ark., 2004). Karaciğer ve böbrek dokusu balıklarda metal birikiminde hedef organlardır. Liang ve ark. (1999) iç organların metal biriktirmede önemli rol oynadıklarını belirtmişlerdir. Bu araştırmada denenen tüm süre ve ortam derişimlerinde Cu birikiminin karaciğer>böbrek>solungaç>kas>beyin şeklinde olduğu saptanmıştır.

Laboratuar ve doğal çalışmalarda balık karaciğerinde biyokimyasal ve histolojik değişikliklerin çalışılması kirleticilerin balıklara etkisinin çevresel değerlendirilmesinde önemli bir araç olmuştur (Hinton ve Lauren, 1990). Karaciğer; kemikli balıklar dahil tüm yüksek omurgalılarda Cu için temel homeostatik bir organdır (Grosell ve ark., 2003). Ayrıca temel metabolizmada çeşitli yaşam fonksiyonları için önemli rol oynayan ve toksik maddelerin birikimi, biyotransformasyonu ve atılmasında önemli bir görevi olan organdır (Triebskorn ve ark., 1994; 1997). Balıklarda metal birikimiyle ilgili yapılan araştırmalarda karaciğerde Cu birikiminin diğer dokulara kıyasla birkaç kat daha yüksek olduğu saptanmıştır (Romeo ve ark., 2000; Cogun ve Kargın, 2004; Kim ve Kang, 2004). Basha ve Rani, (2003) karaciğerin metaller için bir depo organı olduğu ve karaciğer hücrelerinin metaller için önemli bir hedef olduğunu ve metallerin birikimi sonucu hücrelerde yapısal ve işlevsel bozuklukların oluştuğunu belirtmişlerdir. Sularda metal düzeyinin artması, hepatositlerde metalothionein gibi metal bağlayıcı proteinlerin üretiminin artmasına neden olmaktadır. Balıklar çok yüksek düzeyde Cu derişimlerinin etkisine bırakıldıklarında, bakırı alıkoymak için karaciğer kapasitesi

yeterli olmamakta ve bunun sonucunda Cu'nun büyük bir kısmı kan dolaşımı yoluyla diğer organlara transfer edilmektedir (Pelgrom ve ark., 1995).

Bu araştırmada denenen tüm ortam derişimlerinde en yüksek bakır birikiminin karaciğerde olduğu saptanmıştır. 1.0 mg/L Cu etkisinde kalan balıklarda Cu birikiminin 0.1 mg/L Cu etkisindeki balıklara göre yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Kaya balığı *S. schlegeli*'de bakır birikimiyle ilgili yapılan bir araştırmada Cu birikiminin en fazla karaciğerde biriktiği, bunu barsak, böbrek, solungaç ve kas dokusunun izlediği belirtilmiştir (Kim ve Kang, 2004). Cu'nun etkisine bırakılan *Dicentrarhchus labrax*'da Cu birikiminin en fazla karaciğerde olduğu, bunu böbrek ve kas dokusunun izlediği belirtilmiştir (Romeo ve ark., 2000).

Toksik maddelerin atılımında önemli rol oynayan böbrekler (Mazon ve Fernandes, 1999), ağır metallerin vücuttan atılmalarını sağlayan filtreler olarak görev yapmaktadırlar. Ayrıca metal etkisinde metallothioneinlerin sentezlenmesi nedeniyle önemli bir doku olduğu belirtilmiştir (Cousins, 1985). Araştırmamızda böbrek dokusunda Cu birikimi solungaç, beyin ve kas dokusuna oranla daha yüksek düzeylerde olduğu belirlenmiştir. Romeo ve ark., (2000) *D. labrax*'da Cu birikimiyle ilgili yaptıkları bir araştırmada karaciğerden sonra en yüksek birikimin böbreklerde olduğunu belirtmişlerdir. *O. mykiss* ve *C. carpio*'da böbreklerde Cu birikiminin yüksek olduğu belirtilmiştir (De Boeck ve ark., 2004).

Solungaçlar ortam ile doğrudan doğruya etkileşim halinde olan önemli bir dokudur. Balıklarda solungaçlar dış çevreyle sürekli ve doğrudan temas halinde olduklarından dolayı su kirliliğinde birincil hedef organ olup (Perry ve Laurent, 1993) sudan Cu alınımında hedef doku olduğu belirtilmiştir (Campbell ve ark., 1999). Suyun büyük bir bölümü solungaçlar tarafından filtre edilmekte ve ortamdaki herhangi bir kirliliği hemen yansıtabilmektedir (Basha ve Rani, 2003). Gaz değişimi, iyon regülasyonu ve metabolik atık ürünlerin salgılanması gibi üç temel işlevi vardır. Solungaçtaki metal derişiminin yüksek olması solunum suyuyla alınan metallerin solungaçtaki mukuslara yapışmasından ve lameller arasında kalmasından kaynaklanmaktadır (Heath, 1987). Bu araştırmada denenen tüm koşullarda Cu birikimi karaciğer ve böbrekten sonra en fazla solungaçlarda birikmiştir. *S. schlegeli*'de Cu birikimiyle ilgili yapılan bir araştırmada solungaçlardaki Cu

birikiminin etkide kalınan süre ve ortam derişimine bağlı olarak önemli düzeyde arttığını belirtmişlerdir (Kim ve Kang, 2004). Liu ve ark. (2006) Cu'nun subletal derişimlerine bıraktıkları *C. auratus*'ta Cu birikiminin karaciğerden sonra solungaçlarda fazla biriktiğini saptamışlardır. Subletal Cu etkisine bırakılan tatlı su balıklarının solungaçlarında kontrol grubuna göre 3 katlık Cu birikiminin olduğu belirlenmiştir (Grosell ve ark., 1996, 1997; Pelgrom ve ark., 1995; Taylor ve ark., 2000). Grosell ve ark. (1996), solungaçlarda Cu birikiminin süreye ve derişime bağlı olarak arttığını belirtmişlerdir.

O. niloticus ile yapılan bu çalışmada denenen tüm sürelerde ve ortam derişimlerinde, Cu birikimi beyin ve kas dokusunda diğer dokulara oranla oldukça düşük çıkmıştır. Genelde balık kasları ortamdaki metal derişimlerinin izlenmesinde iyi bir indikatör doku değildir. Kas dokusunda metal birikiminin incelenmesi, balık kaslarının insanlar tarafından tüketildiğinden dolayı sağlık açısından önem taşımaktadır. 40 gün süre ile Cu derişimlerine bırakılan *S. schlegeli* balıklarının kas dokusunda Cu birikiminin diğer dokulara oranla çok düşük olduğu saptanmıştır (Kim ve Kang, 2004). *Tilapia nilotica*'da dokularda Cu ve Zn birikimiyle ilgili yapılan bir çalışmada her iki metalin de beyin dokusunda düşük düzeylerde biriktiği belirtilmiştir (Karakoç ve Kargın, 1999). *Raja erinacea*, *Myoxocephalus octodecemspinosus* ve *Sparus auratus* türleri ile yapılan çalışmalarda Cu uygulaması sonucunda kas ve beyin dokularında birikimin çok düşük olduğu bildirilmiştir (Kamunde ve ark., 2001, Grosell ve ark., 2003, Romani ve ark., 2003).

Yapılan bu çalışmada karaciğer, beyin, kas, solungaç ve böbrek dokularındaki Cu birikimi derişim ve süreye bağlı olarak artış göstermiştir. Denenen tüm sürelerde ve ortam derişimlerinde en fazla Cu birikimi sırasıyla karaciğer, böbrek, solungaç, kas ve beyin dokularında bulunmuştur. Metal birikiminin daha yoğun olarak karaciğer, böbrek ve solungaçlarda gözlenmesinin nedeni metabolik olarak aktif olmalarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca karaciğerde Cu'nun diğer dokulara oranla daha yüksek düzeylerde bulunmasının nedeni Cu'nun metaloproteinlere bağlanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu araştırmada denenen tüm Cu ortam derişimlerinde kan dokusunda bakır birikimi süre ve derişim artışına paralel olarak artmıştır. *Oreochromis*

mossambicus'ta Cu birikimi ile ilgili yapılan bir araştırmada kan dokusu Cu birikiminin yüksek olduğu saptanmıştır (Pelgrom ve ark., 1995).

Şelatlar, metalleri bağlamak suretiyle onları ya başka bir yere taşır ya da özelliğini değiştirerek sıvılarda erimeyen bileşikler şekline çevirmektedirler. Metal zehirlenmesini engelleyen şelatlaştırıcı ajanlar, genellikle iki veya daha fazla elektronegatif grupla katyonik metal atomları arasında stabil kovalent bağlar oluşturan esnek moleküllerdir. Şelatlaştırıcı ligandlar metallerle birleşmek için elektron veren –OH, -SH, -NH gibi fonksiyonel grupları içermektedir (Ellenhorn ve Barceloux, 1988).

Su ortamında EDTA ve NTA gibi şelatlaştırıcı ajanların ve askıda katı maddelerin bulunması Cu'nun akuatik hayvanlar üzerine toksisitesini azaltmaktadır. Akuatik canlılarda Cu toksisitesinin sert sularda yumuşak sulardan daha az olduğu bilinmektedir (Boyd, 1982). $CaNa_2$ - EDTA gibi maddeler bazı divalent ve trivalent metaller için etkili şelatlardır (Fatima ve ark., 2000). Dokulardan şelatlaştırıcı ajanlar veya metallothioneinler gibi temizleyici sistemler aracılığıyla Cu ve bileşiklerinin çıktığı belirtilmiştir (Marr ve ark., 1995, Hidalgo ve ark., 2001).

Ni etkisine bırakılan balıklarda biyokimyasal değişikliklerin ve patolojik bozuklukların giderilmesinde $CaNa_2$ - EDTA gibi şelatların önemli rolü olmuştur (Gopal ve ark., 2009). Tao ve ark. (2002), *Parachcirodon inesi* balığında Cu-EDTA kompleksinin etkisinde balıklarda Cu'nun Cu-oksalik asit ve Cu-tartarik asit gibi komplekslere oranla daha az alındığını bildirmişlerdir.

Bu araştırmada 28 gün süre ile Cu ve Cu + EDTA karışımının etkisine bırakılan balıkların dokularındaki Cu birikimi, Cu'nun doğrudan etkisine bırakılan balıklara oranla oldukça düşük çıkmıştır. Dokulardaki Cu birikimi 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA karışımlarındaki balıklarda 0.1 mg/L Cu etkisindeki balıklara göre beyinde %28, kasta %56, solungaçta %50, böbrekte %67, karaciğerde %24 0.5 mg/L Cu + 1.5 mg/L EDTA karışımındaki balıklarda 0.5 mg/L Cu etkisindeki balıklara kıyasla beyinde %43, kasta %58, solungaçta %52, böbrekte %70, karaciğerde %23 ve 1.0 mg/L + Cu 3.0 mg/L EDTA karışımındaki balıklarda 1.0 mg/L Cu ortam derişimindeki balıklara kıyasla beyinde %68, kasta %69, solungaçta %67, böbrekte % 69, karaciğerde %17 düzeyinde bir azalma olduğu saptanmıştır.

O.mossambicus'ta Cu bulunan ortama EDTA ilave edildiğinde, Cu'nun tek başına etkisindeki balıklarla karşılaştırıldığında solungaç, karaciğer ve kas dokularında Cu alınımının ve dolayısıyla Cu birikiminin oldukça azaldığı belirtilmiştir (James ve ark., 1998). Araştırıcılar EDTA'nın ortamdaki bakırı bağlayarak Cu iyonunun stabil bir durumda kalmasını sağladığı ve suda çok az miktarda serbest Cu iyonunun kaldığı ve bunun sonucunda dokular tarafından metal alınım oranının azaldığını belirtmektedirler. Cu ve Cu + EDTA karışımının etkisine bırakılan *C. auratus*'ta EDTA solungaçtaki Cu birikimini azaltmıştır (Liu ve ark., 2005). Araştırıcılar, solungaçlarda metalin bağlandığı bölgede EDTA ile kompleks oluşturarak metalin vücuda girişini engellediğini belirtmişlerdir.

Farklı elementler arasındaki ilişkiler ağır metallerin birikimi ve toksisitesini etkilemektedir (Sorensen, 1991). Çeşitli çalışmalar sulardaki Ca sertliğinin (Sawyer ve ark., 1989) ya da alkalinite (MacMillan, 1985; Wellborn, 1985; Reardon ve Harrell, 1990) düzeylerinin Cu toksisitesini azaltmada önemli etki yaptıkları gösterilmiştir. Wurts ve Perschbacher (1994); *I. punctatus* ile yaptıkları bir çalışmada düşük alkaliniteli ortamda, Ca sertliğinin Cu toksisitesini engellediğini bildirmişlerdir. Miller ve Mackay (1980), *O. mykiss* ile yaptıkları çalışmada, Ca sertliğinin Cu toksisitesine karşı korumada alkaliniteden daha önemli olduğunu vurgulamışlardır. Playle ve ark. (1993), Mg sertliğinin de solungaçlarda Cu bağlanma bölgeleri için Cu ile rekabete girdiğini bildirmişlerdir. Straus ve Tucker (1993), toplam alkalinite ve toplam sertliğin *Ictalurus punctatus*'ta akut Cu toksisitesini azaltmada önemli etkisinin olduğunu göstermişlerdir.

Solungaç yüzeylerine bağlanan Cu, solungaçlarda bağlanma bölgeleri için Ca ile rekabete girmektedir (Pagenkopf, 1983; Hunn, 1985; Playle ve ark., 1993; Matsuo ve ark., 2004). Sularda sertlik oluşturan yüksek Ca konsantrasyonunun, solungaçlarda iyon regülasyon mekanizmasını Cu'nun yıkıcı etkisinden koruyarak, Cu toksisitesini sınırlandırdığı düşünülmektedir (Pagenkopf,1983). Spry ve Wiener (1991), yaptıkları bir çalışmada sulardaki Cu toksisitesi ile Ca konsantrasyonu arasında negatif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Yumuşak ve az iyonlu sularda düşük Ca düzeyi, Cu alınımının artışına neden olarak solungaç membran yüzeyine Cu'nun bağlanmasını desteklemektedir (Carvalho ve Fernandes, 2006).

28 gün süre ile Cu + Ca karışımlarının etkisine bırakılan balıkların dokularındaki Cu birikimi, Cu'nun doğrudan etkisine bırakılan balıklara oranla oldukça düşük çıkmıştır. Dokulardaki Cu birikimi; 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca karışımlarındaki balıklarda 0.1 mg/L Cu etkisindeki balıklara göre beyinde %5.47, kasta %16, solungaçta %37, böbrekte %27, karaciğerde %18; 0.5 mg/L Cu + 5.0 mg/L Ca karışımındaki balıklarda 0.5 mg/L Cu etkisindeki balıklara kıyasla beyinde %25, kasta %34, solungaçta %26, böbrekte %60, karaciğerde %9; 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca karışımındaki balıklarda 1.0 mg/L Cu ortam derişimindeki balıklara kıyasla beyinde %38, kasta %40, solungaçta %48, böbrekte %31, karaciğerde %7 düzeyinde bir azalma olduğu saptanmıştır. Bu azalmalar, balığın solungaçlarında Ca'nın Cu ile rekabete girmesi sonucu Cu alınımını azaltması sonucu olduğu düşünülmektedir.

O. mykiss'te dokularda Cd birikimi üzerine Ca'nın etkisiyle ilgili yapılan bir çalışmada ortama Ca iyonunun ilavesiyle böbrek, karaciğer ve plazmada Cd birikiminin azaldığı belirtilmiştir (Baldisserotto ve ark., 2005). Barron ve Albeke (2000), *O.mykiss*'te solungaçlarda Zn alınımının Ca tarafından engellendiğini belirtmişlerdir. Araştırıcılar solungaçlarda aynı alınım yeri için Zn ve Ca'nın direkt olarak rekabete girdiklerini belirtmişlerdir. *O. mykiss* alabalığında Cd birikimine Ca etkisi üzerinde yapılan çalışmada solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında Cd birikimi, Ca'nın varlığında azaldığı ve bu azalmanın Ca derişiminin artışıyla daha yüksek düzeylerde gerçekleştiğini bildirmişlerdir (Baldisserotto ve ark., 2004b). *Danio rerio'*da Cd toksisitesine karşı, Ca'nın koruyucu etkisi olduğu saptanmıştır (Meinelt ve ark., 2001).

28. günde kan dokusunda Cu birikimi 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde 0.1 mg/L Cu ortam derişimine göre yaklaşık % 30 oranında artış göstermiştir. Denenen tüm süre ve derişimlerde Cu düzeyi, Ca ve EDTA ortam derişimlerinde doğrudan Cu etkisine göre düşük çıkmıştır. 7. günde kan dokusunda Cu düzeyi 0.1 mg/L Cu, 0.1 mg/L Cu + 0.3 mg/L EDTA ve 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde kontrole göre sırasıyla 4 kat, 2 kat ve 3 katlık bir artış göstermişlerdir. 28. günde kan dokusunda Cu düzeyi; 1.0 mg/L Cu, 1.0 mg/L Cu + 3.0 mg/L EDTA ve 1.0 mg/L Cu + 10.0 mg/L Ca ortam derişimlerinde kontrole göre sırasıyla 12 kat, 8 kat ve 9 katlık

bir artış göstermişlerdir. Kan dokusunda artan metal düzeylerinin bu dokudaki metal bağlayıcı protein sentezindeki artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada uygulanan tüm ortam derişimlerinde EDTA ve Ca'nın tüm dokularda Cu birikimini önemli düzeyde azalttığı belirlenmiştir. Denenen tüm ortam derişimlerinde ve sürelerde EDTA'nın Cu birikimini engelleyici etkisi Ca'dan daha fazla olmuştur.

