ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Berna KULAÇ

TUZLULUK ve METAL (Cd, Cu) ETKİSİNDE KALAN TATLI SU BALIĞI *Oreochromis niloticus*'un DOKULARINDA Na,K-ATPaz AKTİVİTESİ ve İYON DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2010

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TUZLULUK ve METAL (Cd, Cu) ETKİSİNDE KALAN TATLI SU BALIĞI *Oreochromis niloticus*'un DOKULARINDA Na,K-ATPaz AKTİVİTESİ ve İYON DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Berna KULAÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez ..../...../2010 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından

Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir

İmza:.....	İmza:.....	İmza:.....
Prof. Dr. Mustafa CANLI	Yrd. Doç. Dr. Mehmet SULANÇ	Yrd. Doç. Dr. Gülüzar ATLI
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje no: FEF2008YL15

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUZLULUK ve METAL (Cd, Cu) ETKİSİNDE KALAN TATLI SU BALIĞI *Oreochromis niloticus*'un DOKULARINDA Na,K-ATPaz AKTİVİTESİ ve İYON DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Berna KULAÇ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Mustafa CANLI
Yıl: 2010, Sayfa: 84
Jüri: Prof. Dr. Mustafa CANLI
Yrd. Doç. Dr. Mehmet SULANÇ
Yrd. Doç. Dr. Gülüzar ATLI

Tatlı su balığı *Oreochromis niloticus* sadece farklı tuzluluk (0, 2, 4, 8 ppt) derişimlerine ve ayrıca 1 µg/mL kadmiyum ve bakır ile birlikte farklı sürelerde (1, 3, 7, 14 gün) bırakılmıştır. Bu çalışmada *O. niloticus'*un solungaç ve bağırsak Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin ve iyon düzeylerinin (Na^+, K^+, Mg^{+2}, Cl^-) ölçülerek, sucul ortamlarda metal toksisitesine tuzluluğun etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre enzim aktivitesinin farklı tuzluluk, metal, etki süresi ve doku tipine göre değiştiği gözlenmiştir. Metal ve tuzluluk etkisinde bulunan balıklarda ortam koşulları ve etki süresine bağlı olarak solungaç ve bağırsak Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinde değişimler bulunmuştur. Sadece tuzluluk etkisinde eğilim artış yönünde, tuzluluk+metal etkisinde azalma yönünde olmuştur. Metal birikimi sadece tuzluluk grubunda değişmezken, metal+tuz grubunun etkisinde eğilim artış yönünde olsa da, azalmalar da görülmüştür. İyon düzeylerinde de etki süresine bağlı olarak değişimler gözlenmiştir ve genel eğilim azalma yönünde olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Na^+/K^+-ATPaz, *Oreochromis niloticus*, Balık, Tuzluluk, Metal

ABSTRACT

MSc THESIS

DETERMINATION of Na,K-ATPase ACTIVITY and ION LEVELS in the TISSUES of FRESHWATER FISH *Oreochromis niloticus* FOLLOWING EXPOSURE TO SALINITY and METALS (Cd, Cu)

Berna KULAÇ

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

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa CANLI
Year : 2010, Page: 84
Jury : Prof. Dr. Mustafa CANLI
Asst. Prof. Dr. Mehmet SULANÇ
Asst. Prof. Dr. Gülüzar ATLI

Freshwater fish *Oreochromis niloticus* were exposed individually to different salinity (0, 2, 4, 8 ppt) concentrations alone and together with 1 µg/mL of cadmium and copper for different periods (1, 3, 7, 14 days). The aim of this study was to investigate the effects of salinity on metal toxicity by measuring the activity of Na^+/K^+-ATPase and ion (Na^+, K^+, Mg^{+2}, Cl^-) levels in the gill and intestine of *O. niloticus*.

Results showed that enzyme activity varied depending upon salinity, tissue, metal and exposure duration. Na^+/K^+-ATPase activity changed in fish exposed to both metal and salinity in relation to exposure conditions and duration. In salinity alone group, the declining trend in enzyme activity was observed, whereas there was increasing trend in the metal+salt mixture group. There was no significant metal accumulation in salinity alone group, though there were some increases in the metal+salt mixture group, despite few decreases. There were also alterations in ion levels regarding exposure conditions, general trend being as decreases.