Metaller enzimlerin fonksiyonel gruplarına bağlanarak (sülfidril, karboksil, imidazol vb.), enzimle metal birlikteliğinin yerini değiştirerek veya reaktif oksijen türlerini üreterek enzimlerin aktivitesini değiştirebilmektedir (Voet ve Voet, 1995; Oliveira ve ark., 2004). Moleküler seviyede metallerin bir kısmı denaturasyona, çökelmeye, allosterik etkilere veya enzim inhibisyonuna neden olarak proteinlerle etkileşime girmekte, bir kısmı geri dönüşümsüz değişikliklere neden olarak nükleik asitlere bağlanmaktadır.

Balıklar akuatik ortamdaki değişikliklere büyük bir hassaslıkla tepki gösterdikleri için su kirliliğinin izlenmesinde biyoindikatör tür olarak önemli rol oynamaktadırlar. Toksikoloji, ekotoksikoloji ve farmolokoloji araştırmalarında kullanılan biyokimyasal markırlar ksenobiyotiklere maruz bırakılan organizmalar için ölçülebilen tepkilerdir. En yaygın bir şekilde araştırılan biyomarkırlar ksenobiyotiklerin ve metabolitlerinin detoksifikasyonunu içeren enzimlerdir. Enzimatik olmayan antioksidanlar, metallerin etkisinde kalan balıklarda bir biyomarkır olarak fazla incelenememiştir. Risk faktörlerinin tam olarak anlaşılması balıklarda metalin neden olduğu stresin hücresel ve moleküler düzeyde belirlenmesine bağlıdır. Detoksifikasyon enzimleri (AChE, GST, GE (genel esteraz)) farklı organizmalarda ağır metallerin etkisinde biyomarkır olarak çok sık kullanılmaktadır. Çünkü organizmalarda bu enzimlerin aktiviteleri metallerin etkisine tepkide değişebilmektedir.

Kirli ortamlarda yaşayan hayvanların bazı adaptasyonlar veya dengeleyici mekanizmalar geliştirdikleri ileri sürülmüştür (Regoli ve Principato, 1995). Hücresel detoksifikasyonu içeren biyokimyasal mekanizmalar, çeşitli metaller veya diğer çevresel kirleticilerin zararlı etkilerinin anlaşılması için önemlidirler (Di Giulio ve ark., 1993; Dimitrova ve ark., 1994; Doyotte ve ark., 1997).

Balıklarda çevresel kirleticilerin kabul edilemeyen düzeylerinin izlenmesi için GST ve AChE gibi önemli biyomarkırların incelenmesi gerekmektedir, çünkü bu enzimler kirleticilerin etkisinde hızla değişmektedirler. Bu nedenle bu enzim aktiviteleri organizmalarda hem toksik stresin biyokimyasal indikatörü hem de toksikantların etkisinin belirlenmesinde hassas parametreler olarak değerlendirilmektedir.

Ksenobiyotikler; hücre ve doku hasarına neden olan süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerini üretebilmektedirler (Halliwell ve Gutteridge, 1998). Protein oksidasyonu ksenobiyotik etkisiyle artabilmektedir (Gibson ve ark., 1996; Fessard ve Livingstone, 1998) ve okside proteinlerin bireysel ve grup halinde değerlendirilmeleri, balık karaciğerinde kirleticilerin neden olduğu oksidatif hasarın potansiyel biyomarkırı olarak kullanılabilmektedir (Ferreira ve ark., 2005). Toksik maddeler, detoksifikasyon enzimleri tarafından suda çözünürlükleri artırılarak boşaltım yoluyla vücuttan atılabilmektedirler.

AChE, asetilkolinin iletiminde bütünleyici bir rol oynar ve kirleticilerin etkisine hedef olan enzimlerin başında yer alır. AChE sinir ve sinir-kas bağlantılarında önemli bir işlevi bulunan bir enzimdir. AChE'ın inhibisyonu balıklar için çok tehlikelidir, çünkü kolinerjik sistem balık kalbinin işlevinde anahtar rol oynamaktadır (Pennec ve Le Bras, 1984). AChE'ın inhibisyonu potansiyel vagus sinirlerini etkileyerek dolaşımla ilgili metabolik proseslerde bazı olumsuzluklara neden olur. Bu durumda kalp fonksiyonunun engellemesiyle solungaçlarda O_2 alınımı ve CO_2'in bırakılmasında bozukluklar oluşur, bu da dokularda hipoksiyaya neden olur (Hughes, 1976; Nemcsok ve Hughes, 1988).

Ağır metaller AChE aktivitesini inhibe etmektedirler (Lionetto ve ark., 2003), metallerin neden olduğu AChE aktivitesindeki azalmanın; metalin enzimdeki konformasyonel değişiklikler ve metalin AChE'nin aktif bölgesine bağlanmasından kaynaklandığı belirtilmektedir (De La Torre ve ark., 2002).

AChE aktivitesi denenen tüm Cu ortam derişimlerinde kontrole göre karaciğer ve böbrekte önemli oranda azalmış; beyin ve solungaçta ise önemli oranda artış göstermiştir. Cu'nun doğrudan etkisinde AChE aktivitesi Cu karışımlarına

oranla daha fazla azalma göstermiştir. Ca ve EDTA'nın Cu'nun AChE enzim aktivitesini azaltması üzerine negatif etki gösterdiği belirlenmiştir. Karaciğer ve böbrekte AChE aktivitesindeki azalmanın oksidatif stresin neden olduğu serbest radikallerin enzim aktivitesiyle ilgili bir amino asidin oksidasyonuna neden olabileceği, bunun da enzimde aktivasyon kaybına yol açabileceği düşünülmektedir. Suresh ve ark. (1992), Hg ve Zn etkisine bıraktıkları *C. carpio*'nın dokularında AChE aktivitesinin azaldığını saptamışlardır. *Saccobranchus fossilis'*de Cu dokularda AChE aktivitesini düşürmüştür (Verma ve ark., 1981).

Solungaç AChE aktivitesi 28. günde 1.0 mg/L Cu ve Cu karışımlarında kontrole göre yaklaşık 2 katlık bir artış göstermiştir. 7. gün solungaç AChE aktivitesi kontrole kıyasla 0.1 mg/L Cu + 1.0 mg/L Ca ortam derişiminde 2 kat, diğer ortam derişimlerinde ise 1 katlık artış göstermiştir. 28. günde AChE aktivitesi 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L Cu ortam derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %120, %110 ve %89 oranlarında artış göstermiştir.

Beyin, stresi tetikleyen dejenaratif koşullara karşı yüksek hassasiyetinden dolayı, farklı stres etkenleri için hedef bir dokudur (Li ve ark., 2009). Beyin AChE aktivitesi denenen tüm ortam derişimlerinin etkisinde tüm sürelerde kontrol değerlerine oranla yüksek çıkmıştır. Cu ortam derişiminin artmasıyla beyinde AChE aktivitesinde bir artış gözlenmiştir. 21 gün süreyle Cu ve Zn'nin subletal etkisine bırakılan *O. mykiss*'de beyin AChE aktivitesinin arttığı belirtilmiştir (Dethloff ve ark., 1999).

Oksidatif stresi oluşturan ksenobiyotiklerin, çevresel etkilerinin değerlendirilmesinde biyomarkır olarak kullanılan GST enzimi (Livingstone, 1998) glutatyonla ksenobiyotikleri ve onların metabolitlerini bağlamaktadır. Bu durum ksenobiyotikleri daha az toksik ve daha kolay atılabilir yapmaktadır (van der Oost ve ark., 1996). GST faz II detoksifikasyon enzim ailesinin önemli bir üyesidir ve tripeptid glutatyonla geniş bir molekül aralığında birleşir. Omurgalı ve omurgasız hayvanlarda antioksidan savunma arasında yer alan önemli bir enzimdir. GST aktivitesinin artışı, organik kirleticilere karşı savunma mekanizmasının başladığını göstermektedir. Ağır metallerin etkisiyle balıklarda GST üretiminin arttığı belirlenmiştir (Paris-Palacios ve ark., 2000).

En fazla karaciğerde olmak üzere pek çok dokuda bulunan GST'ler, toksik olabilecek ve vücudun önemli molekülleri ile etkileşebilecek ksenobiyotikleri glutatyon ile konjuge etmekte ve bu toksik moleküllere karşı vücudun önemli savunma mekanizmalarından birini oluşturmaktadırlar. Konjuge edilemeyen toksik moleküller hücrenin yapısal makromolekülleri ile etkileşerek çeşitli hasarlara neden olmaktadırlar (Sözmen, 2002).

GST enziminin fonksiyonu şu şekillerde olmaktadır; 1- Hem GSH hem de elektrofilik substratı proteinin aktif bölgesine bağlayarak GSH ile substratı yaklaştırmaktadır. 2- GSH'daki –SH grubunu aktive etmekte, böylece elektrofilik substrat üzerine GSH'ın nükleofilik atağına izin vermektedir (Armstrong, 1997).

Toksik potansiyeli olan ksenobiyotikler GSH ile konjugasyon yapmasalardı DNA, RNA veya hücre proteini ile kovalent olarak birleşerek önemli hücre hasarlarına yol açabileceklerdir (Murray ve ark., 1993). Bu nedenle GST, bazı ilaçlar ve karsinojenler gibi çeşitli toksik bileşiklere karşı önemli bir savunma mekanizmasını oluşturmaktadır.

Yapılan çeşitli çalışmalarda GST aktivitesindeki değişikliklerin, toksik bileşiklerin etkisinde bulunan balıkların farklı organlarında oluşan detoksifikasyon proseslerini yansıttığı belirtilmiştir (Cazenave ve ark., 2006; Monferran ve ark., 2008; Ballesteros ve ark., 2009).

Karaciğer, eksojen ve endojen elektrofilik bileşiklerin detoksifikasyonu için önemli bir organdır. Karaciğer, solungaç ve böbrekler toksik elektrofiliklere maruz kaldığında GST enzimini üretirler (Hamed ve ark., 2003).

Subletal Cd'nin etkisine bırakılan *O. mossambicus*'ta karaciğer GST aktivitesi artmıştır. Bu artış sürenin uzamasına bağlı olarak daha da fazla olmuştur (Basha ve Rani, 2003). Portekiz kıyılarında kirlenmiş bölgeden alınan *Mytilus galloprivincialis*'in solungaç dokusunda GST aktivitesinin artış gösterdiği belirtilmiştir (Moreira ve Guilhermino, 2005). Cu ve Cu + EDTA karışımına bırakılan *C. auratus*'ta karaciğer GST aktivitesinin arttığı belirtilmiştir (Liu ve ark., 2006). Parathionun etkisine bırakılan *Brycon cephalus*'un karaciğer ve solungaç dokusunda GST aktivitesi artmıştır (Monteiro ve ark., 2009). 3.0 mg/L Cd'nin

etkisine bırakılan *O. nilticus*'ta GST aktivitesi sürenin artışına bağlı olarak artış göstermiştir (Zirong ve Shijun, 2007).

Prochilodus lineatus türü ile yapılan bir çalışmada karaciğer GST aktivitesi kirli bölgelerden alınan örneklerde referans bölgesine göre artış göstermiştir. GST aktivitesindeki bu artış kirli çevre koşulları tarafından üretilen oksidatif stres hasarına karşı balığın savunmasını gösterebilmektedir (Cazenave ve ark., 2009). Krom, *Carassius auratus*'ta böbrek GST aktivitesini düşürmüştür (Lushchak ve ark., 2009). Cu ve β-naftoflavone karışımlarının etkisine bırakılan *A. anguilla'*nın solungaç dokusunda GST aktivitesi önemli bir şekilde artmıştır (Ahmad ve ark., 2005). Ağır metal içeren fabrika atık sularının etkisine bırakılan yılan balıkları ve *Leuciscus alburnoides*'in karaciğer GST aktivitelerinde önemli artış gözlenmiştir (Lopes ve ark., 2001; Maria ve ark., 2003).

Kirli bölgelerden alınan *O. niloticus'*un dokularında en düşük GST aktivitesi böbrek dokusunda belirlenmiştir (Hamed ve ark., 2003). Otto ve Moon (1996), balıklarla yaptıkları bir çalışmada ortam kirliliğinin artmasıyla karaciğer GST aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Tuvikene ve ark. (1999) da endüstri bölgesinde bulunan nehirden alınan *O. mykiss*'in karaciğerinde GST aktivitesinin önemli bir şekilde arttığını göstermişlerdir. Ahmad ve ark. (2000), farklı konsantrasyonlarda kağıt fabrikası atık sularına maruz bırakılan tatlı su balığı *Channa punctatus*'un çeşitli dokularında GST aktivitesini incelemişler ve karaciğerde zamana bağlı olarak glutatyon içeriği ile GPx ve GST aktivitelerinde artış gözlemişlerdir. Kirli bölgelerden alınan balıkların dokularında glutatyon konsantrasyonunda ve GST aktivitesinde bir azalma gözlenmiştir (Hamed ve ark., 2003).

Ağır metallerin GST aktivitesini etkilemesiyle ilgili genel olarak iki görüşün olduğu kabul edilmektedir. Bazı araştırıcılar; metallerin GSH konsantrasyonunu tükettikten sonra GST aktivitesini etkilediğini belirtirken (Stacey ve Klaassen, 1981), bazı araştırmacılar ise metallerin GST enzimine doğrudan bağlanarak etkilerini gösterdiklerini ileri sürmektedirler (Iscan ve ark., 1995; Coban ve ark., 1996; Gate ve ark., 1999). GSH tarafından EROD (7-Etoksirezorufin O-deetilaz) ve GST aktiviteleri üzerine, ağır metaller tarafından gerçekleştirilen geri dönüşümsüz inhibisyonun metallerin proteinlerin -SH gruplarına geri dönüşümsüz bağlanması

nedeniyle olabileceği ileri sürülmektedir (Viarengo ve ark., 1997; Oliveira ve ark., 2004).

28 gün süreyle Cu ve Cu karışımlarının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularında GST aktivitesi kontrol grubuna göre karaciğer ve solungaç dokularında artmış, beyin ve böbrekte ise azalmıştır. Cu ve Cu karışımları uygulanmasında tüm sürelerde karaciğer GST aktivitesi kontrole göre artış göstermiş ve Cu karışımlarında bu artış daha az olmuştur. Solungaç dokusunda denenen tüm sürelerde GST aktivitesi 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L Cu ortam derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %133, %101 ve %69 oranlarında artış göstermiştir. GST aktivitesindeki bu artış Cu'nun etkisiyle oluşan stresten sonra biyolojik sistemlerin bir adaptasyonu olarak düşünülebilir. Bu araştırmada böbrek dokusu GST aktivitesi, doğrudan Cu derişimleri etkisinde kontrole göre azalmıştır. Sürenin ve Cu derişimlerinin artmasıyla böbrek GST aktivitesindeki düşüş oranı artmıştır. Böbrek GST aktivitesi 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde 7, 14 ve 28. günlerde kontrole göre sırasıyla %11, %29 ve %32 oranlarında düşüş göstermiştir. Beyin GST aktivitesi doğrudan Cu'nun etkisinde kontrole göre önemli oranda azalma gösterirken, Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarında kontrol değerlerine yakın çıkmıştır. GST aktivitesi 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde kontrole göre 7, 14 ve 28. günlerde sırasıyla %43, %60 ve %31 düzeylerinde azalma göstermiştir.

Oksidatif stres parametrelerinin balığın dokularına göre, farklı tepki verdiği bilinmektedir. Enzim aktivitelerindeki değişiklikler ROS üretimini ve oksidatif stres parametrelerini temsil etmektedir. Bu çalışmada oksidatif stres indüklenmesinden dokuların farklı bir şekilde etkilendiği gösterilmiştir.

Çevresel kirleticilerin birçoğu, biyolojik sistemlerde oksidatif hasara neden olan hücre içi ROS oluşumunu artırdığı bilinmektedir. Oksidatif stres oksidatif metabolizmanın başlıca yan ürünleri olarak hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikal (HO•) ve süper oksit anyon radikal (O_2^-) gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumuyla ortaya çıkmaktadır (Zhang ve ark., 2003; Bagnyukova ve ark., 2005). Balıklar ROS'un etkisine karşı hassastırlar ve oksidatif hasarın üstesinden gelebilmek için antioksidant substratları (vitamin E, ürik asit, glutatyon, karetenoid) ve enzimleri içeren (CAT, GR, GST) antioksidant savunma sistemlerini

geliştirmişlerdir (Winston ve Di Giulio, 1991; Lopez - Torres, 1993). Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidantlar hücresel metabolizma ve fonksiyonun sürdürülmesi için ROS'un zararsız substratlara dönüşmesinde gereklidirler (Mates, 2000; Li ve ark., 2003; Zhang ve ark., 2008).

Hücresel bileşenler protein, DNA ve lipidlerin hasarına ve işlevlerinin bozulmasına neden olan ROS tarafından yapılan saldırıya karşı hassastırlar (Yu, 1994). ROS oluşum oranı, antioksidant savunma sisteminin karşı koyamayacağı düzeyi aştığı zaman oksidatif stres oluşmaktadır (Martınez-Alvarez ve ark., 2005) ve bunların zarar verici etkileri hücre membranlarında doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile protein, DNA ve steroid bileşiklerin oksidasyonları şeklinde gerçekleşmektedir (Van Der Oost ve ark., 2003; Cazenave ve ark., 2009).

Normal fizyolojik koşullar altında reaktif oksijen türleri vücuttaki yabancı kimyasal maddeler tarafından üretilip antioksidant savunma sistemleriyle uzaklaştırılabilmektedir. Bu durum aerobik organizmaların vücutlarındaki önemli bir reaktif oksijen uzaklaştırma sistemidir. Reaktif oksijen türleri oluşumu sonucu bazı oksidatif hasarlar, örneğin lipid peroksidasyonu, enzim inaktivasyonu, DNA ipliğinde kırıklar ile protein ve nükleik aside kovalent bağlanma ortaya çıkabilmektedir. Bu hasarlara karşı antioksidant enzimlerin hücre homeostasisinin sürdürülmesinde önemli bir rol oynadıkları belirtilmektedir (Zhang ve ark, 2004). Antioksidant enzimlerin indüklenmesi kirleticilere karşı spesifik bir tepkiyi yansıtmaktadır (Doyotte ve ark., 1997) ve bazı deniz organizmalarında kirleticilerin neden olduğu oksidatif stresin biyomakırı olarak ileri sürülmektedirler (Livingstone ve ark., 1992; Gamble ve ark., 1995; Regoli ve ark., 1998).