Key Words: Na^+/K^+-ATPase, *Oreochromis niloticus*, Fish, Salinity, Metal

TEŞEKKÜR

Bana yüksek lisans yapma fırsatı veren hocam Prof. Dr. Mustafa CANLI'ya, bu çalışma süresince yardımını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Gülüzar ATLI'ya, laboratuar arkadaşlarıma ve bölüm elemanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans eğitimim süresince desteğini esirgemeyen nişanlım Kemal ÇALICI'ya ve tüm yaşamımda olduğu gibi, bu çalışma süresincede yanımda olan ve beni destekleyen annem Hatice KULAÇ ve babam Memet Ali KULAÇ'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ…….. I
ABSTRACT……... II
TEŞEKKÜR……... III
İÇİNDEKİLER……...IV
ÇİZELGELER DİZİNİ……...IX
ŞEKİLLER DİZİNİ…… XI
1.GİRİŞ……...1
1.1. Bakır……... 3
1.2. Kadmiyum…… 4
1.3. Plazma Membran Yapısı……... 6
1.4. Aktif Transport……... 7
1.5. Na^+/K^+-ATPaz……... 7
1.5.1. Na^+/K^+-ATPaz Enzim Aktivatörleri……..10
1.5.2. Na^+/K^+-ATPaz İnhibitörleri……...10
1.6. Tuzluluk……11
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR……...14
3.MATERYAL ve METOD……...17
3.1. Materyal……17
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler……..17
3.1.1.1. Metaller, Asitler ve Tuz……17
3.1.1.2. ATPaz Aktivite Ölçümünde Kullanılan Kimyasallar……17
3.1.1.3. Protein Analizinde Kullanılan Kimyasallar…….. 18
3.1.2. Kullanılan Aletler……18
3.2.Yöntem……... 18
3.2.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanışı……. 19
3.2.2. Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesinin Ölçümü…….. 20
3.2.3. İnorganik Fosfat Tayini…… 21
3.2.4. Toplam Protein Analizi…… 22
3.2.5. ATPaz Aktivitesinin Hesaplanması……..26

3.2.6. Metal İyon Analizi……26
3.2.7. Metal Derişiminin Hesaplanması…… 27
3.2.8. İyon Derişiminin Hesaplanması……... 29
3.2.9.İstatistik…… 30
4.BULGULAR ve TARTIŞMA…… 31
4.1. Bulgular…… 31
4.1.1. Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……... 31
4.1.1.1. Kontrol Grubu Balıklar……..31
4.1.1.1.(a). Normal Kontrol Grubu……31
4.1.1.1.(b). 2ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……. 31
4.1.1.1.(c). 4ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……. 32
4.1.1.1.(d). 8ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi…… 32
4.1.1.2. Kadmiyum Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……. 33
4.1.1.2.(a).2ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi…… 33
4.1.1.2.(b).4ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……. 33
4.1.1.1.(c).8ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……... 34
4.1.1.3. Bakır Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi…….....34
4.1.1.3.(a).2ppt Bakır Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……34
4.1.1.3.(b).4ppt Bakır Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……..... 34
4.1.1.3.(c).8ppt Bakır Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……35
4.1.2. Toplam Metal Düzeyi…….39
4.1.2.1. Bakır Düzeylerinin Belirlenmesi…….. 39
4.1.2.1.(1). Kontrol Gruplarında Bakır Düzeylerinin…….. Belirlenmesi……..39
4.1.2.1.(2).Bakır ve Tuz Etkisinde Bulunan Gruplarda Cu……. Düzeylerinin Belirlenmesi……39
4.1.2.2. Kadmiyum Düzeylerinin Belirlenmesi……..40
4.1.2.2.(1).Kontrol Gruplarında Kadmiyum Düzeylerinin

Belirlenmesi…….. 40
4.1.2.2.(2).Kadmiyum ve Tuz Etkisinde Bulunan Gruplarda Cd Düzeylerinin Belirlenmesi…… 40
4.1.3.Toplam İyon Düzeyi……..43
4.1.3.1.Sodyum İyon Düzeyi…….43
4.1.3.1.(1).Kontrol Grupları……... 43
4.1.3.1.(1).(a).Normal Kontrol Grubu……. 43
4.1.3.1.(1).(b).2ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+ Düzeyi……... 44
4.1.3.1.(1).(c).4ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+ Düzeyi……44
4.1.3.1.(1).(d).8ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+ Düzeyi……... 44
4.1.3.1.(2).Kadmiyum Etkisinde Na^+ Düzeyi…….44
4.1.3.1.(2).(a).2ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+Düzeyi……... 45
4.1.3.1.(2).(b).4ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+ Düzeyi…….. 45
4.1.3.1.(2).(c).8ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+ Düzeyi…….. 45
4.1.3.1.(3).Bakır Etkisinde Na^+ Düzeyi……..45
4.1.3.1.(3).(a).2ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Na^+ Düzeyi……. 45
4.1.3.1.(3).(b).4ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Na^+ Düzeyi……46
4.1.3.1.(3).(c).8ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Na^+ Düzeyi…….. 46
4.1.3.2.Potasyum İyon Düzeyi…….. 50
4.1.3.2.(1).Kontrol Grupları……... 50
4.1.3.2.(1).(a).Normal Kontrol Grubu……. 50
4.1.3.2.(1).(b).2ppt Tuzluluk Etkisinde K^+ Düzeyi……. 51
4.1.3.2.(1).(c).4ppt Tuzluluk Etkisinde K^+ Düzeyi……. 51
4.1.3.2.(1).(d).8ppt Tuzluluk Etkisinde K^+ Düzeyi……. 51
4.1.3.2.(2).Kadmiyum Etkisinde K^+ Düzeyi…….. 51

4.1.3.2.(2).(a).2ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde K^+ Düzeyi…… 51
4.1.3.2.(2).(b).4ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde K^+ Düzeyi…….. 52
4.1.3.2.(2).(c).8ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde K^+ Düzeyi…… 52
4.1.3.2.(3).Bakır Etkisinde K^+ Düzeyi……....52
4.1.3.2.(3).(a).2ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde K^+ Düzeyi…….. 52
4.1.3.2.(3).(b).4ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde K^+ Düzeyi…….. 53
4.1.3.2.(3).(c).8ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde K^+ Düzeyi……. 53
4.1.3.3. Magnezyum İyon Düzeyi……57
4.1.3.3.(1).Kontrol Grupları……... 57
4.1.3.3.(1).(a). Normal Kontrol Grubu…… 57
4.1.3.3.(1).(b).2ppt Tuzluluk Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi……58
4.1.3.3.(1).(c).4ppt Tuzluluk Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi……. 58
4.1.3.3.(1).(d).8ppt Tuzluluk Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi……58
4.1.3.3.(2).Kadmiyum Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi…….. 58
4.1.3.3.(2).(a).2ppt.Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi……58
4.1.3.3.(2).(b).4ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi……. 59
4.1.3.3.(2).(c).8ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi……. 59
4.1.3.3.(3).Bakır Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi……... 59
4.1.3.3.(3).(a). 2ppt.Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi……. 59
4.1.3.3.(3).(b). 4ppt.Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi…….. 60

4.1.3.3.(3).(c). 8ppt.Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi…… 60
4.1.3.4.Klor İyon Düzeyi……...64
4.1.3.4.(1).Kontrol Grupları……... 64
4.1.3.4.(1).(a).Normal Kontrol Grubu…… 64
4.1.3.4.(1).(b).2ppt Tuzluluk Etkisinde Cl^- Düzeyi…… 65
4.1.3.4.(1).(c).4ppt Tuzluluk Etkisinde Cl^- Düzeyi…… 65
4.1.3.4.(1).(d).8ppt Tuzluluk Etkisinde Cl^- Düzeyi…… 65
4.1.3.4.(2). Kadmiyum Etkisinde Cl^- Düzeyi…… 65
4.1.3.4.(2).(a).2ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Cl^- Düzeyi……65
4.1.3.4.(2).(b).4ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Cl^- Düzeyi……..66
4.1.3.4.(2).(c).8ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Cl^- Düzeyi…… 66
4.1.3.4.(3).Bakır Etkisinde Cl^- Düzeyi……... 66
4.1.3.4.(3).(a). 2ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Cl^- Düzeyi…… 66
4.1.3.4.(3).(b). 4ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Cl^- Düzeyi…… 67
4.1.3.4.(3).(c). 8ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Cl^- Düzeyi……... 67
4.2.Tartışma…… 72
5.SONUÇLAR ve ÖNERİLER…… 77
5.1.Sonuçlar…….. 77
5.2.Öneriler……77
KAYNAKLAR……...78
ÖZGEÇMİŞ……84