Oksidatif stres indikatörü olan metallerin birikimi (Ferreira ve ark., 2005) balıklarda oksidatif strese yol açan H_2O_2, $O_2^{\cdot -}$, OH^- gibi ROS'ların artışına neden olmaktadır (Radi ve Matkovics, 1988; Roche ve Boge, 1993; Dautremepuits ve ark., 2002). *İn vitro* ve *in vivo* çalışmalarda belirtildiği gibi Cu akuatik organizmalarda fizyolojik değişiklikler oluşturan ROS üretimine yol açarak oksidatif stresi tetiklemekte ve antioksidant enzim sistemlerini değiştirmektedir (Livingstone, 2001). Kadiiska ve ark. (1993)'na göre, Cu balıklarda genellikle karaciğerde

depolanmaktadır ve bu durum da balıkların bu organında ROS'un oluşumuna neden olmaktadır (Chandel ve ark., 2000; Sampaio ve ark., 2008)

Ağır metallerin alınımı ve atılımı antioksidant ve tiyollerin bulunuşuna bağlıdır. Antioksidantlar ağır metallerin toksisitesini azaltmada önemli role sahiplerdir. Kirli bölgelerden alınan balıklarda okside glutatyon redoks durumu ve çeşitli antioksidant enzimlerin aktivitesinin artması onların oksidatif stres altında olduklarını göstermektedir (Rodriguez-Ariza ve ark., 1993). Glutatyon düzeyi ve glutatyon bağlı enzim aktiviteleri, bazı türlerde ksenobiyotiklerin biyomarkırları olarak değerlendirilmektedir (Almar ve ark., 1998).

GSH, hücrenin protein olmayan tiyol içeriğinin büyük bir kısmını içermekte ve normal metabolik ve transport işlevlerinin sürdürülmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Parvez ve Raisuddin, 2006). Glutatyon toksik bileşiklere karşı intraselüler korumada ve ksenobiotiklerin detoksifikasyonunda ve atılımında önemli bir rol oynar (Anderson ve ark., 1997). GSH, hücreleri oksidatif stresten korur ve toksik bileşiklerin bir nükleofilik temizleyicisi olarak detoksifikasyon reaksiyonlarında önemli bir rol oynar (Monteiro ve ark., 2009). GSH hücrelerde çabuk ve hareketli bir antioksidant olarak, toksik maddeler için bir H atomunu vererek hücreler arası tiyol fonksiyonlarını önlemektedir. GR enzimi yardımıyla kolayca GSH formuna dönüşen glutatyon, okside formda (GSSG) bulunmaktadır. Glutatyon önemli bir Cu taşıyıcısıdır ve hücrelerde Cu'nun ilk temel şelatorudur (Ferreira ve ark., 1993; Ferruzza ve ark., 2000). Hücresel Cu metabolizmasında, GSH tarafından Cu alınımını ve GS – Cu kompleksini içerdiği ve metalin depolandığı yerden metalothioneinin apoproteinine transfer edildiği belirtilmektedir (Freedman ve ark., 1989; Conners ve Ringwood, 2000). Oksidatif stres, elektrofiliklerin detoksifikasyonu ve serbest radikallerin tutulmasında önemli role sahip olan GSH, balıklarda çeşitli kirletici etkilerinde biyomarkır olarak kullanılabilmektedir (Sanchez ve ark., 2005).

Hücresel glutatyondaki değişiklikler; balıklarda oksidant kirleticilerin etki süresinin ve düzeyinin bir indikatörü olduğu ileri sürülmektedir. Metallere maruz bırakılan *P. flavescens* türünün karaciğerinde GSH artmıştır (Giguere ve ark., 2005). GSH'ın oksidasyonu, lipid peroksidasyonunu engellemekte ve ksenobiyotikleri

oksidatif durumda stabilize eden serbest radikalleri temizleyebilmektedir (Pandey ve ark., 2003; Parvez ve ark., 2006). Balıklarda redükte glutatyonun tüketilmesi çevresel stres biyomarkırı olarak düşünülmektedir (Vaglio ve Landriscina, 1999; Rao, 2006).

Total glutatyon havuzu, hücredeki oksijen radikallerine karşı en erken kimyasal savunmalarından biridir (Ferreira ve ark., 1993). Li ve ark. (2009), yaptıkları bir çalışmada toksikantların balıkların solungaç ve barsak dokularında total glutatyon düzeyinin artışına neden olduğunu bildirmişlerdir. Kosower ve Kosower (1976) redükte GSH'ın peroksidasyonda önemli rol oynadığını ve reaktif oksijen türlerine karşı dokular için savunma sistemi sağladığını ifade etmişlerdir. Dokulardaki redükte glutatyonun azalması ağır metaller tarafından tetiklenmektedir ve serbest radikallerin oluşumunun artışıyla dokulardaki metal toksisitesi artmaktadır. Önemli bir antioksidant ve GP_x enzimi için substrat olan GSH, ağır metallerin hücreye girmesinden kısa bir süre sonra onların detoksifikasyonunda görev almaktadır (Gopal ve ark., 2009). Detoksifikasyon ürünleri vücuttan idrarla sülfür içeren metabolitler olarak atılmaktadır. İdrarda değişik şekillerde bulunabilen sülfürün organik bir moleküle bağlanarak oluşturduğu merkaptürik asit idrarla atılmaktadır. Tripeptid yapısındaki glutatyon merkaptürik asit oluşumunda rol oynamaktadır (Sözmen, 2002).

Redükte GSH, beyinde ROS'un detoksifikasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca belirli kimyasalların ve reaktif moleküllerin hücreden uzaklaştırılmasını kolaylaştırmak için glutatyon transferaza yardım etmekte ve belirli ROS'ları (ör; hidroksil radikal) detoksifiye etmek için doğrudan onlarla etkileşime girebilmektedir (Zhang ve ark., 2008).

GSH seviyesinin düşmesi; oksidatif ve antioksidant sistemler arasındaki dengenin bozulduğunu göstermektedir (Li ve ark., 2009). Ayrıca bu durum, GSH'ın kullanımındaki artıştan da kaynaklanabilmektedir. Cu etkisine bırakılan balıklarla yapılan çalışmalarda glutatyonun serbest radikal oluşumunu ve oksidatif durumdaki Cu'nun toksisitesini engellediği belirtilmiştir (Pandey ve ark., 2001; Parvez ve ark., 2003). GSH'ın bir ksenobiyotikle bağlanması ya kendiliğinden ya da GST tarafından katalizlenmesiyle meydana gelebilmektedir (Elia ve ark., 2003). Redükte glutatyon; metalleri şelatlaştırma ve detoksifiye etmesiyle, oksiradikalleri temizleme ve GP_x

tarafından kataliz edilen detoksifikasyon reaksiyonlarına katılmasıyla metallere karşı hücresel savunmada birinci basamak olarak kabul edilmektedir (Sies, 1999).

Sanchez ve ark. (2005), *Gasterosteus aculeatus* ile yaptıkları çalışmada Cu tarafından oluşturulan oksidatif stresi gidermek için antioksidant biyomarkırların indüklendiğini bildirmişlerdir. Sürenin uzamasıyla balıklar bakıra adaptasyon sağlamışlar ve antioksidant enzimler ile GSH normal düzeye dönmüştür.

Karaciğerde denenen tüm sürelerde Cu ortam derişiminin artmasıyla GSH düzeyi artmıştır. 28. günde 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L Cu ortam derişimlerinde karaciğer GSH düzeyi kontrole göre sırasıyla %34, %41 ve %59 oranında artış belirlenmiştir. Sürenin uzamasına bağlı olarak Cu ve Cu karışımlarının etkisinde GSH düzeyinde bir azalma gözlenmiştir. Cu etkisinde artan karaciğer GSH düzeyleri Cu + EDTA ve Cu + Ca karışımlarında düşerek kontrol değerlerine yaklaşmıştır. EDTA etkisinde kalan balıklardaki GSH değerleri Ca'nın etkisinde kalanlara göre kontrole daha yakın çıkmıştır. Denenen tüm sürelerde böbrek dokusu GSH düzeyi Cu ortam derişiminin artmasıyla önemli düzeyde artmıştır. 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L Cu ortam derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %22, %28 ve %30 düzeyinde artış saptanmıştır. Solungaç GSH miktarı Cu ve Cu karışımlarında kontrol grubuna göre artmıştır. $CuSO_4$'ın 40 ve 140 μgL^{-1} derişimlerinin etkisine bırakılan *B. rerio*'da karaciğer GSH düzeyi artmıştır. Bu artış 40 μgL^{-1} ortam derişiminde sürenin uzamasıyla daha yüksek olmuştur (Paris-Palacois ve ark., 2000). 3.0 mg/L Cd'nin etkisine farklı sürelerle bırakılan *O. niloticus*'un karaciğerinde GSH miktarının arttığı belirtilmiştir (Zirong ve Shijun, 2007). Cu ve Cu + EDTA kompleksinin etkisine bırakılan *C. auratus*'ta karaciğer GSH içeriğinin yüksek derişimlerde arttığı belirlenmiştir. Bu artışın EDTA'nın bulunduğu ortamda azaldığı saptanmıştır (Liu ve ark., 2005). Sunulan araştırmada *O. niloticus'un* beyin dokusu GSH miktarı tüm Cu ortam derişimlerinde kontrole göre azalmıştır. Beyin dokusu GSH miktarının azalması, beyin dokusunda lipid peroksidasyonundaki artış nedeniyle GSH'ın hücreyi koruma yeteneğinden kaynaklanmaktadır (Ahmad ve ark., 2005).

O. niloticus ile yapılan bu çalışmada GSH düzeyi denenen tüm sürelerde ve Cu ortam derişimlerinde kontrole göre beyin dokusunda GSH miktarı azalırken karaciğer, böbrek ve solungaçta artış göstermiştir. Karaciğer, böbrek ve solungaç

dokularında total glutatyon düzeyinin artışının enzim aktivitelerindeki artıştan beyin dokusu GSH düzeyinin azalmasının ise metallerin GSH'ın -SH grubuna direk bağlanmasından kaynaklanabileceği ve bu değişikliklerin oksidatif strese karşı koruyucu bir tepki olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Cu etkisinde beyinde oksidatif ve antioksidant sistemler arasındaki denge de bozulmuş olabilir.

Metal etkisi nedeniyle farklı stres koşullarında fizyolojik değişikliklerin incelenmesi için hematolojik parametreler kullanılmaktadır. Stres indikatörü olarak hematolojik parametrelerdeki değişikliklerin kullanılması, ağır metaller ve fizyolojik tepkiler hakkında bilgileri de verebilmektedir (Al-Attar, 2005). Bazı hematolojik parametreler fizyolojik stres indikatörleri olarak balıklarda ağır metal gibi kirleticilerin etkilerinin değerlendirilmesinde faydalı olduğu belirtilmektedir (Oliveira Ribeiro ve ark., 2006). Cu toksisitesinin balıklarda kan parametrelerinde değişikliklere neden olduğu belirtilmiştir (Wood, 1989; Heath, 1995; Wang ve ark., 1998; Cerqueira ve Fernandes, 2002).

Hemoglobin, oksijen taşınmasını sağlayan demir içeren bir proteindir ve kırmızı kan hücrelerinde bol miktarda bulunmaktadır. Metaloproteinlerin metallere karşı ilgileri çok fazladır ve metallerin yüksek derişimleri hemoglobin yapısına zarar vermektedir (Alves ve Wood, 2006; Chiesa ve ark., 2006). Ağır metaller hemoglobin sentezi ve işlevi üzerine toksik etki yapmakta ve kırmızı kan hücrelerinin sayısını da azaltabilmektedir (Khangarot ve ark., 1999;Chiesa ve ark., 2006). Balıklara Cu uygulaması kırmızı kan hücrelerini, hemoglobin ve hematokrit değerlerini artırmaktadır. Hemoglobin konsantrasyonundaki önemli artış kırmızı kan hücrelerinin artışıyla birlikte olmaktadır (Nussey ve ark., 1995).

Hormonlar, ilaçlar ve metaller gibi birçok madde kanda proteinlere bağlanarak taşınmaktadır. Plazma proteinleri temel olarak karaciğerden sentez edilmektedir. Karaciğer hastalıklarında plazma proteinlerinin miktarları azalmaktadır (Noyan, 2000). Serum proteinlerinin çeşitli işlevleri bulunmaktadır ve özellikle balıklarda su dengesinin ayarlanmasında önemli bir role sahiptirler (Norris ve ark., 2000). Kanın osmotik basıncının sabit kalmasında temel rol oynayan albuminler kan dokusunda en fazla bulunan proteinlerden biridir. Albuminler suyun kanda kalmasını sağlarlar. Plazmada albumin seviyesi düştüğü zaman, plazmadaki su dokulara

geçerek ödeme neden olur. Yapısındaki aminoasitlerin bağlayıcı özelliğinden dolayı plazmada taşınması gereken organik ve inorganik maddeleri (metal iyonları, hormonlar, metabolitler (bilirubin, safra asitleri), yağ asidleri ve ilaçlar) kolayca bağlamakta ve taşımaktadır. Albumin plazmanın major antioksidanıdır. Memelilerde karaciğer ve böbrek hastalıklarında, protein alınımının eksikliğinde ve iltihaplanma durumlarında albumin düzeyinde azalma gerçekleşir. Bilirubin peroksil radikali ve singlet oksijeni yok etmektedir. Bilirubin hücrelerden dışarı çıkan hemoglobinin parçalanıp metabolize edilmesi sonucunda oluşan bir son üründür. Organizmada normalin üstünde bir eritrosit harabiyeti varsa bilirubin düzeyi yükselir ve sarılığa neden olur. Haptoglobin damar içinde açığa çıkan hemoglobini bağlayarak RES'e (retikuloendotelyal sistem) taşır ve hemoliz durumunda kandaki düzeyi azalır. Haptoglobin hemoliz durumunda dokuların bir hasar indikatörü olarak haptoglobin-hemoglobin kompleksini oluşturmaktadır. Protein sentezinin azaldığı şiddetli karaciğer hastalıklarında ve hemolitik anemilerde haptoglobinin seviyesi düşmektedir. Transferrin Fe'yi barsak epitelinden hemopoetik dokulara (kemik iliğine, retikuloendotelyal sisteme, dalağa, karaciğere) taşımaktadır. Fe eksikliğinde, transferrin düzeyi artmakta fazlalığında ise azalmaktadır. Plazma transferrin seviyeleri aneminin teşhisinde ve tedavisinin izlenmesinde önemlidir.

Bu araştırmada serum hemoglobin, albumin, bilirubin ve transferrin düzeyleri denenen tüm sürelerde Cu ve Cu karışımları etkisinde kontrole göre önemli düzeyde artış göstermiştir ve doğrudan Cu etkisinde sürenin uzamasıyla bu değerler artmıştır. Cu'nun doğrudan etkisinde bu artış Cu karışımlarına göre daha fazla olmuştur. Bilirubin düzeyindeki artışın eritrosit yıkımının artmasından ve karaciğer rahatsızlıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Hemoglobin miktarı denenen tüm sürelerde doğrudan Cu derişimleri etkisinde kontrole göre artış göstermiştir. 28. gün Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerinde hemoglobin düzeyi kontrole göre bir miktar azalma göstermiştir. Denenen tüm ortam derişimlerinde sürenin uzamasına bağlı olarak albumin düzeyi artmıştır. 0.1 mg/L Cu ortam derişiminde 7, 14 ve 28. günlerde albumin düzeyi kontrole göre sırasıyla %12, %18 ve %24 oranlarında artış göstermiştir. Doğrudan Cu ortam derişimlerinin etkisinde serum haptoglobin düzeyi kontrole göre önemli düzeyde azalmıştır. 7. günde haptoglobin düzeyi 0.1, 0.5 ve 1.0

mg/L Cu ortam derişimleri etkisinde kontrole göre sırasıyla %52, %40 ve %14 düzeylerinde azaldığı belirlenmiştir.

O. niloticus ile yapılan bu çalışmada denenen tüm sürelerde Cu etkisinde serum albumin, bilirubin, transferrin, hemoglobin proteinlerinin artışı; metalin ortamdan alınması ve taşınmasında görev yapmaları nedeniyle bunların sentezlerindeki artıştan kaynaklanabilmektedir. *O. niloticus*'da sürenin uzamasıyla metallerin etkisinde gözlenen hemoglobin düzeyindeki azalmaların azalan eritrosit sayısıyla ya da hemoglobin sentez mekanizmalarının bozulmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Bakır sülfatın etkisine bırakılan *Heteropneustes fossilis* balığında hemoglobin ve biluribin düzeyleri kontrol balıklarına göre artış göstermiştir (Singh ve Reddy, 1990). Bu artış sürenin uzamasına bağlı olarak daha yüksek düzeylere ulaşmıştır. Cd'nin etkisine bırakılan *Catla catla* balığında hemoglobin içeriği 25 günlük etkide kalma periyodunda artış göstermiştir (Remyla ve ark., 2008). Araştırıcılar hemoglobindeki bu artışın, yapısı bozulan hemoglobin yerine yenisinin üretilmesi ve olgunlaşmamış eritrositlerin ortama verilmesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Cu'nun etkisine bırakılan *O. mossambicus*'ta hemoglobin düzeylerinin artış gösterdiği saptanmıştır (Cyriac ve ark., 1989). *C. carpio* ile yapılan bir çalışmada, uygulanan Cu derişiminin artışı serum albumin düzeyini artırmıştır (Romanenko ve Yevtushenko, 1985).

Glukoz, omurgalı hayvanlarda yüksek enerjili bileşik olup, fazlası kas ve karaciğerde glikojen formunda depo edilmektedir. Balıklarda ağır metaller toksik etkilerinin yanı sıra strese de neden olduğundan detoksifikasyon olaylarında ve stres koşullarında enerji gereksinimi artmaktadır. Cu, karaciğer glikojeninin kan glukozuna dönüşümüne neden olmaktadır (Heath, 1995). Kan glukoz düzeyleri balıklarda stres indikatörü olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada serum glukoz seviyesi Cu ve Cu karışımları etkisinde denenen tüm koşullarda önemli bir şekilde artmıştır. Bu durum, Cu'nun balıklar üzerinde bir stres oluşturduğu bu nedenle de artan enerji ihtiyacını glukozdan karşılamak amacıyla kas ve karaciğerde depo edilmiş glikojenin, kana glukoz olarak taşınmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca Cu'nun balıklar üzerinde

oluşturduğu stresten dolayı, plazmada adrenalin salgısının artmasıyla glukoz düzeyinin yükseldiği düşünülmektedir. Denenen tüm ortam derişimlerinde Cu ortam derişiminin artmasıyla glukoz düzeyi artmıştır. 28. günde 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L Cu ortam derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %20, %41 ve %51 düzeyinde artış belirlenmiştir.

$CuSO_4$'ın etkisine bırakılan *H. fossilis*'te serum glukoz düzeyi etkide kalınan sürenin uzamasıyla kontrol balıklarına göre artış göstermiştir (Singh ve Reddy, 1990). Cu'nun etkisine bırakılan *O.mykiss*'te plazma glukoz düzeyi 3. günün sonunda artmaya başladığı belirtilmiştir (Dethloff ve ark., 1999). Alüminyun'un etkisine bırakılan *Coregonus albula'*da kan glukoz düzeyi artmıştır (Vuorinen ve ark., 2003). Araştırıcılar glukoz düzeyindeki bu artışın kortikoid ve katekolaminin neden olduğu ve bunun strese ikincil bir tepki olarak ortaya çıktığını belirtmişlerdir.

Çevresel stres, balıklarda enerji gereksinimini artırarak serum glukoz düzeyinde artışa neden olmaktadır. Cazenave ve ark. (2009) pestisit ve ağır metallere maruz bırakılan balıklarda hipergliseminin ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Stres indikatörü olarak kullanılan plazma glukoz düzeyi, Cu etkisinin ve etkide kalınan sürenin uzamasıyla artmaktadır. Plazma glukoz konsantrasyonundaki artışlar *Ictalurus nebulosus* (Christensen ve ark., 1972), *S. gairdneri* (Lauren ve McDonald, 1985), *O. mykiss* (Richards ve Playle, 1999) ve *O. mossambicus* (Pelgrom ve ark., 1995) türleriyle yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Nemcsok ve Hughes (1988), balıklarla yaptıkları bir çalışmada kandaki glukoz düzeyindeki artışın $CuSO_4$'ün stres oluşturmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Kalıcı stres, balıkların çeşitli bakteriyel ve viral hastalıklara karşı direncinde önemli rol oynayan gama-globulin oluşumunu ve interferon üretimini baskılamayı içermektedir (Wedemeyer, 1970).

Ürik asidin antioksidant kapasitesi, süperoksit radikali ve hidrojen peroksidi temizleme ile singlet oksijeni bastırma ve metal iyonlarını bağlama yeteneğinden kaynaklanmaktadır (Parvez ve Raisuddin, 2006). Geçiş metalleri ile bağ yaparak C vitamininin oksitlenmesini engeller ve radikalleri tutar. Diyetle fazla protein alınımı sırasında, vücutta fazla miktarda üretildiğinde (hastalıklar, doku harabiyeti, açlık) ya da böbrek fonksiyon bozukluğu gibi bir nedenle vücuttan uzaklaştırılamaması durumlarında kanda ürik asit düzeyi yükselir. Yüksek düzeydeki ürik asidin kristaller

halinde eklem sıvıları ve böbreklerde biriktiği düşünülmektedir. Böbreklerde oluşan birikim, böbrek yetmezliği ve idrar yollarında taş hastalığına yol açmaktadır. Ürik asit ve kreatinin düzeyleri böbrek fonksiyonları için bir indikatör olarak kabul edilmektedir. Tao ve ark.'nın (2002) yaptığı bir çalışmada, Cu etkisine bırakılan balıklarda ürik asit ve kreatinin önemli düzeyde arttığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar; Cu'nun glomerulusların filtrasyon oranına olumsuz etkisinden (El-Bagori, 2001; Abbass ve ark., 2002) ve Cu'nun etkisiyle böbreklerde patolojik değişikliklere neden olmasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir (Tao ve ark., 2002).

Ürik asit düzeyi denenen tüm sürelerde Cu ve Cu karışımları etkisinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde artmıştır. Cu ortam derişimlerinin ve sürenin uzamasıyla ürik asit düzeyi artmıştır ve bu artış doğrudan Cu etkisinde Cu + EDTA ve Cu + Ca ortam derişimlerine göre daha fazla olmuştur. 7. günde 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L Cu ortam derişimleri etkisinde ürik asit düzeyi kontrole göre yaklaşık 2 ve 3'er katlık bir artış göstermiştir. Sunulan bu çalışmada ürik asit düzeyinin artışı, Cu etkisinden dolayı *O. niloticus*'da protein metabolizmasının bozulmasından ve böbrek dokusunda hasar meydana gelmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Genelde balıkların kan parametreleri metallerin potansiyel risklerinin belirlenmesinde uygun biyomarkırlardır. Farklı stres koşulları altında hematolojik değişikliklerin analizi genelde fizyolojik değişiklikleri ölçmek için kullanılabilmektedir. Enzimatik, enzimatik olmayan antioksidant ve doğuştan gelen immün sistemleri çevresel strese karşı biyolojik savunmaya önemli katkı sağlamaktadırlar (Lopes ve ark., 2001).

Ağır metal etkisindeki balıklarda enzimatik olmayan antioksidant düzeylerindeki değişimler türe ve metale bağlı olarak değişim göstermektedir. Bu durum metallerin metabolik olaylar üzerine etkilerinin farklı olmasından ve metabolik aktivitenin türe bağlı olarak değişim göstermesinden kaynaklanmaktadır

Süperoksit anyon ($O_2^{\cdot}$), hidroksil radikali (OH^{-}) gibi ROS'lar üretim sistemleri boyunca lipid peroksidasyonu olarak adlandırılan, biyolojik membranların doymamış yağ asitlerinin (PUFA) peroksidasyonunu stimüle etmektedirler (Radi ve Matkovics, 1988). Daha fazla aldehit ve hidrokarbonları üretmek için yağ asidi zincirlerinin parçalanmasının devam etmesi, lipid peroksidasyonu çoğalmasına yol

açmakta ve membran bütünlüğü ile hücre fonksiyonlarının kaybolmasına neden olmaktadır. Membran bütünlüğü ve ilgili lezyonların ölçümü için lipid peroksidasyonu önemli bir parametredir. Hücreler bu dejenaratif prosesin üstesinden gelmek, ROS'u temizlemek ve ardından nötralize etmek için güçlü bir antioksidant savunma sistemi geliştirmişlerdir (Sharma ve Agarwal, 1996). Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Lipid peroksidasyonu; ksenobiyotiklerin indüklediği oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Kelly ve ark., 1998) ve hücrenin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini değiştirmekte, membran yapısını parçalayarak sitotoksisiteye neden olmaktadır (Bhattacharya ve ark., 2007).

Akuatik hayvanlar diğer türlerden daha fazla miktarda doymamış yağ asitleri içerdikleri için lipidlerin peroksidasyonu bu canlılar için daha önemlidir (Huang ve ark., 2003). Çeşitli araştırıcılar tarafından deneysel koşullarda farklı ksenobiyotiklerin balıklar üzerine etkisinde, lipid peroksidasyonu düzeyinin arttığı saptanmıştır (Lopez-Lopez ve ark., 2006; Santos ve ark., 2006; Ballesteros ve ark., 2009).

Balık dokularında ksenobiyotiklerin etkisinde lipid peroksidasyon ürünü olan MDA üretiminin artması, çevresel kirleticilerin bir indikatörü olarak görev yapmaktadır. (Wofford ve Thomas, 1988). Ferreira ve ark., (2005), kefal balıklarının kirli sulardan temiz sulara alınmasıyla lipid peroksidasyon düzeylerinde bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Cu, Fe, Cd, PAH'lar (Polisiklik aromatik hidrokarbon) ve PCB'ler (Poliklorlu bifenil) içeren kirleticilerin tek ve karışımlarının etkilerinde hem balıklarda hem de omurgasızlarda oksidatif hasarın arttığı (lipid peroksidasyonu, proteinlerin oksidasyonu ve DNA hasarları) gözlenmiştir (Livingstone, 2001). *Channa punctatus* ve *C. batrachus* türlerinin böbrek dokularında Cd etkisi lipid peroksidasyonunu tetiklemiştir (Rana ve Singh, 1996).

24 saat boyunca bakır sülfat ve çinko sülfat etkisine bırakılan *Cyprinus carpiomorpha* türünde lipid peroksidasyonunda önemli bir artış ve antioksidant enzim aktivitesinde önemli bir azalma rapor edilmiştir (Radi ve Matkovics, 1988). Lipid peroksidasyonunun; oksidatif hücre koşulları altında hücre fonksiyonunun kaybolmasına neden olduğu rapor edilmiştir (Oakes ve Van der Kraak, 2003).

Li ve ark.'nın (2009) pestisit etkisine bırakılan *O. mykiss* ile yaptıkları bir çalışmada ilk 7 günlük sürede lipid peroksidasyon düzeylerinin genel olarak kontrol değerlerinde korunduğunu ve hücresel antioksidant sistemlerinin ROS üretimini temizleyebildiğini ve normal dengeyi sürdürerek antioksidant enzim aktivitelerinin artmaya başladığını belirtmişlerdir. Sürenin uzamasıyla ROS üretimi oksidatif maddelerin birikimi ve antioksidant sistemlerinin inhibisyonu sonucu antioksidant savunma dengesi bozulmuştur. Endojen antioksidant enzimlerinin inhibisyonuyla birlikte beyinde lipid peroksidasyon düzeyi de artmaya başlamıştır.

O. niloticus ile yapılan bu çalışmada, Cu dokularda oksidatif savunma sistemini hasara uğratarak lipid peroksidasyonunu tetiklemiştir. Cu ortam derişimlerinde karaciğer dokusu MDA düzeyinin Cu ve Cu karışımları etkisinde kontrole yakın veya kontrolden düşük olduğu belirlenmiştir. Böbrek, solungaç ve beyin dokularında MDA düzeyi Cu etkisinde kontrol değerlerinden önemli oranda yüksek çıkmıştır. EDTA ve Ca etkisinde ise MDA düzeyindeki artış azalarak kontrol değerlerine ulaşmıştır. Karaciğerde lipid peroksidasyonun düşük düzeylerde olması oksidatif enzimlerin koruyucu etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Böbrek, solungaç ve beyin dokusunda MDA miktarının yüksek çıkması ise lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kabul edilebilir. Denenen tüm sürelerde Cu ortam derişimlerinde beyin MDA düzeyi kontrole göre yüksek çıkmıştır. Denenen ortam derişimlerinde Cu etkisinde beyin dokusu GSH miktarının ve GST aktivitesinin azalması, ayrıca yüksek poliansatüre yağ asiti içermesi nedeniyle lipid peroksidasyonunun artmış olabileceği düşünülmektedir. Beyin dokusunu diğer dokulara göre oksidatif stresten daha çok etkilendiği belirlenmiştir.

Cu'nun 0.5 ve 2.5 µg/L derişimlerinin etkisine bırakılan ***Ruditapes decussatus***'ta solungaç dokusunda lipid peroksidasyonunun arttığı belirtilmiştir (Geret ve ark., 2002). Cu'nun etkisine bırakılan *Dicentrarchus labrax* balıklarında böbrek dokusu lipid peroksidasyonunun arttığı saptanmıştır (Romeo ve ark., 2000). Lipid peroksidasyonu Ni etkisinde kontrole göre artmış, Ni+EDTA etkisinde ise doğrudan Ni etkisine göre azalmıştır (Gopal ve ark., 2009).

O. niloticus ile yapılan bu çalışmada incelenen parametrelerin kontrole göre artış veya azalış göstermesi balıkların Cu'nun etkisinden dolayı oksidatif strese

maruz bırakıldığının göstergesidir. 28 gün süreyle Cu ve Cu + EDTA, Cu + Ca karışımlarının etkisine bırakılan *O. nilotucus* dokularında detoksifikasyon enzim aktivitelerinin indüklenmesi, artan ROS üretimindeki artışa karşı bir tepki olarak gösterilebilmektedir. Ancak böbrek, solungaç ve beyin dokularında lipid peroksidasyonunun artışından dolayı ROS'un enzimler tarafından tam olarak temizlenemediği düşünülmektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçların genel olarak önceki çalışmaların sonuçlarıyla paralellik gösterdiği saptanmıştır. Cu'nun lipid peroksidasyonunu artırarak ve enzimatik olmayan antioksidanlar ile detoksifikasyon enzimlerinin aktivitelerini değiştirerek hücrelerde bir oksidatif stres yarattığı belirlenmiş ve balıklara Cu ile birlikte EDTA ve Ca'nın uygulanmasının ise Cu toksisitesini engellemeye yönelik olduğu gösterilmiştir.

Balıklarla laboratuarda yapılan akuatik biyodeneyler, kimyasalların tek ve karışım halindeki etkileriyle ilgili bilgileri sağlamaktadır. Cu kirliliği bulunan sucul ortamlarda, kirliliğin ortamdan kaldırılması için EDTA ve Ca gibi şelatlaştırıcı ajanların kullanılması sucul organizmaların sağlığı açısından önemlidir. Sunulan bu çalışmada Ca ve EDTA'nın Cu toksisitesini azaltmada önemli rollerinin olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

ABBASS, H.H., ZAGHLOUL, K.H. and MOUSA, M.A.A., 2002. Effect of Some Heavy Metal Pollutants on Some Biochemical and Histopathological Changes in Blue Tilapia; *Oreochromis niloticus*. Egyptian Journal of Agricultural Research 80 (3): 1385–1411.

ABDOLLAHI, M., BAHREINI-MOGHADAM, A., EMMAMI, B., FOOLADIAN, F. and ZAFARICT, K., 2003. Increasing Intracellular cAMP and cGMP Inhibits Cadmium-Induced Oxidative Stres in Rat *Submandibular saliva*. Comp. Biochem. Physiol. C, 135: 331-336.

ADEWALE, I.O. and AFOLAYAN, A., 2005. Organ Distribution and Kinetics of Glutathione Transferase from African River Prawn, *Macrobrachium vollenhovenii* (Herklots). Aquatic Toxicology, 71: 193-202.

AHMAD, S., 1995. Antioxidant Mechanisms of the Enzymes and Proteins. (S. Ahmad editör), Oxidative Stress and Antioxidant Defences in Biology. Chapman and Hall, America, s 238-265.

AHMAD, I., HAMID, T., FATIMA, M., CHAND, H. S., JAIN, S. K., ATHAR, M. and RAISUDDIN, S., 2000. Induction of Hepatic Antioxidants in Freshwater Catfish (*Channa punctatus* Bloch.) is a Biomarker of Paper Mill Effluent Exposure. Biochim. Biophys., Acta. 1523: 37–48.

AHMAD, I., OLIVEIRA M., PACHECO, M. and SANTOS, M., 2005. *Anguilla anguilla* L. Oxidative Stress Biomarkers Responses to Copper Exposure With or Without β-Naphthoflavone Pre-Exposure. Chemosphere, 61: 267–75.

AL-ATTAR, A.M., 2005. Changes in Haematological Parameters of the Fish, *Oreochromis niloticus* Treated with Sublethal Concentration of Cadmium. Pakistan Journal of Biological Sciences, 8 (3): 421-424.

ALMAR, M., OTERO, L., SANTOS, C. and GALLEGO, J. G., 1998. Liver Glutathione Content and Glutathione-Dependent Enzymes of Two Species of Fresh Water Fish as Bioindicators of Chemical Pollution. Journal of Environmental Science and Health, 33: 769-783.

ALMEIDA, J. A., DINIZ, Y. S., MARQUES, S. F. G., FAINE, L. A., RIBAS, B. O., BURNEIKO, R. C. and NOVELLI, L. B., 2002. The Use of Oxidative Stres Responses as Biomarkers in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Exposed to *in vivo* Cadmium Contamination. Environ. Int., 27: 673-679.

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.

AMUNDSEN, P., STAKDVIK, F, J., LUKIN, A, A., KASHULIN, N, A., POPOVA, O, A. and RESHETNIKIOV, Y, S., 1997. Heavy Metal Contamination in Freshwater Fish from the Border Region Between Norway and Russia. The Science of the Total Environment. 201: 211-224.

ANDERSON, M.E., 1985. Determination of Glutathione and Glutathione Disulfide in Biological Samples. Methods in Enzymology, 113: 548-555.

ANDERSON, C., MOSIALOU, E., WEINANDER, R. and MORGENSTERN, R., 1994. Enzymology of Microsomal Glutathione S-Transferase. Adv. Pharmacol. 27: 19-35.

ANDERSON, M.E., 1996. Glutathione. In: Punchard, N.A., KELLY, F.J.(Eds.), Free Radicals: A Practical Approach. IRL Press, Oxford, pp, 213-226.

ANDERSON, M.E., PRESLAN, J. E., JOLIBOIS, L., BOLLINGER, J. E. and GEARGE, W. J., 1997. Bioaccumulation of Lead Nitrate in Red Swamp Cryfish (*Procambarus clarkii*). Journal of Hazardous Materials, 54: 15-29.

ARELLANO, J.M., BLASCO, J., ORTIZ, J.B., CAPETA-DA SILVA, D., NAVARRO, A., SANCHEZ-DEL PINO, M.J., SARASQUETE, C., 2000. Accumulation and Histopathological Effects of Copper in Gills and Liver of *Senegales sole*, *Solea senegalensis* and Toad Fish, *Halobatrachus didactylus*. Ecotoxicol. Environ. Restoration 3: 22–28.

ARMSTRONG, R.N., 1997. Structure, Catalytic Mechanism, and Evolution of the Glutathione Transferases. Chemical Research in Toxicology, 10:2-18.