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Dokularda en yüksek Na^+/K^+-ATPaz enzim aktivitesinin ölçüldüğü optimum koşulları ve inkübasyon ortamındaki iyonların son iyon derişimi……... 20

Çizelge 3.2. Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi analiz şeması…….. 21

Çizelge 3.3. Protein Analiz Şeması…….22

Çizelge 4.1. Tuzluluk (2ppt) ve metal etkisinde farklı sürelerde *O. niloticus* Dokularındaki total metal düzeyleri (µg/g k.a.)……..41

Çizelge 4.2. Tuzluluk (4ppt) ve metal etkisinde farklı sürelerde *O. niloticus* Dokularındaki total metal düzeyleri (µg/g k.a.)……..42

Çizelge 4.3. Tuzluluk (8ppt) ve metal etkisinde farklı sürelerde *O. niloticus* Dokularındaki total metal düzeyleri (µg/g k.a.)……..43

Çizelge 4.4. Kontrol *O. niloticus* dokularında farklı tuz derişimi ve sürelerde Na^+ düzeyleri (mg/g k.a.)…… 47

Çizelge 4.5. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 2ppt tuz etkisinde Na^+ düzeyleri (mg/g k.a.)…… 48

Çizelge 4.6. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 4ppt tuz etkisinde Na^+ düzeyleri (mg/g k.a.)…… 49

Çizelge 4.7. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 8ppt tuz etkisinde Na^+ düzeyleri (mg/g k.a.)…… 50

Çizelge 4.8. Kontrol *O. niloticus* dokularında farklı tuz derişimi ve sürelerde K^+ düzeyleri (mg/g k.a.)……... 54

Çizelge 4.9. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 2ppt tuz etkisinde K^+ düzeyleri (mg/g k.a.)……..55

Çizelge 4.10. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 4ppt tuz etkisinde K^+ düzeyleri (mg/g k.a.)……..56

Çizelge 4.11. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 8ppt tuz etkisinde K^+ düzeyleri (mg/g k.a.)…… 57

Çizelge 4.12. Kontrol *O. niloticus* dokularında farklı tuz derişimi ve sürelerde Mg^{+2} düzeyleri (mg/g k.a.)……..61

Çizelge 4.13. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 2ppt tuz etkisinde Mg^{+2} düzeyleri (mg/g k.a.)…….. 62
Çizelge 4.14. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 4ppt tuz etkisinde Mg^{+2} düzeyleri (mg/g k.a.)……..63
Çizelge 4.15. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 8ppt tuz etkisinde Mg^{+2} düzeyleri (mg/g k.a.)……..64
Çizelge 4.16. Kontrol *O. niloticus* dokularında farklı tuz derişimi ve sürelerde Cl^{-} düzeyleri (mg/g k.a.)……..68
Çizelge 4.17. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 2ppt tuz etkisinde Cl^{-} düzeyleri (mg/g k.a.)……..69
Çizelge 4.18. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 4ppt tuz etkisinde Cl^{-} düzeyleri (mg/g k.a.)……..70
Çizelge 4.19. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 8ppt tuz etkisinde Cl^{-} düzeyleri (mg/g k.a.)……..71

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Solunum fotosentez oranı, besin dengesi akış modeli……... 2
Şekil 1.2. Kadmiyumun insan ince bağırsağından alınım mekanizması……5
Şekil 1.3. Na^+/K^+-ATPaz, bu aktif transport sisteminde hayvan hücrelerinde öncelikle Na^+ ve $K^{+'}$nın intraselüler konsantrasyonu ve zardan geçişte, elektriksel ortamdan ve potansiyel üretmek için korunmasından sorumludur……9
Şekil 3.1. Fosfat derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki……... 22
Şekil 3.2. Sığır albuminden hazırlanan standart derişimler ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki……...23
Şekil 3.3. Metal derişimleri ve absorbansları arasındaki doğrusal ilişki……27
Şekil 3.4. İyon derişimleri ve absorbansları arasındaki doğrusal ilişki……..29
Şekil 4.1. Normal kontrol ve farklı tuzluluk kontrollerinin etkisinde *Oreochromis niloticus'*un solungaç dokusunda Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……... 35
Şekil 4.2. 1.0 µg/mL metal + 2ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde *Oreochromis niloticus'*un solungaç dokusunda Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi…….. 36
Şekil 4.3. 1.0 µg/mL metal + 4ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde *Oreochromis niloticus'*un solungaç dokusunda Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……... 36
Şekil 4.4. 1.0 µg/mL metal + 8ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde *Oreochromis niloticus'*un solungaç dokusunda Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……... 37
Şekil 4.5. Normal kontrol ve farklı tuzluluk kontrollerinin etkisinde *Oreochromis niloticus'*un bağırsak dokusunda Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi…… 37
Şekil 4.6. 1.0 µg/mL metal + 2ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde *Oreochromis niloticus'*un bağırsak dokusunda Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi…….. 38