BAGNYUKOVA, T.V., VASYLKIV, O.Y., STOREY, K.B. and LUSHCHAK, V.I., 2005. Catalase Inhibition by Amino Triazole Induces Oxidative Stress in Goldfish Brain. Brain Res., 1052: 180–186.

BALDISSEROTTO, B., KAMUNDE, C., MATSUO, A. and WOOD, C. M., 2004a. Acute Waterborne Cadmium Uptake in Rainbow Trout is Reduced by Dietary Calcium Carbonate. Comparative Biochem. and Physology, Part C, 137: 363-372.

BALDISSEROTTO, B., KAMUNDE, C., MATSUO, A. and WOOD, C. M., 2004b. A Protective Effect of Dietary Calcium Against Acute Waterborne Cadmium Uptake in Rainbow Trout. Aquat. Toxicol., 67: 55-73.

BALDISSEROTTO, B., CHOWDHURY, M. J. and WOOD, C. M., 2005. Effects of Dietary Calcium and Cadmium on Cadmium Accumulation, Calcium and Cadmium Uptake from the Water and Their Interactions in Juvenile Rainbow Trout. Aquat Toxicol., 72: 99-117.

BALLESTEROS, M.L., WUNDERLIN, D.A., BISTONI, M.A., 2009. Oxidative Stres Responses in Different Organs of *Jenynsia multidentata* Exposed to Endosulfan. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72: 199–205.

BARRON, M.G., ALBEKE, S., 2000. Calcium Control of Zinc Uptake in Rainbow Trout. Aquatic Toxicology, 50: 257-264.

BASAGA, N.S., 1990. Biochemical Aspects of Free Radicals. Biochem Cell Biol 68: 989-998.

BASHA, P. S. and RANI, A. U., 2003. Cadmium-Induced Antioxidant Defence Mechanism in Freshwater Teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). Ecotoxicol. and Environ. Saf., 56: 218–221.

BAŞUSTA, A., G., 2005. Balık Hematolojisi ve Hematolojik Metodlar. (M. KARATAS, Editör). Balık Biyolojisi Arastırma Yöntemleri. Nobel Yayın, 772, 498, Ankara.

BELIAEFF, B. and BURGEOT, T., 2002. Integrated Biomarker Response: a Useful Tool for Ecological Risk Assessment. Environmental Toxicology and Chemistry 21: 1316–1322.

BETOULLE, S., ETIENNE, J.C., VERNET, G., 2002. Acute Immunotoxicity of Gallium to Carp (*Cyprinus carpio* L.). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 68: 817-823.

BHATTACHARYA, S., BHATTACHARYA, A. and ROY, S., 2007. Arsenic-Induced Responses in Freshwater Teleosts. Fish Physiology and Biochemistry, 33: 463–473.

BOYD, C.E., 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture. Elsevier, Amsterdam. 317 pp.

BRAY, T.M., 2000. Dietary Antioxidants and Assessment of Oxidative Stres. Nutrition, 16: 578-581.

CABISCOL, E. and LEVINE, R.L., 1995. Carbonic Anhydrase: III. Oxidative Modification In Vivo and Loss of Phosphatas Activity During Aging. J. Biol. Chem., 277: 34773-34784.

CAMAKARIS, J., VOSKOBOINIK, I. and MERCER, J. F., 1999. Breakthroughs and View: Molecular Mechanisms of Copper Homeostasis. Biochem. Biophy. Res. Comm., 261: 225-232.

CAMPBELL, H.A., HANDY, R.D. and NIMMO, M., 1999. Copper Uptake Kinetics Across the Gills of Rainbow Trout (*Oncorhyncus mykiss*) Measured Using an Improved Isolated Perfused Head Technique. Aquat. Toxicol., 46: 177– 190.

CARVALHO, C.S. and FERNANDES, M.N., 2006. Effect of Temperature on Copper Toxicity and Hematological Responses in the Neotropical Fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. Aquaculture, 251: 109– 117.

CAZENAVE, J., BISTONI, M.D.A., PESCE, S.F. and WUNDERLIN, D.A., 2006. Differential Detoxification and Antioxidant Response in Diverse Organs of Corydoras Paleatus Experimentally Exposed to Microcystin-RR. Aquat. Toxicol. 76: 1–12.

CAZENAVE, J., BACCHETTA, C., PARMA, M,J., SCARABOTTI, P,A. and WUNDERLIN, D.A., 2009. Multiple Biomarkers Responses in *Prochilodus lineatus* Allowed Assessing Changes in the Water Quality of Salado River Basin (Santa Fe, Argentina). Environmental Pollution, 157: 3025–3033.

CERQUEIRA, C. C. and FERNANDES, M. N., 2002. Gill Tissue Recovery After Copper Exposure and Blood Parameter Responses in the Tropical Fish *Prochilodus scrofa*. Ecotoxicol. and Environ. Saf., 52: 83–91.

CHAN, P.C., PELLER, O.G. and KESNER, L., 1982. Copper (II)-Catalyzed Lipid Peroxidation in Lipisomes and Erythrocyte Membrane. Lipids, 17: 331-337.

CHAUDIERE, J., and FERRARI-ILIOU, R., 1999. Intracellular Antioxidants: from Chemical to Biochemical Mechanisms. Food and Chemical Toxicology 37: 949-962.

CHEUNG, C., ZHENG, G., LI, A., RICHARDSON, B. and LAM, P., 2001. Relationship Between Tissue Concentrations of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Antioxidative Responses of Marine Mussels, *Perna viridis.* Aquat. Toxicol., 52: 189-203.

CHIESA, M.E., ROSENBERG, C.E., FINK, N.E. and SALIBIAN, A., 2006. Serum Protein Profile and Blood Cell Counts in Adult Toads *Bufo arenarum* (Amphibia: Anura: Bufonidae): Effects of Sublethal Lead Acetate. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 50: 384–391

CHRISTENSEN, G. M., McKIM, J. M., BRUNGS, W. A. and HUNT E. P., 1972. Changes in the Blood of the Brown Bullhead (*Ictalurus nebulosus*) Following Short and Long Term Exposure to Copper (II). Toxicol. Appl. Pharmacol., 23: 417-427.

CHUIKO, G.M., 2000. Comparative Study of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase in Brain and Serum of Several Freshwater Fish: Spesific Activities and *in vitro* Inhibition by DDVP, an Organophosphorus Pesticide. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 127: 233-242.

CNUBBEN, N.H.P., RIETJENS, I.M.C.M., WORTELBOER, H., ZANDEN, J.V., BLADEREN, P.J.V., 2001. The Interplay of Glutathione-Related Processes in Antioxidant Defense. Environmental Toxicology and Pharmacology, 10: 141-152.

COBAN, T., BEDUK, Y. and ISCAN, M., 1996. *In Vıtro* Effects of Cadmium and Nickel on Glutathione, Lipid Peroxidation and Glutathione S-Transferase in Human Kidney. Toxicol. In Vitro 10: 241-245.

COCHRANC, CG., 1991. Cellular Injury by Oxidants . Am. J. Med., 92: 235-305

COGUN, H. Y. and KARGIN, F. 2004. Effects of pH on the Mortality and Accumulation of Copper in Tissues of *Oreochromis niloticus*. Chemosphere, 55: 277–282.

CONNERS, D.E. and RINGWOOD, A.H., 2000. Effects of Glutathione Depletion on Copper Cytotoxicity in Oysters (*Crassostrea virginica*). Aquat. Toxicol. 50: 341–349.

COSSU, C., DOYOTTE, A., JACQUIN, M.C., BABUT, M., EXINGER, A., VASSEUR. P., 1997. Glutathione Reductase, Selenium-Dependent Glutathione Peroxidase, Glutathione Levels, and Lipid Peroxidation in Freshwater Bivalves, *Unio tumidus* as Biomarkers of Aquatic Contamination in Field Studies. Ecotoxicol. Environ. Saf. 38: 122-131.

COUSINS, R. J., 1985. Absorbsion, Transport and Hepatic Metabolism of Copper and Zinc Special Reference to Metallothionein and Ceruloplasmin. Physiol. Rev., 65: 238-309.

CUNHA, I., RAMIREZ-MANGAS, E. and GUILHERMINO, 2007. Effects of Copper and Cadmium on Cholinesterase and Glutathione S-Transferase Activities of Two Marine Gastropods (*Monodonta lineate* and *Nucella lapillus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 145: 648-657.

CYRIAC, P. J., ANTONY, A. and NAMBISAN, P. N. K., 1989. Hemoglobin and Hematocrit Values in Fish *Oreochromis mossambicus* (Peters) After Short Term Exposure Copper and Mercury. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 43: 315–320.

DAUTREMEPUITS, C., BETOULLE, S. and VERNET, G., 2002. Antioxidant Response Modulated by Copper in Healthy or Parasitized Carp (*Cyprinus carpio* L.) by *Ptychobothrium* sp. (Cestoda). Biochimica et Biophysica Acta, 1573: 4-8.

DAUTREMEPUITS, C., PARIS-PALACIOS, S., BETOULLE, S. and VERNET, G., 2004. Modulation in Hepatic and Head Kidney Parameters of Carp (*Cyprinus carpio* L.) Induced by Copper and Chitosan. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 137: 325-333.

DAUTREMEPUITS, C., MARCOGLIESE, D.J., GENDRON, A.D., FOURNIER, M., 2009. Gill and Head Kidney Antioxidant Processes and Innate Immune System Responses of Yellow Perch (*Perca flavescens*) Exposed to Different Contaminants in the St. Lawrence River, Canada. Science of the Total Environment. 407(3): 1055-64.

DE BOECK, G., VLAEMINCK, A., BLUST, R., 1997. Effects of Sublethal Copper Exposure on Copper Accumulation, Food Consumption, Growth, Energy Stores, and Nucleic Acid Content in Common Carp. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 33: 415-422.

DE BOECK, G., VLAEMINCK, A., BALM, P.H.M., DE WACHTER, B., LOCK, R.A.C. and BLUST, R., 2001. Morphological and Metabolic Changes in Common Carp, *Cyprinus carpio*, During Copper Exposure: Direct Effects of Cu^{+2} or Indirect Effects of Plasma Cortisol Elevation. Environ. Toxicol. Chem., 20: 347-381.

DE BOECK, G., MEEUS, W., COEN, W.D. and BLUST, R., 2004. Tissue-Specific Cu Bioaccumulation Patterns and Differences in Sensitivity to Waterborne Cu in three Freshwater Fish: Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), Common Carp (*Cyprinus Carpio*), and Gibel Carp (*Carassius auratus gibelio*). Aquatic Toxicology, 70: 179-188.

DEB, S.C. and SANTRA S.C., 1997. Bioaccumulation of Metals in Fishes: an In Vivo Experimental Study of a Sewage Fed Ecosystem. The Environmentalist, 17: 27-32.

DE LA TORRE, F.R., FERRARI, L., and SALIBIAN, A., 2002. Freswater Pollution Biomarker: Response of Brain Acetylcholinesterase Activity in Two Fish Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 131: 271-280.

DETHLOFF, G.M., SCHLENK, D., HAMM, J.T. and BAILEY, H.C., 1999. Alterations in Physiological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) with Exposure to Copper and Copper/Zinc Mixtures. Ecotoxicology and Environmental Safety, 42: 253-264.

DETHLOFF, G.M., BAILEY, H.C. and MAIER, K.J., 2001. Effects of Dissolved Copper on Select Hematological, Biochemical, and Immunological Parameters of Wild Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Arch. Environ. Contam. Toxicol., 40: 371– 380.

DHANAPAKIAM, P. and RAMASAMY, V.K., 2001. Toxic Effects of Copper and Zinc Mixtures on Some Haematological and Biochemical Parameters in Common Carp, *Cyprinus carpio* (Linn.). J. Environ. Biol., 22(2); 105-111.

DI GIULIO, R.T., HABIG, C. and GALLAGHER, E.P., 1993. Effects of Black Rock Harbor Sediments on Indices of Biotransformation, Oxidative Stress and DNA Integrity in Channel Catfish. Aquat. Toxicol., 26: 1-22.

DIMITROVA, M.S.T., TSINOVA, V. and VELCHEVA, V., 1994. Combined Effect of Zinc and Lead on the Hepatic Superoxide Dismutase-Catalase System in Carp (*Cyprinus carpio*). Comp. Biochem. Physiol., 108C: 43–46.

DOYOTTE, A., COSSU, C., JACQIUN, M.C., BABUT, M. and VASSEUR, P., 1997. Antioxidant Enzymes, Glutathione and Lipid Peroxidation as Relevant Biomarkers of Experimental or Field Exposure in the Gills and Digestive Gland of Freshwater Bivalve *Unio tumidus*. Aquatic Toxicology, 39: 93-110.

DUECK, A.T.H., TENSEN, D., DUIJH, B.J. and PLASMAN, F.J.M., 1987. Nutrient Fertilization, Copper Toxicity and Growth, in Three Grassland Species in the Netherlands. J. Appl. Ecol., 24: 1001-1010.

EATON, D.L. and GALLAGHER, E.P., 1994. Mechanisms of Aflatoxin Carcinogenesis. Annu. Rev. Pharmacol., 34: 135-172.

EL-BAGORI, H.M., 2001. Pathological Studies on Some Environmental Pollution on Some Freshwater Fish in Sharkia Governorate. M. V. Sc. Thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Zagazig University, Zagazig, Egypt.

ELLENHORN, M.J. and BARCELOUX, D.G., 1988. Medical Toxicology – Diagnosis and Treatment of Human Poisoning, Elsevier, New York.

ELLMAN, G.L., COURTNEY, K.D., ANDRES, V. and FEATHERSTONE, R.M., 1961. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. Biochemical Pharmacology, 7: 88-95.

ELIA, A.C., GALARINI, R., TATICCHI, M.I., DORR, A.J.M., MANTILACCI, L., 2003. Antioxidant Responses and Bioaccumulation in *Ictalurus melas* Under Mercury Exposure. Ecotxicol. Environ. Saf., 55: 162-167.

EMERK, K. ve SÖZMEN, E.Y., 2002. İnsan Biyokimyası (T. ONAT editör). Palme Yayıncılık, Ankara, s. 641-673

EPA, 1985. Ambient Water Quality Criteria for Copper. Environmental Protection Agency 440/5-84-031. Office of Water Regulations and Standards, Washington, D.C.

ERICKSON, R.J., BENOIT, D. A., MATTSON, V.R., NELSON, H.P. and LEONARD, E. N. 1996. The Effects of Water Chemistry on the Toxicity of Copper to Fathead Minnows. Environ. Toxicol. Chemist., Vol. 15, 2: 181-193.

FATIMA, M., AHMAD, I., SAYEED, I., ATHAR, M. and RAISUDDIN, S., 2000. Pollutant-Induced Over-Activation of Phagocytes is Concomitantly Associated with Peroxidative Damage in Fish Tissues. Aquatic Toxicology, 49: 243-250.

FELTON, G.W., 1995. Oxidative Stress of Vertebrates and Invertebrates. In: Ahmad, S. (Ed.), Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Biology. Chapman and Hall, New York, pp. 356–434.

FERNANDES, M.N. and MAZON, A.F., 2003. Environmental Pollution and Fish Gill Morphology. In: A.L. Val and B.G. Kapoor, Editors, *Fish Adaptations*, Science Publishers, Enfield pp. 203–231.

FERREIRA, A.M.D., CIRIOLO, M.R., MARCOCCI, L. and ROTILLIO, G., 1993. Copper(I) Transfer into Metallothionein Mediated by Glutathione. Biochem. J., 292: 673–676.

FERREIRA, M., MORADES- FERREIRA, P. and REIS-HENRIQUES, M.A., 2005. Oxidative Stres Biomarkers in Two Resident Species, Mullet (*Mugil cephalus*) and Flounder (*Platichthys flesus*), from a Polluted Site in River Douro Estuary, Portugal. Aquatic Toxicology, 71: 39-48.

FERRUZZA, S., SAMBUY, Y., CIRIOLO, M.R., DE MARTINO, A., SANTARONI, P., ROTILIO, G. and SCARINO, M.L., 2000. Copper Uptake and Intracellular Distribution in the Human Intestinal Caco-2 Cell Line. Biometals, 13: 179–185.

FESSARD, V. and LIVINGSTONE, D.R., 1998. Development of Western Analysis of Oxidised Proteins as a Biomarker of Oxidative Damage in Liver of Fish. Mar. Environ. Res., 46: 407–410.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A., FONTAINHAS-FERNANDES, A., PEIXOTO, F., ROCHA, E. and REIS-HENRIQUES, M.A., 2006. Effects of Gender and Temperature on Oxidative Stres Enzymes in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*, Exposed to Paraquat. Pesticide Biochemistry and Physiology.

FILHO, D.W., 1996. Fish Antioxidant Defences, a Comparative Approach. Braz. J. Med. Biol. Res. 29: 1735-1742.

FLIK, G. and VERBOST, P. M., 1993. Calcium Transport in Fish Gills and Intestine. J. Exp. Biol., 184: 17-29.

FONTAINHAS-FERNANDES, A.A., 1998. Tilapia production, in M.A. Reis – Henriques (Ed), Aquaculture Handbook, pp. 135-150.

FREEDMAN, J.H., CIRIOLO, M.R. and PEISACH, J., 1989. The Role of Glutathione in Copper Metabolism and Toxicity. The Journal of Bıologıcal Chemistry. Vol. 264, No. 10: 5598-5605.

FURUNO, K., SUETSUGU, T. and SUGIHARA, N., 1996. Effects of Metal Ions on Lipid Peroxidation in Cultured Rat Hepatocytes Loaded with α-Linoleic Acid. J. Toxicol. Environ. Health, 48: 121-129.

GAMBLE, S.C., GOLDFARB, P.S., PORTE, C. and LIVINGSTONE, D.R., 1995. Glutathione Peroxidase and Other Antioxidant Enzyme Function in Marine Invertebrates (*Mytilus edulis, Pecten maximus, Carcinus maenas* and *Asterias rubens*). Mar. Environ. Res. 39: 191-195.

GATE, L., PAUL, J., NGUYEN, G., TEW, K.D. and TAPIERO, H., 1999. Oxidative Stress Induced in Pathologies: The Role of Antioxidants. Biomed Pharmacother., 53: 169-190.

GERET, F., SERAFILM, A., BARREIRA, L. and BEBIANNO, M.J., 2002. Response of Antioxidant Systems to Copper in the Gills of the Clam *Ruditapes decussatus*. Marine Environmental Research, 54: 413-417.

GIBSON, J.D., PUMFORD, N.R., SAMOKYSZYN, V.M. and HINSON, J.A., 1996. Mechanism of Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: Covalent Binding Versus Oxidative Stress. Chem. Res. Toxicol., 9: 580–585.

GIGUERE, A., CAMPBELL, P.G.C., HARE, L. and COSSU-LEGUILLE, C., 2005. Metal Bioaccumulation and Oxidative Stress in Yellow Perch (*Perca flavescens*) Collected from Eight Lakes Along a Metal Contamination Gradient (Cd, Cu, Zn, Ni). Can. J. Fish. Aquat. Sci., 62: 563–77.

GILES, M. A., 1984. Electrolyte and Water Balance in Plasma and Urine of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) During Chronic Exposure to Cadmium. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 41: 1678–1685.

GILL, T.S., TEWARI, H. and PANDE, J., 1990. Use of the Fish Enzyme System in Monitoring Water Water Quality: Effects of Mercury on Tissue Enzymes. Comp. Biochem. Physiol., C, 97: 287-292.

GOPAL, R., NARMADA, S., VIJAYAKUMAR, R. and JALEEL, C.A., 2009. Chelating Efficiacy of $CaNa_2$ EDTA on Nickel-Induced Toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.) Through Its Effects on Glutathione Peroxidase, Reduced Glutathione and Lipid Peroxidation. C. R. Biologies, 332: 685-696.

GOWLAND, B., MCLNTOSH, A., DAVIES, I., MOFFAT, C. and WEBSTER, L., 2002. Implications from a Field Study Regarding the Relationhip Between Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Glutathione S-Transferase Activity in Mussels. Mar. Environ. Res., 54: 231-235.

GROSELL, M., BOETIUS, I., HANSEN, H.J.M. and ROSENKILDE, P., 1996. Influence of Preexposure to Sublethal Levels of Copper on Cu Uptake and Distribution Among Tissues of the European Eel (*Anguilla anguilla*). Comp. Biochem. Physiol., 114C: 229–235.

GROSELL, M., HOGSTRAND, C. and WOOD, C.M., 1997. Cu Uptake and Turnover in Both Cu Acclimated and Non-Acclimated Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquat. Toxicol., 38: 257–276.

GROSELL, M., HOGSTRAND, C. and WOOD, C.M., 1998. Renal Cu and Na Excretion and Hepatic Cu Metabolism in Both Cu-Acclimated and Non-Acclimated Rainbow Trout (*Oncorhyncus mykiss*). Aquat. Toxicol. 40: 275–291.

GROSELL, M., WOOD, C.M. and WALSH, P.J., 2003. Copper Homeostasis and Toxicity in the Elasmobranch *Raja erinacea* and the Teleost *Myoxocephalus octodecemspinosus* During Exposure to Elevated Water-Borne Copper. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 135: 179-190.

HABIG, W.H., PABST, M.J. and JAKOBY, W.B., 1974. Glutathione S- transferases The First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation. The Journal of Biological Chemistry, 249: 7130-7139.

HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE, J.M.C., 1984. Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals Transition Metals and Disease. Biochem. J., 219:1-14.

HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE, J.M.C., 1998. Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd edn., Clarendon Press, Oxford.

HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE, J.M., 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford Universty Press, London, pp. 36-245.

HAMED, R. R., FARID, N. M., ELOWA, S. H. E. and ABDALLA, A. M., 2003. Glutathione Related Enzyme Levels of Freshwater Fish as Bioindicators of Pollution. The Environmentalist, 23: 313–322.

HAMZA-CHAFFAI, A., ROMEO, M., GNASSIA-BARELLI, M., and EL ABED, A., 1998. Effect of Copper and Lindane on Some Biomarkers Measured in the Clam *Ruditapes decussatus*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 61: 397-404.

HANDY, R.D., SIMS, D.W., GILES, A., CAMPBELL, H.A. and MUSONDA, M.M., 1999. Metabolic Trade-off Between Locomotion and Detoxification for Maintenance of Blood Chemistry and Growth Parameters by Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) During Chronic Dietary Exposure To Copper. Aquatic Toxicology, 47: 23-41.

HANSEN, J.A., WELSH, P.G., LİPTON, J., CACELA, D. and DAILEY, A.D.,2002. Relative Sensivity of Bull Trout (*Salvelinus confluentus*) and Rainbow Trout (*Onchronychus mykiss*) to Acute Exposures of Cadmium and Zinc. Environ. Toxicol. Chem., 21: 67-75.

HARDERSEN, S. and WRATTEN, S.D., 1998. The Effects of Carbaryl Exposure of the Penultimate Larval Instars of Larval *Xathocnemis zealandica* on Emergence and Fluctuating Asymmetry, Ecotoxicology, 7: 297-304.

HASSPIELER, B. M., BEHAR, J. V. and DI GIULIO, R. T., 1994. Glutathione-Dependent Defence in Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) and Brown Bulhead (*Ameriurus nebulosus*). Ecotoxicol. Environ. Saf., 28 (1): 82-90.

HAYES, J.D. and PULFORD, D.J., 1995. The Glutathione-*S*-Transferase Supergene Family: Regulation of GST and the Contribution of the Isoenzymes to Cancer Chemoprotection and Drug Resistance. CRC Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol., 30: 445–600.

HEATH, A.G., 1987. Water Pollution and Fish Physiology CRC Pres. 24 pp., Florida, USA.

———., 1995. Water Pollution and Fish Physiology. Levis, CRC Press. Boca Raton, FL.

HIDALGO, J., ASCHNER, M., ZATTA, P. and VASAK, M., 2001. Roles of the Metallothionein Family of Proteins in the Central Nervous System. Brain Res. Bull. 55: 133-145.

HILMY, A. M., ELDOMAIATY, N., DAABEES, A. Y. and ALSAHRA, A., 1987. The Toxicity to *Claria lazera* of Copper and Zinc Apllied Jointly. Comp. Biochem. Physiol., 83C: 309-314.

HINTON, D. E. and LAUREN, D. J., 1990. Liver Structural Alterations Accompanying Chronic Toxicity in Fishes: Potential Biomarkers of Exposure. In: McCARTHY, J. F., SHUGART, L. R. (Eds.) Biomarkers of Environmental Contamination. Lewis, Boca Raton. 17-57.

HOGSTRAND, C., REID, S. D. and WOOD, C. M., 1995. Ca^{2+} versus Zn^{2+} Transport in the Gills of Freshwater Rainbow Trout and the Cost of Adaptation to Waterborne Zn^{+2} .J. Exp. Biol., 198: 337-348.

HOLWERDA, D.A., HEMEIRAAD, J., VEENHOF, P.R. and ZANDEE, D.I., 1988. Cadmium Accumulation and Depuration in *Anodonta anatina* Exposed to Cadmium Chloride or Cadmium-EDTA Complex. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 40: 373-380.

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 Stres. Aquatic Toxicol., 83: 62–72.

HUANG, C.H., CHANG, R.J., HUANG, S.L. and CHEN, W.L., 2003. Dietary Vitamin E Supplementation Affects Tissue Lipid Peroxidation of Hybrid Tilapia, *Oreochromis niloticus-O. aureus*. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol., 134: 265–270.

HUGHES, G.M., 1976. Polluted Fish Respiratory Physiology. In Effects of Pollutants on Aquatic Organisms. Lockwood, A.P.M. (Ed). Cambridge University Press, 163-83.

HUNN, J. B., 1985. Role of Calcium in Gill Function in Freshwater Fishes. Comp. Biochem. Physiol., 82A: 543-547.

INCE, A. T. and KUNC, S., 1988. Mercury in Whole Blood of Persons Living in a Polluted Region of Turkey. J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis., 2: 97-100.

ISCAN, M., COBAN, T., EKE, B.C. and ISCAN, M.Y., 1995. Differential Responses of Hepatic Monooxygenases and Glutathione S-Transferases of Mice to a Combination of Cadmium and Nickel. Comp. Biochem. Physiol., 111C: 61-68.

JAMES, R., SAMPATH, K. and SELVAMANİ, P. 1998. The Effect of EDTA on Reduction of Copper Toxicity in *Oreochromis niloticus* (Peters). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 60: 487-493.

JEE, J.H. and KANG, J.C., 2005. Biochemical Changes of Enzymatic Defense System after Phenanthrene Exposure in Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*. Physiol. Res., 54: 585-591.

JOBLING, M., 1995. Environmental Biology of Fishes. London: Chapman and Hall.

JOHNSON, I., 1988. The Effects of Combinations of Heavy Metals, Hypoxia and Salinity on Ion Regulation in *Crangon crangon* (L.) and *Carcinus maenas* (L.). Comp. Biochem. Physiol., 91C: 459-463.

JULIJA, E. and HEIMI, D., 1996. Effect of Glutathione, Glutathione Sulphoonate and S-Hexylglutathione on the Conformational Stability of Class Pi Glutathione S-Transferases. FEBS Lett., 391: 313-316.

KADIISKA, M.B., HANNA, P.M., JORDAN, S.J. and MASON, R.P., 1993. Electron Spin Resonance Evidence for Free Radical Generation in Copper-Treated Vitamin E and Selenium-Deficient Rats: In Vivo Spin-Trapping Investigation. Mol. Pharmacol., 44: 222–227.

KAMUNDE, C.N., GROSELL, M., LOTT, J.N.A. and WOOD, C.M., 2001. Copper Metabolism and Gut Morphology in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) During Chronic Sublethal Dietary Copper Exposure. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 58: 293–305.

KAMUNDE, C. and MACPHAIL, R., 2011. Metal–Metal Interactions of Dietary Cadmium, Copper and Zinc in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss.* Ecotoxicology and Environmental Safety, 74: 658–667.

KARAKOÇ, M., and KARGIN, F., 1999. *Tilapia nilotica*'da Metal ve Metal Karışımının Dalak, Beyin ve Kas Dokularında Birikimi. Tr. J. Zoology, 2: 719-724.

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, E. ve ERDEM, C., 1988. Farklı Ortam Konsantrasyonlarında T*ilapia nilotica* (L.)'nın Doku ve Organlarında Cu Birikimi. IX. Ulusal Biyoloji Kongresi, Sivas.

KARGIN, F. ve ERDEM, C., 1991. *Cyprinus carpio*'da Bakırın Karaciğer, Dalak, Mide, Barsak, Solungaç ve Kas Dokularındaki Birikimi. Doğa-Tr. J. of Zoology, 15: 306-314.

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.

KELLY, S.A., HAVRILLA, C.M., BRADY, T.C., ABRAMO, K.H. and LEVIN, E.D., 1998. Oxidative Stres in Toxicolojy: Established Mammalian and Emerging Piscine Model Systems. Environmental Health Perspectives, 106:1-24.

KETTERER, B., COLES, B. and MEYER, D.J., 1983. The Role of Glutathione in Detoxication. Environ Health Persp. 49: 59-69.

KHANGAROT, B.S., RATHORE, R.S., TRIPATHI, D.M., 1999. Effects of Chromium on Humoral and Cell-Mediated Immune Responses and Host Resistance to Disease in a Freshwater Catfish *Saccobranchus fossilis* (Bloch). Ecotoxicol. Environ. Safety 43: 11–20.

KIM, S.G. and KANG, J.C., 2004. Effects of Dietary Copper Exposure on Accumulation, Growth and Hematological Parameters of the Juvenile Rockfish, *Sebastes schlegeli*. Marine Environmental Research, 58: 65-82.

KNEPPER, T.P., 2003. Synthetic Chelating Agents and Compounds Exhibiting Complexing Properties in the Aquatic Environment. Trends in Analytical Chemistry, Vol. 22, No. 10: 708-724.

KOCK, G., TRIENDL, M. and HOFER, R., 1996. Seasonal Patterns of Metal Accumulation in Arctic Char (*Salvelinus alpinus*) from an Oligothrophic Alpine Lake Related Top Temperature. Can. J. Fish Aquatic Sci., 53: 780–786.

KOSOWER, E.M. and KOSOWER, N.S., 1976. in: Glutathione Metabolism and Function, Raven Press, New York, pp. 139.

LARSSON, A., HAUX, C. and SJOBECK, M., 1985. Fish Physiology and Metal Pollution: Results and Experiences from Laboratory and Field Studies. Ecotoxicol. Environ. Saf., 9: 250-281.

LAUREN, D. J. and McDONALD, D. G., 1985. Effects of Copper on Branchial Ionoregulation in the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson Modulation by Hardness and pH. J. Comp. Physiol., B. 155: 635-644.

LAVADO, R., URENA, R., MARTIN-SKILTON, R., TORREBLANCA, A., DEL RAMO, J., RALDUA, D. and PORTE, C., 2006. The Combined Use of Chemical and Biochemical Markers to Assess Water Quality Along the Ebro River. Environmental Pollution, 139: 330–339.

LEVESQUE, H. M., MOON, T. W., CAMPBELL, G. C. and HONTELA, A., 2002. Seasonal Variation in Carbohydrate and Lipid Metabolism of Yellow Perch (*Perca flavescens*) Chronically Exposed to Metals in the Field. Aquat. Toxicol., 60: 257-267.

LI, X.Y., LIU, Y.D., SONG, L.R. and LIU, H.T., 2003. Responses of Antioxidant Systems in the Hepatocytes of Common Carp (*Cyprinus carpio L.*) to the Toxicity of Microcystin-LR. Toxicon, 42: 85–89.

LI, Z.H., ZLABEK, V., VELISEK, J., GRABIC, R., MACHOVA, J. and RANDAK, T., 2009. Modulation of Antioxidant Defence System in Brain of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) After Chronic Carbamazepine Treatment. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 151: 137-141.

LIANG, Y., CHEUNG, R.Y.H., and WONG, M.H., 1998. Reclamation of Wastewater for Polyculture of Freshwater Fish: Bioaccumulation of Trace Metals in Fish. Water Resource, 33 (11): 2690-2700.

LIONETTO, M. G., CARICATO, R., GIORDANO, M. E., PASCARIELLO, M. F., MARINOSCI, L. and SCHETTINO, T., 2003. Integrated Use of Biomarkers (Acetylcholinesterase and Antioxidant Enzymes Activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian Coastal Marine Area. Marine Poll. Bull., 46: 324–330.

LIU, H., ZHANG., J.F., SHEN, H., WANG, X.R. and WANG, W.M., 2005. Impact of Copper and Its EDTA Complex on the Glutathione-Dependent Antioxidant System in Freshwater Fish (*Carassius auratus*). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 74: 1111-1117.

LIU, H., WANG, W., ZHANG, J. and WANG, X. R. 2006. Effects of Copper and its Ethylenediaminetetraacetate Complex on the Antioxidant Defenses of the Goldfish, *Carassius auratus*. Ecotox. Environ. Saf. 65: 350-354.

LIVINGSTONE, D.R., 1998. The Fate of Organic Xenobiotics in Aquatic Ecosystems: Quantitative and Qualitative Differences in Biotransformation by Invertebrates and Fish. Comp. Biochem. Physiol. A, 120: 43–9.

LIVINGSTONE, D.R., 2001. Contaminant-Stimulated Reactive Oxygen Species Production and Oxidative Damage in Aquatic Organism. Marine Pollution Bulletin, 42: 656-666.

LIVINGSTONE, D.R., ARCHIBALD, S. and CHIPMAN, K.L., 1992. Antioxidant Enzymes in Liver of Dab Limanda from the North Sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 91: 97–104.

LOPES, P.A., PINHEIRO, T., SANTOS, M.C., MATHIAS, M.L., COLLARES-PEREIRA, M.J., and VIEGAS-CRESPO, A.M., 2001. Response of Antioxidant Enzymes in Freshwater Fish Populations (*Leuciscus alburnoides* complex) to Inorganic Pollutants Exposure. The Science of the Total Environment, 280: 153-163.

LOPEZ-LOPEZ, E., SEDENO-DIAZ, J.E. and PEROZZI, F., 2006. Lipid Peroxidation and Acetylcholinesterase Activity as Biomarkers in the Black *Sailfin goodeid, Girardinichthys viviparous* (Bustamante) Exposed to Water from Lake Xochimilco (Mexico). Aquatic Ecosystem Health & Management, 9: 379–385.

LOPEZ-TORRES, M., PEREZ-CAMPO, R., CADENAS, S., ROJAS, C., BARJA, G.A., 1993. Comparative Study of Free Radicals in Vertebrates. Non-enzymatic Antioxidants and Oxidative stress. Comp. Biochem. Physiol., 105B: 757–63.

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.

MACMILLAN, J.R., 1985. Infectious Diseases. In: TUCKER, C.S. (Ed.) Channel Catfish Culture. Elsevier, Amsterdam, pp. 405-496.

MACRAE, R.K., SMITH, D.E., SWOBODA-COLBERG, N., MEYER, J.S., BERGMAN, H.L., 1999. Copper Binding Affinity of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) Gills: Implications for Assessing Bioavailable Metal. Environ. Toxicol. Chem., 18: 1180–1189.

MANCE, G., 1987. Pollution Threat of Heavy Metals in Aquatic Environments, Elsevier, London, 363 pp.

MANDUZIO, H., MONSINJON, T., GALAP, LEBOULENGER, F. and ROCHER, B., 2004. Seasonal Variations in Antioxidant Defences in Blue Mussels *Mytilus edulis* Collected From a Polluted Area: Major Contributions in Gills of an Inducible Isoform of Cu/Zn-Superoxide Dismutase and of Glutathione S-Transferase. Aquatic Toxicology, 70: 83-93.

MARKICH, S.J and JEFFREE, R.A.,1994. Absorption of Divalent Trace Metals as Analogues of Calcium by Australian Freshwater Bivalves: an Explanation of How Water Hardness Reduces Metal Toxicity. Aquatic Toxicology, 29: 257-290.