Şekil 4.7. 1.0 µg/mL metal + 4ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde *Oreochromis niloticus'*un bağırsak dokusunda Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi……. 38
Şekil 4.8 1.0 µg/mL metal + 8ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde *Oreochromis niloticus'*un bağırsak dokusunda Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi…….. 39

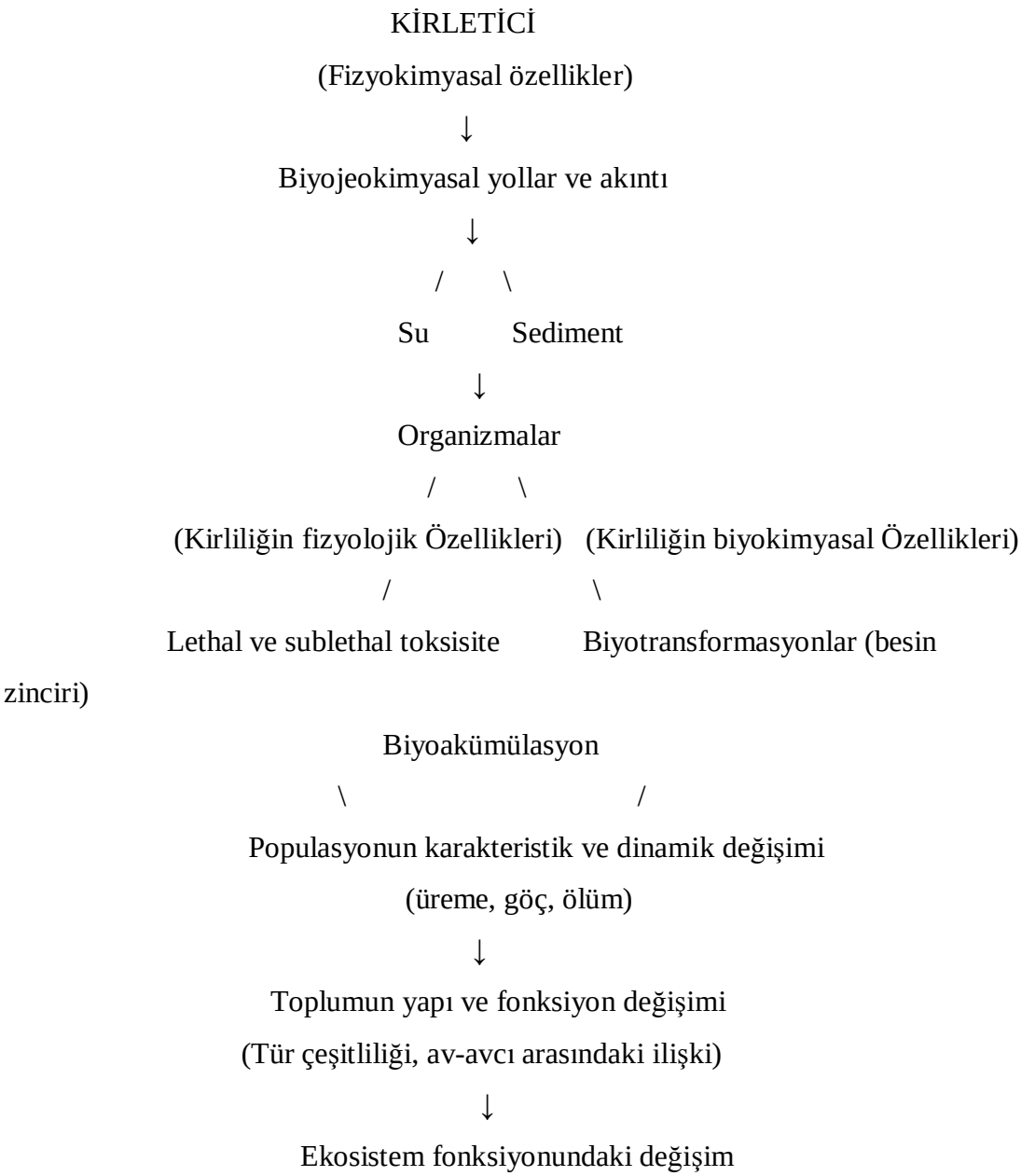
1. GİRİŞ

Metaller insanoğlunun bildiği en eski toksinlerindendir (Klaassen, 2001). Ağır metaller parçalanmadan su çevresine kalıcı olarak eklenip etkili olurlar. Sudaki derişimleri doku derişimlerine yansıtmaktadır, çoğu organizmada çoğunlukla alınım yolu sudur. Çevredeki bazı ağır metallerin sağlığa zararlı seviyeleri belirlenmiştir (Mason, 2002). Endüstriyel aktivitenin payı ve doğal kaynakların her ikisinin de yansımasından dolayı çevrede metal kirliliği olur. Metallerin toksisitesini etkileyen faktörler; esansiyel metaller ile etkileşim, gelişimin devir ve safhası, kimyasal yapıdır (Heath, 1987).

Suların önemli bir kısmına endüstriyel, zirai ve evsel atıklardan büyük oranda kirleticiler katılmakta ve bu atıklar toksik düzeye ulaştığında bu karmaşık durum ortaya çıkmaktadır. Fabrikalar da çeşitli süreçlerde kullanılan atık sularda kirliliğe neden olmaktadır. Tatlı sulara zehirli kirleticilerin çoğu hem zirai hem de ormancılıkla katılmaktadır. Bu katılımlar; herbisidlerin ve insektisidlerin püskürtülerek tatbik edilmesi, atılmış pestisidlerle ve onların çöplerle ya da sellerle göllere dökülmesiyle gerçekleşmektedir.