MARIA, VL., CORREIA, AC. and SANTOS, M.A., 2003. Genotoxic and Hepatic Biotransformation Responses Induced by the Overflow of Pulp and Secondary-Treated Effluents on *Aguilla anguilla* L. Ecotoxicol. Environ. Saf., 55: 126–37.

MARR, J.C.A., BERGMAN, H.L., LIPTON, J. and HOGSTRAND, C., 1995. Differences in Relative Sensitivity of Native and Metals-Acclimated Brown and Rainbow Trout Exposed to Metals Representative of the Clark Fork River, Montana. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 52: 2016-2030.

MARTINEZ C.E., 2000. Solubility of Lead, Zinc and Copper Added to Mineral Soils Environ. Pollut., 107: 153–158.

MARTINEZ-ALVAREZ, R.M., MORALES, A.E. and SANZ, A., 2005. Antioxidant Defenses in Fish: Biotic and Abiotic Factors. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 15: 75–88.

MASSOULIE, J.N., PEZZEMENTI, L., BON., S., KREJCI, E. and VALETTE, F.M., 1993. Molecular and Cellular Biology of Cholinesterases, Prog. Neurobiol. 41: 31-91.

MASTERS, G. M., 1991. Introduction to Environmental Engineering and Science, Department. Prentice-Hall International, Inc No:07632. New Jersey.

MATES, J.M, 2000. Effects of Antioxidant Enzymes in the Molecular Control of Reactive Oxygen Species Toxicology. Toxicology, 153: 83-104.

MATSUO, A.Y.O., PLAYLEC, R.C., VALA, A.L. and WOOD, C.M., 2004. Physiological Action of Dissolved Organic Matter in Rainbow Trout in the Presence and Absence of Copper: Sodium Uptake Kinetics and Unidirectional Flux Rates in Hard and Softwater. Aquatic Toxicology, 70: 63–81.

MAZON, A. F. and FERNANDES, M. N., 1999. Toxicity and Tissue Accumulation of Copper in the Tropical Freshwater Fish, *Prochilodus scrofa* (Prochilodontidae). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 63: 797-804.

MAZON, A.F., CERQUERIA, C.C.C., FERNANDES, M.N., 2002. Gill Cellular Changes Induced by Copper Exposure in the South American Tropical Freshwater Fish *Prochilodus Scrofa*. Environ. Res., 88A: 52– 63.

MAZON, A.F., NOLAN, D.T., LOCK, R.A.C., FERNANDES, M.N. and WENDELAAR BONGA, S.E., 2004. A Short-Term In Vitro Gill Culture System to Study the Effects of Toxic (Copper) and Non-toxic (Cortisol) Stressors on the Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Toxicol. In Vitro 18: 691– 701.

McGEER, J. C., SZEBEDINSZKY C., McDONALD D. G. and WOOD C. M., 2000. Effect of Chronic Sublethal Exposure to Waterborne Cu, Cd or Zn in Rainbow trout 2: Tissue Spesific Metal Accumulation. Aquatic Toxicology, 50: 245-256.

McLELLAN, L.I., WOLF, C.R., 1999. Glutathione and Glutathione-Dependent Enzymes in Cancer Drug Resistance. Drug Resist. Updates 2: 153-164.

MEINELT, T., PLAYLE, R.C., PIETROCK, M., BURNISON, B.K., WIENKE, A. and STEINBERG, C.E.W., 2001.Interaction of Cadmium Toxicity in Embryos and Larvae of Zebra fish (*Danio rerio*) with Calcium and Humic Substances. Aquat. Toxicol., 54: 205-215.

MERCAN, U., 2004. Toksikolojide Serbest radikallerin Önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 15: 91-96.

MILLER, T. G. and MACKAY, W. C., 1980. The Effects of Hardness, Alkalinity and pH of Test Water on the Toxicity of Copper to Rainbow Trout (*Salmo gairdneri)*. Water Res., 14: 129-133.

MONFERRAN, M.V., PESCE, S.F., CAZENAVE, J. and WUNDERLIN, D.A., 2008. Detoxification and Antioxidant Responses in Diverse Organs of *Jenynsia multidentata* Experimentally Exposed to 1,2- and 1,4-Dichlorobenzene. Environmental Toxicology, 23: 184–192.

MONTEIRO, D.A., RANTIN, F.T., and KALININ, A.L., 2009. The Effects of Selenium on Oxidative Sterss Biomarkers in the Freshwater Characid Fish Matrinxa *Brycon cephalus* (Günther, 1869) Exposed to Organophosphate Insecticide Folisper 600 BR (Methyl Parathion). Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 149: 40-49.

MONTEIRO, S. M., MANCERA, J. M., FERNANDES, A. F. and SOUSA, M., 2005. Copper Induced Alterations of Biochemical Parameters in the Gill and Plasma of *Oreochoromis niloticus*. Comp. Biochem. Physiol., 141C: 375-383.

MOREIRA, S.M. and MOREIRA DOS SANTOS, M., RIBEIRO, R. and GUILHERMINO, L., 2004. The 'Coral Bulker'Fuel Oil Spill on the North Coast of Portugal: Spatial and Temporal Biomarker Responses in *Mytilus galloprovincialis.* Ecotoxicology13: 619-630.

MOREIRA, S.M., GUILHERMINO, L., 2005. The use of *Mytilus galloprovincialis* Acetylcholinesterase and Glutathione S-Transferase Activities as Biomarkers of Environmental Contamination Along the Northwest Portuguese Coast. Environ. Monit. Assess. 105: 309-325.

MOURENTE, G., DIAZ-SALVAGO E, BELL, J.G. and TOCHER, D.R., 2002. Increased Activities of Hepatic Antioxidant Defence Enzymes in Juvenile Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.) Fed Dietary Oxidised Oil: Attenuation by Dietary Vitamine E. Aquaculture, 214: 343-361.

MUNOZ, M. J., CARBAILO, M. and TARAZONA, J. V., 1991. The Effects of Sublethal Levels of Copper and Cyanide Some Biochemical Parameters of Rainbow Trout Along Subacute Exposure. Comp. Biochem. Physiol., 100C: 577–582.

MURAMOTO, S., 1982. Reductions of Cd in a Cd-Contaminated Fish by Long-Term Exposure to EDTA or Fresh-Water. J. Environ. Sci. Health A.,17 (1), 67-74.

MURAMOTO, S., 1983. Elimination of Copper From Cu-Contaminated Fish by Long-Term Exposure to EDTA and Freshwater. J. Environ. Sci. Health A., 19 (3), 455-461.

MURRAY, R.K., MAYES, P.A., GRANNER, D.K., RODWELL, V.W., 1993. Harper'ın Biyokimyası. 22. Baskı, Sistem Yayıncılık Matbaacılık ve Sanayi Ticaret AŞ., İstanbul, 937s.

NADDY, R.B., STUBBLEFIELD, W.A., MAY, J.R., TUCKER, S.A. and HOCKETT, J.R., 2002. The Effect of Calcium and Magnesium Ratios on the Toxicity of Copper to Five Aquatic Species in Freshwater. Environmentel Toxicology and Chemistry, 21: 347-352.

NEMCSOK, J.G. and HUGHES, G.M., 1988. The Effect of Copper Sulphate on Some Biochemical Parameters of Rainbow trout. Environmental Pollution, 49: 77-85.

NRIAGU, J.O.A., 1988. Silent Epidermic of Environmental Metal Poising. Environ. Pollut., 50: 139-161.

NIKI, E., 1987. Antioxidant in Relation to Lipid Peroxidation. Chem. Phy. Lipida, 44 : 227-253.

NORRIS, D.O., CAMP, J.M., MALDONADO, T.A. and WOODLING, J.D., 2000. Some Aspects of Hepatic Function in Feral Brown Trout, *Salma trutta*, Living in Metal Contaminated Water. Comparative Biochemistry and Physiology Part C 127 : 71-78.

NOYAN, A., 2000. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. Meteksan A.Ş., Ankara, 1151s.

NUSSEY, G., VAN VUREN, J. H. J. and DU PREEZ, H. H., 1995. Effect of Copper on the Haematology and Osmoregulation of the Mozambique Tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). Comp. Biochem. Physiol.C, 111, 3: 369–380.

OAKES, K.D. and VAN DER KRAAK, G.J., 2003. Utility of the TBARS Assay in Detecting Oxidative Stress in White Sucker (*Catostomus commersoni*) Populations Exposed to Pulp Mill Effluent. Aquat. Toxicol., 63: 447–463.

OHKAWA, H., OHISINI, N. and TAGI, K., 1979. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. Analytical Chemistry, 95: 351-358.

OLIVEIRA M., SANTOS M.A. and PACHECO M., 2004. Glutathione Protects Heavy Metal-Induced Inhibition of Hepatic Microsomal Ethoxyresorufin O-deethylase Activity in Dicentrarchuslabrax L., Ecotoxicol Environ. Saf., 58: 379–85.

OLIVEIRA RIBEIRO, C.A., NETO, F.F., MELA, M., SILVA, P.H., RANDI, M.A.F, RABITTO, I.S., ALVES COSTA, J.R. and PELLETIER, E., 2006. Hematological Findings in Neotropical Fish *Hoplias malabaricus* Exposed to Subchronic and Dietary Doses of Methylmercury, Inorganic Lead, and Tributyltin Chloride. Environmental Research, 101: 74–80.

OTTO, D.M. and MOON, T.W., 1996. 'Phase I and II Enzymes and Antioxidant Responses, in Different Tissues of Brown Bullheads from Relatively Polluted and Non-Polluted Systems, Arch. Environ. Contam. Toxicol., 31 (1): 141-146.

PAGENKOPF, G. K., 1983. Gill Surface Interaction Model for Trace- Metal Toxicity to Fishes: Role of Complexation, pH, and Water Hardness. Environ. Sci. Technol., 17: 342-347.

PALMER, H.J. and PAULSON, K.F., 1997. Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Signal Transduction and Gene Expression. Nutrition Rev., 55: 353-361.

PANDEY, S., AHMAD, I., PARVEZ, S., BIN-HAFEEZ, B., HAQUE, R. and RAISUDDIN, S., 2001. Effects of Endosulfan on Antioxidants of Fresh Water Fish *Channa punctatus* Bloch. 1. Protection Against Lipid Peroxidation in Liver by Copper Pre-Exposure. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 41: 345-352.

PANDEY, S., PARVEZ, S., SAYEED, I., HAQUE, R., BIN-HAFEEZ, B. and RAISUDDIN, S., 2003. Biomarkers of Oxidative Stress: a Comparative Study of River Yamuna fish *Wallago atto*. The Sience of the Total Environment, 309: 105-115.

PARIS-PALACIOS, S., BIAGIANTI-RISBOURG, S. and VERNET, G., 2000. Biochemical and (ultra) Structural Hepatic Perturbations of *Brachydanio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) Exposed to Two Sublethal Concentrations of Copper Sulfate. Aquatic Toxicology, 50: 109-124.

PARVEZ, S., SAYEED, I., PANDEY, S., AHMAD, A., AHMAD, I., HAFEEZ, B., HAQUE, R. and RAISUDDIN, S., 2003. Regulatory Role of Copper on Non-Enzymatic Antioxidants in Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch.). Biol. Trace Elem. Res., 93: 237-248.

PARVEZ, S. and RAISUDDIN, S., 2006. Effects of Paraquat on the Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch): Non-Enzymatic Antioxidants as Biomarkers of Exposure. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 50: 392-397.

PARVEZ, S., PANDEY, S., ALI, M. and RAISUDDIN, S., 2006. Biomarkers of Oxidative Stress in *Wallago attu* (Bl. and Sch.) During and After a Fish-Kill Episode at Panipat, India. Sci. Tot. Environ., 368: 627–636.

PAYAN, P., MAYER-GOSTAN and PANG, P.K.T., 1981. Site of Calcium Uptake in the Freshwater Trout Gill. J. Exp. Zool., 216: 345-347.

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.

PEMBLE, S.E., WARDLE, A.F. and TAYLOR, J.B., 1996. Glutathione S-Transferase Class Kappa: Characterization by the Cloning of Rat Mitochondrial GST and Identification of a Human Homologue. Biochem. J. 319: 749-754.

PENNEC, J.P. and LE BRAS, Y.M., 1984. Storage and Release of Catecholamines by Nervous Ending in the Isolated Heart of the Eel (*Anguilla anguilla* L.) Comp. Biochem. Physiol., 1: 167-171.

PEREIRA, P., DE PABLO, H., PACHECO, M. and VALE, C.,2010. The Relevance of Temporal and Organ Specific Factors on Metals Accumulation and Biochemical Effects Inferal fish (*Liza aurata*) Under a Moderate Contamination Scenario. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73: 805–816.

PERKINS, E.J., GRIFFIN, B., HOBBS, M., 1997. Sexual Differences in Mortality and Sublethal Stres in Channel Catfish Following a 10 Weeks Exposure to Copper Sulfate. Aquatic. Toxicol., 37: 327-339.

PERRY, S.F., LAURENT, P., 1993. Environmental Effects on Fish Gill Structure and Function. In: Rankin, J.C., Jensen, F.B. (Eds.), Fish Ecophysiology. Chapman and Hall, London, pp. 231– 264.

PERSBACHER, P.W. and WURTS, W.A., 1999. Effects of Calcium and Magnesium Hardness on Acute Copper Toxicity to Juvenile Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 172: 275-280.

PLACER, C.A., CUSHMAN, L.L. and JOHNSON, B.C., 1990. Estimation of Product of Lipid Peroxidation (Malondy Dialdehid) in Biochemical Systems. Anal. Biochem., 16: 259-264.

PLAYLE, R. C., DIXON, D. G. and BURNISON, K., 1993. Copper and Cadmium Binding to Fish Gills: Modification by Dissolved Organic Carbon and Synthetic Ligands. Can J. Fish. Aquat. Sci., 50: 1-11.

RADI, A.A.R. and MATKOVICS, B., 1988. Effects of Metal Ions on the Antioxidant Enzyme Activities, Protein Contents and Lipid Peroxidation of Carp Tissues. Comparative Biochemistry and Physiology C, 90 (1): 69-72.

RANA, S.V.S. and R. SINGH, 1996. "Species" Differences in Glutathione Dependent Enzymes in the Liver and Kidney of Two Fresh Water Fishes and Their Implications for Cadmium Toxicity. Ichlthyol. Res., 43 (3): 223–229.

RAO, J.V., 2006. Toxic Effects of Novel Organophosphorus Insecticide (RPR-V) on Certain Biochemical Parameters of Euryhaline Fish, *Oreochromis mossambicus*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 86: 78-84.

REARDON, I.S. and HARREL, R.M., 1990. Acute Toxicity of Formalin and Copper Sulfate Striped Bass Fingerlings Held in Varying Salinities.Aquaculture 87, 255-270

REED, D.J., 1990. Glutathione: Toxicological Implications. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 30: 603-631

REGOLI, F., 1992. Lysosomal Responses as a Sensitive Stress Index in Biomonitoring Heavy Metal Pollution. Mar. Ecol. Prog. Ser. 84: 63-69.

REGOLI, F. and PRINCIPATO, G., 1995. Glutathione, Glutathione-Dependent and Antioxidant Enzymes in Mussel, *Mytilus galloprovinciallis*, Exposed to Metals Under Field and Laboratory Conditioons: Implications for the Use of Biochemical Biomarkers. Aquatic Toxicology, 31: 143-164.

REGOLI, F., HUMMEL, H., AMIARD-TRIQUET, C., LARROUX, C. and SUKHOTIN, A., 1998. Trace Metals and Variations of Antioxidant Enzymes in Arctic Bivalve Populations. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 35: 594–601.

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.

RICHARDS, J. G. and PLAYLE, R. C., 1999. Protective Effects of Calcium Against the Physiological Effects or Exposure to a Combination of Cadmium and Copper in Rainbow Trout (*Onchorynchus mykiss*). Ca. J. Zool., 77: 1035-1047.

ROCHE, H. and BOGE, G., 1993. Effects of Cu, Zn and Cr Salts on Antioxidant Enzyme Activities in Vitro of Red Blood Cells of a Marine Fish Dicentrarchus Labrax. Toxicology 7: 623–629.

RODRIGUEZ-ARIZA, A., PEINADO, J., PUEYO, C. and LOPEZ-BAREA, J., 1993. Biochemical Indicators of Oxidative Stress in Fish from Polluted Littoral Areas. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 50, 2568–2573.

ROMANENKO, V.D. and YEVTUSHENKO, N.Y. 1985. The Tissue Accumulation of Heavy Metals and Their Influence on the Biosynthesis in the Fish Organism. Symposia Biologica Hungarica, 29; 299-311 pp.

ROMANI, R., ANTOGNELLI, C., BALDRACCHINI, F., DE SANTIS, A., ISANI, G., GIOVANNINI, E. and ROSI, G., 2003. Increased Acetylcholinesterase Activities in Specimens of *Sparus auratus* Exposed to Sublethal Copper Concentrations. Chemico-Biological Interactions, 145: 321-329.

ROMEO, M., SIAU, Y., SIDOMOU, Z. and GNASSIA – BARELLI, M., 1999. Heavy Metal Distrubution in Different Fish Species from the Mauritania Coast. The Science of the Total Environment, 232: 169-175.

ROMEO, M., BENNANI, N., GNASSIA-BARELLI, M., LAFAURIE, M., and GIRARD, J.P., 2000. Cadmium and Copper Display Different Responses Towards Oxidative Stress in the Kidney of the Sea Bass *Dicentrarchus labrax*. Aquatic Toxicology, 48: 185-194.

SAHIN, E. and GUMUSLU, S., 2004. Alterations in Brain Antioxidant Status, Protein Oxidation and Lipid Peroxidation in Response to Different Stress Models. Behav. Brain Res., 155: 241–248.

SALINAS, A.E. and WONG, M.G., 1999. Glutathione S-Transferases-a Review. Curr. Med. Chem, 6: 279-309.