Metallerin toksik etkileri iki genel kategoriye ayrılabilir. Akut toksisite (kısa sürede zehrin yüksek dozu) genellikle lethal olmaktadır (Canlı, 1995). Kronik toksisite (uzun sürede zehrin düşük dozu) lethal ya da sublethal olabilmektedir. Kurşun, nikel, kadmiyum, çinko, bakır, civa, organoklorin pestisitler, herbisitler, çözücüler, petrol hidrokarbonları, formaldehitler, klor, amonyak, methan, asitler ve alkaliler toksik kirleticilerdir. Metaller ve organoklorinler gibi toksik bileşikler çok tehlikelidirler. Ağır metaller gibi bazı potansiyel toksik bileşikler kayaların kötü havadan aşınma ve volkanik aktivite gibi doğal işlemlerden su çevresi içine bırakılır.

Metallerin birikimi suda çok düşük seviyelerde organizmada çok yüksek seviyelerde olmaktadır. Organizmada kirliliğin birikme oranı iç ve dış faktörlere bağlı olmaktadır. Kirliliğin sudaki derişimleri önemlidir, kirlenmiş sudaki canlı, kirleticilerin çoğu çeşidini yüksek miktarda taşımaktadır. Kirleticiler doğrudan sudan ya da besinle alınabilir (Şekil 1.1.) (Mason, 2002).



Şekil 1.1. Solunum fotosentez oranı, besin dengesi oranları, besin akış modeli (Mason, 2002).

Balıklarda sudan veya besin yoluyla alınan metalin düşük düzeylerdeki birikimi, su ortamındaki besin zincirinin yüksek seviyelere ulaşmasında önemli bir yol olduğu belirtilmektedir (Heath, 1987; Liang ve ark. 1999; Weeb ve Wood. 2000). Balık dokularındaki metal birikiminin metalin vücuda alınma, depolanma ve vücuttan atılma oranına bağlı olduğu belirtilmektedir. Balıkların suda çözünmüş

olarak bulunan metalleri aktif ya da pasif yolla alabildikleri ve dokularında biriktirebildikleri belirtilmektedir (Heath, 1987; Ay ve ark., 1999).