SAMPAIO, F.G., BOINJINK C.L., OBA, E.T., SANTOS, L.R.B., KALININ, A.L. and RANTIN, F.T., 2008. Antioxidant Defenses and Biochemical Changes in Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) in Response to Single and Combined Copper and Hypoxia Exposure. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 147 (1): 43-51.

SANCHEZ, W., PALLUEL, O., MEUNIER, L., COQUERY, M., PORCHER J.M and AISSA, S.A., 2005. Copper-Induced Oxidative Stress in Three-Spined Stickleback: Relationship with Hepatic Metal Levels. Environmental Toxicology and Pharmacology, 19: 177-183.

SANTOS, M.A., PACHECO, M. and AHMAD, I., 2006. Responses of European Eel (*Anguilla anguilla* L.) Circulating Phagocytes to an In Situ Closed Pulp Mill Effluent Exposure and Its Association with Organ-Specific Peroxidative Damage. Chemosphere, 63: 794–801.

SAUER, G.R. and WATABE, N., 1988. The Effects of Heavy Metals and Metabolic Inhibitors on Calcium Uptake by Gills and Sacales of *Fundulus heteroclitus* in vitro. Comp. Biochem. Physiol. 91C, 473-478.

SAWYER, M.D.J., READER, J.P. and MORRIS, R., 1989. The Effects of Calcium Concentration on the Toxicity of Copper, Lead and Zinc to Yolk-Sac Fry of Brown Trout, *Salmo trutta* L., in Soft Acid Water. J. Fish Biol. 35, 323-332.

SCHUBAUER-BERIGAN, M.K., DIERKES, J.R., MONSON, P.D. and ANKLEY, G.T., 1993. pH-Dependent Toxicity of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn to *Ceriodaphnia dubia, Pimephales promales, Hyalella azteca* and *Lumbriculus variegatus.* Environmental Toxicology and Chemistry, 12, 1261-1266.

SCHULZ, J.B., LINDENAU, J., SEYFRIED, J. and DICHGANS, J., 2000. Glutathione, Oxidative Stress and Neurodegeneration. European Journal of Biochemistry, 267: 4904-4911.

SEN, A. and SEMIZ A., 2007. Effects of Metals and Detergents on Biotransformation and Detoxification Enzymes of Leaping Mullet (*Liza saliens*). Ecotoxicology and Environmental Safety, 68: 405-411.

SEN, C.K. and PACKER, L., 1996. Antioxidant and Redox Regulation of Gene Transcription. FASEB J, 10: 709-720.

SEN, C.K., 1997. Nutritional Biochemistry of Cellular Glutathione. Nutritional Biochemistry, 8: 660-662.

SHAH, S.L. and ALTINDAĞ, A., 2004. Hematological Parameters of Tench (*Tinca tinca* L.) After Acute and Chronic Exposure to Lethal and Sublethal Mercury Treatments. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 73: 911-918.

SHARMA, R.K. and AGARWAL, A., 1996. Role of Reactive Oxygen Species in Male Infertility. Urology 98(6): 835–850.

SHEEHAN, D., MEADE, G., FOLEY, V.M. and DOWD, C.A., 2001. Structure, Function and Evolution of Glutathione Transferases: Implications for Classification of Non-Mamallian Members of an Ancient Superfamily. Biochem. J., 360: 1-16.

SHIMIZU, M., HOCHADEL, J.F. and WAALKES, M.P., 1997. Effects of Glutathione Depletion on Cadmium-Induced Metallothionein Synthesis, Cytotoxicity, and Proto-Oncogene Expression in Cultured Rat Myoblasts. J. Toxicol. Environ. Health, 51: 609-621.

SIES, H., 1999. Glutathione and Its Role in Cellular Functations. Free Radic. Biol. Med., 27: 916-921.

SILVER, A., 1974. The Biology of Cholinesterases, North-Holland, Amsterdam, 5-50.

SINCLAIR, AJ., BARNETT A.H. and JUNCE J., 1990. Free Radicals and Antioksidant Systems in Health and Disease. British J. Hosp. Med., 43: 334-344.

SINGH, H.S. and REDDY, T.V., 1990. Effect of Copper Sulfate on Hematology, Blood Chemistry and Hepato-Somatic Index of an Indian Catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), and Its Recovery. Ecotoxicol. Environ. Saf., 20: 30-35.

SLATER, T.F., 1976. The Role of Lipid Peroxidation in Liver Injury. In Keppler D, editor. Pathogenesis and Mechanisms of Liver Cell Necrosis. London: MTP Press.

SOLA, F., ISAIA, J. and MASONI, A., 1995. Effects of Copper on Gill Structure and Transport Function in the Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. J. Appl. Toxicol., 15: 391– 398.

SORENSEN, E.M., 1991. Metal Poising in Fish. CRC Press: Boca Raton, pp. 175-234.

SOZMEN, E.Y. "Yaşlanma Biyokimyası", 2002. In Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y.(Eds) İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara, s.665-674.

SPRY, D.J. and WIENER, J.G., 1991. Metal Bioavailability and Toxicity to Fish in Low-Alkalinity Lakes: a Critical Review. Environmental Pollution, 71: 243–304.

STACEY, N.H. and KLAASSEN, C.D., 1981. Comparasion of the Effects of Metals in Cellular Injury and Lipid Peroxidation in Isolated Rat Hepatocytes. J. Toxicol. Environ. Health, 7: 147-189.

STADTMAN, E.R., 1993. Oxidation of Free Amino Acid Residues in Proteins by Radiolysis and by Metal-Catalyzed Reactions. Annu. Rev. Biochem., 62: 797-821.

STEPHENSEN, E., STURVE, J. and FORLIN, L., 2002. Effects of Redox Cycling Compounds on Glutathion Content and Activity of Glutathione-Related Enzymes in Rainbow Trout Liver. Comp. Biochem. Physiol. C., 133: 435–442.

STRAUS, D. L. and TUCKER, C. S., 1993. Acute Toxicity of Copper Sulfate and Chelated Copper to Channel Catfish *Ictalurus punctatus* . J.World Aquacult. Soc., 24: 390-395.

STOHS, S.J., and BAGCHI, D., 1995. Oxidative Mechanisms in the Toxicity of Metal Ions. Free Radical Biology and Medicine, 18: 321-336.

SURESH, A., SIVARAMKRISHNA, B., VICTORIAMMA, P.C., and RADHAKRISHNAIAH, K. 1992. Comparative Study on Inhibition of Acetylcholinesterase Activity in the Freshwater Fish *Cyprinus carpio* by Mercury and Zinc. Biochem., Int., 26: 367-375.

SZWEDA, L.I., and STADTMAN, E.R., 1992. Iron-Catalyzed Oxidative Modification of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase from Leuconostoc Mesenteroides. J. Biol. Chem. 267: 3096-3100.

TAO, S., LONG, A., PAN, B., XU, F. and DAWSON, R., 2002. Uptake of Copper Complexed to EDTA, Diaminoethane, Oxalic Acid, or Tartaric Acid by Neon Tetras (*Paracheirodon innesi*) Ecotoxicology and Environmental Safety, 53: 317-322.

TAYLOR, L.N., BAKER, D.W.,WOOD, C.M. and MCDONALD, D.G., 2002. An In vitro Approach for Modelling Branchial Copper Binding in Rainbow Trout. Comp. Biochem. Physiol. C, 133: 111 –124.

TAWWAB-ABDEL, M., MOUSA, M., AHMAD, A.A.M. and SAKR, F.M.S., 2007. The Use of Calcium Pre-Exposure as a Protective Agent Against Environmental Copper Toxicity for Juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture, 264: 236-246.

TEW, K.D., 1994. Glutathione-Associated Enzymes in Anticancer Drug Resistance. Cancer Res., 54: 4313-4320.

TOTH, L., JUHASZ, M., VARGA, T., CSIKKEL-SZOLNOKI, A. and NEMCSOK, J., 1996. Some Effects of $CuSO_4$ on Carp. J. Environ. Sci. Health B,31 (3): 627-635.

TRIEBSKORN, R., KOHLER, H.R., FLEMMING, J., BRAUNBECK, T., NEGELE, R.D. and Rahmann, H., 1994. Evaluation of bis(tri-n-butyltin)oxide (TBTO) Neurotoxicity in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). I. Behaviour, Weight Increase and Tin Contents, Aquat. Toxicol. 30: 189–197.

TRIEBSKORN, R., KOHLER, H.R., HONNEN, W., SCHRAMM, M., ADAMS, S.M. and MULLER, E.F., 1997. Induction of Heat Shock Proteins, Changes in Liver Ultrastructure and Alterations of Fish Behaviour: are These Biomarkers Related and are They Useful to Reflect the State of Pollution in the Field. J. Aquat. Ecosyst. Stress Rec. 6: 57-73.

TURNLUND, J.R., 1999. Copper. In: SHILS, M.E., OLSON J.A., SHIKE, M. and ROSS, A.C. (Eds). Modern Nutrition in Health and Disease. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, MD.

TUVIKENE, A., HUUSKONEN, S., KOPONEN, K., RITOLA, O., MAUER., U. and LINDSTORM-SEPPA, P., 1999. 'Oil Shale Processing as a Source of Aquatic Pollution Monitoring of the Biologic Effects in Caged and Feral Freshwater Fish. Environ. Health Perspect., 107 (9): 745-752.

URANI, C., CRIPPA, S. and CAMATINI, M., 1998. Cellular and Molecular Responses of Metal-Induced Toxicity. Toxicol. Lett., 1:195.

VAGLIO, A. and LANDRISCINA, C,. 1999. Changes in Liver Enzyme Activity in the Teleost *Sparus aurata* in Response to Cadmium Intoxication. Ecotoxicol. Enviton. Saf., 43: 111–116.

VAN DER OOST, R., GOKSOYR, A., CELANDER, M., HEIDA, H. and VERMEULEN, N.P.E., 1996. Biomonitoring of Aquatic Pollution with Feral Eel (*Anguilla anguilla*). II Biomarkers: Pollution-Induced Biochemical Responses. Aquatic Toxicology, 36: 189–222.

VAN DER OOST, R., BEYER, J. and VERMEULEN, N.P., 2003. Fish Bioaccumulation and Biomarkers in Environmental Risk Assessment: a Review. Environmental Toxicology and Pharmacology, 13: 57–149.

VARANKA, Z., ROJIK, I., VARANKA, I., NEMCSOK, J. and ABRAHAM, M., 2001. Biochemical and Morphological Changes in Carp (*Cyprinus carpio* L.) Liver Following Exposure to Copper Sulfate and Tannic Acid. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 128: 467-478.

VERA, M.P. and POCSIDIO, G.N., 1998. Potential Protective Effect of Calcium Carbonate as Liming Agent Against Copper Toxicity in the Afrikan Tilapia *Oreochromis mossambicus*. The Science of the Total Environ., 214: 193-202.

VERMA, S.R., RANI, S., BANSAL, S.K. and DALELA, R.C., 1981. Evaluation of the Comparative Toxicity of Thitox, Dichlorvos and Carbafuron to Two Freshwater Teleosts, *Ophiocephalus punctatus* and *Mystus vittatus*. Acta Hydrochem. Hydrobiol: 9: 119-129.

VIARENGO, A., 1985. Biochemical Effects of Trace Metals. Marine Pollution Bull., Vol. 16 (4): 153-158.

VIARENGO, A., 1989. Heavy Metals in Marine Invertebrates. Mechanism of Regulation and Toxicity at the Cellular Level. Aquatic Sciences, 1 (2): 295–317.

VIARENGO, A., BETTELLA, E., FABRI, R., BURLANDO, B. and LAFAURIE, M., 1997. Heavy Metal Inhibition of EROD Activity in Liver Microsomes from the Bass *Dicentrarchus labrax* Exposed to Organic Xenobiotics: Role of GSH in the Reduction of Heavy Metal Effects. Mar. Environ. Res., 44 (1): 1-11.

VOET, D. and VOET, J.G., 1995. Biochemistry, Second ed. New York, Wiley .

VUORINEN, P.J., KEINANEN, M., PEURANEN, S. and TIGERSTEDT, C., 2003. Reproduction, Blood and Plasma Parameters and Gill Histology of Vendace (*Coregonus albula* L.) in Long-Term Exposure to Acidity and Aluminum. Ecotoxicology and Environmental Safety, 54: 255–276.

WANG, T., KNUDSEN, P.K., BRAUNER, C.J., BUSK, M., VIJAYAN, M.M. and JENSEN, F.B., 1998. Copper Exposure Impairs Intra-and Extracellular Acid–Base Regulation During Hypercapnia in the Fresh Water Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Comp. Physiol B, 168: 591– 599.

WEDEMEYER, G.A., 1970. The Role of Stres in the Disease Resistance of Fishes, In: A Symposium on Disease Resistance of Fishes., In: A Symposium on Diseases of Fishes and Shellfishes. Am. Fish. Soc. Spec. 5, 30-5.

WEDEMEYER, G.A., BARTON, B.A. and McLEAY, D.J., 1990. Stress and Acclimation. In: Schrek, C.B., Moyle, P.B. (Eds.), Methods for Fish Biology. American Fisheries Society, Bethesda, MD, pp. 451-489.

WELLBORN, T., 1985. Control and Therapy. In: Principal Diseases of Farm Raised Catfish. South. Coop. Series Bull. 225, 50-67

WENDELAAR BONGA, S.E., 1997. The Stres Response in Fish. Physiol. Rev., 7: 591–625.

WINSTON, G. W. and Di GIULIO, R. T., 1991. Prooxidant and Antioxidant Mechanisms in Aquatic Organisms. Aquat. Toxicol., 19: 137-161.

WOOD, C.M., 1989. The Physiological Problems of Fish in Acid Waters. In: Morris, R., Taylor, E.W., Brown, D.J.A., Brown, J.A. (Eds.), Acid Toxicity and Aquatic Animals. Cambridge University Press, Cambridge, 282: 125–152.

WOFFORD H.W. and THOMAS, P., 1988. Effects of Xenobiotics on Peroxidation of Hepetic Microsomal Lipids from Striped Mullet (*Mugil cephalus*) and Atlantic Croaker (*Micropogonias undulatus*), Mar. Environ. Res., 24: 285-289.

WURTS, W. A. and PERSCHBACHER, P. W., 1994. Effects of Bicarbonate Alkalinity and Calcium on the Acute Toxicity of Copper to Juvenile Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture, 125: 73-79.

YAGI, K., 1994**.** Lipid Peroxidase and Related Radicals in Clinical Medicine. (in) Free Radicals in Diagnostic Medicine. D Armstrong (Editor), pp. 17-27, Plenum Press, New York.

Y.-T. NG, T., KLINICK, S.J. and WOOD, C.M., 2009. Does Dietary Ca Protect Against Toxicity of a Low Dietborne Cd Exposure to the Rainbow Trout. Aquatic Toxicology, 91: 75–86.

YİĞİTOĞLU, R. ve GÖKER, Z., 2000. Biyokimya & Klinik Biyokimya (B. ADAM editör). Proteinler, I. Baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, s. 297-304.

YU, B.P., 1994. Cellular Defenses Against Damage from Reactive Oxygen species. Physiol. Rev., 74: 139-162.

ZELIKOFF, T.J., 1993. Metal Pollution-Induced Immunomodulation in Fish. In: Faisal, M., Hetrick, F.M., (Eds), Annual Review of Fish Diseases. Pergamon Pres, New York, pp. 305-325.

ZHANG, X.C., SHAN, P.Y., SASIDHAR, M., CHUPP, G.L., FLAVELL, R.A.,

CHOI, A.M.K. and LEE, P.J., 2003. Reactive Oxygen Species and Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2 Mitogenactivated Protein Kinase Mediate Hyperoxia-Induced Cell Death in Lung Epithelium. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 28: 305–315.

ZHANG, J.F., SHEN, H., WANG, X.R., WU, J.C. and XUE, Y.Q., 2004. Effects of Chronic Exposure of 2,4-Dichlorophenol on the Antioxidant System in Liver of Freshwater Fish *Carassius auratus*. Chemosphere, 55: 167-174.

ZHANG ,J.F., LIUB, H., SUN, Y.Y., WANG, X.R., WU, J.C. and XUE, Y.Q., 2005. Responses of the Antioxidant Defenses of the Goldfish *Carassius auratus*, Exposed to 2,4-Dichlorophenol. Environmental Toxicology and Pharmacology 19: 185–190.

ZHANG, X., YANG, F., ZHANG, X., XU, Y., LIAO, T., SONG, S. and WANG, H., 2008. Induction of Hepatic Enzymes and Oxidative Stress in Chinese Rare Minnow (*Gobiocypris rarus*) Exposed to Waterborne Hexabromocyclododecane (HBCDD). Aquat. Toxicol., 86: 4–11.

ZINKL, J.G., LOCKHART, W.L., KENNY, S.A. and WARD. F.J., 1991. The Effects of Cholinesterase Inhibiting Insecticides on Fish. In: Mineau, P. (Ed.). Cholinesterase Inhibiting Insecticides Elsevier. Amsterdam, pp. 233-254.

ZIRONG, X. and SHIJUN, B., 2007. Effects of Waterborne Cd Exposure on Glutathione metabolism in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Liver. Ecotoxicol. Environ. Saf., 67: 89–94.

ZWART, L.L.D., MEERMAN, J.H.N., COMMANDEUR, J.N.M. and VERMEULEN, N.P.E, 1999. Biomarkers of Free Radical Damage Applications in Experimental Animals and in Humans. Free Radical Biology and Medicine, 27: 202-226.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Adana'nın Ceyhan ilçesinde doğmuştur. Lise öğrenimini Adana Danişment Gazi Süper Lisesinde tamamladıktan sonra 1998 yılında kazanmış olduğu Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2002 yılında mezun olmuştur. 2002-2003 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Anabilim Dalında tezsiz yüksek lisans yapmıştır. 2004 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Giresun Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne Araştırma Görevlisi olarak atanmıştır ve aynı yıl lisansüstü eğitimini yapmak üzere Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne görevlendirilmiştir. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında 2004-2006 yılları arasında yüksek lisansını tamamladıktan sonra 2006 yılında doktora eğitimine başlamıştır. Halen Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.