Balığın biyolojik sistemlerinde Hg^{+2} ve Cd^{+2} gibi metallerin rolü bilinmezken, Cu^{+2}, Zn^{+2}, Fe^{+2} gibi gerekli ağır metaller balık metabolizması için gerekli olduğu ve balığın normal metabolizması için gerekli ağır metallerin suda ve besinde bulunduğu belirtilmektedir. Laboratuvar çalışmaları ve saha çalışmaları, dokulardaki metal birikiminde, metallerin sudaki derişimleri, metallere maruz kalma süresi ve tuzluluk, sıcaklık, pH, sertlik gibi çevresel faktörlerin önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Denizde yaşayan canlıların dokularındaki metal birikiminin canlının boyuna, cinsiyetine etkisi belirtilmektedir (Heath, 1987; Canlı ve Atlı, 2003; Baykan ve ark., 2007; Atlı ve Canlı, 2008a).

Metaller, metabolik aktivitesi yüksek olan dokularda total protein derişimini arttırmaktadır. Karaciğer ve böbrek dokularında Cd^{+2} birikim düzeyi ile total protein derişimi arasında doğrusal bir ilişki bulunduğu bildirilmektedir (Kalay, 2003).

Endüstriyel, tarımsal ve insan aktivitelerinin sonucunda sucul sistemlere ulaşan Cd^{+2}, $Zn^{+2,}$ Cr^{+6}, Cu^{+2} gibi ağır metallere sucul organizmalar önemli miktarda maruz bırakılmaktadırlar (Heath, 1987). Su metallerin taşınmasında ve dağılımında önemli rol oynamaktadır. Dolayısıyla metaller öncelikle sucul formlarda birikerek besin zinciri yolu ile üst trofik düzeylere taşınmaktadırlar (Kalay, 2003). İnsanlar, metallerin geniş ölçüde endüstriyel ilaç uygulamalarında kullanılmaları sonucunda doğrudan ya da dolaylı olarak metallere maruz kalmaktadırlar (Klaassen, 2001).

1.1. Bakır

Cu^{+2} besinlerde ve doğada yaygın olarak bulunan gerekli elementtir. Endüstrideki maden parçacıklarıyla ya da eritme operasyonuyla kaynağa bağlı olarak metal dumanı ile Cu^{+2}'ye maruz kalınmaktadır. Cu^{+2}'nin gastrointestinal emilimi genellikle homeostatik mekanizmalar tarafından düzenlenir. Cu^{+2}'nin homeostasisde oynadığı ilk rol safra'nın salınmasında normal seyir tarzınının devam etmesinde görev almasıdır. Karaciğere giren Cu, Cu^{+2} ilk olarak azalır ve metallothioneine bağlanmadan önce glutatyon ile bileşik oluşturur. Bununla birlikte Cu^{+2}'yi tutanın

MT olduğu düşünülmektedir (Klaassen, 2001). Cu^{+2} birçok oksidatif süreçle ortak olan ve bütün canlı hücrelerde zorunlu bir elementtir (Klaassen, 2001; Williams ve ark., 2000). Karaciğere alınan Cu^{+2} bağırsak yoluyla ana kapıda dolaşıp tekrar dönerek doku yoluyla seruloplasmin, albümin ve amino asitlere dağılmaktadır. Cu^{+2}'nin yaklaşık olarak yarısı emilmeyerek dışkı içine geçmektedir. Diğer 2-3'te birlik günlük emme karaciğerle safra içine serbest bırakılmaktadır (Klaassen, 2001).

Cu^{+2} birikimine bağlı olarak balık solungaç membran yüzeylerinde Na^{+} ve Cu^{+2}'nin eşit şekilde yayılabildiği ve buna bağlı olarak solungaç yapı ve fonksiyonlarının değişimiyle solungaç bazolateral membran yapısında bulunan Na^{+}/K^{+}-ATPaz aktivitesinin inhibe olduğu bildirilmektedir (Handy ve ark., 2002).

Atlı ve Canlı (2007), Cu^{+2} etkisinde kalan *O. niloticus*'un solungaç Na^{+}/K^{+}-ATPaz aktivitesinin önemli ölçüde inhibe olduğunu göstermiştir. Balığın iyon dengesi ve osmoregülasyonu için anahtar organ olarak bilinen solungaçta metal birikimine bağlı olarak Na^{+}/K^{+}-ATPaz aktivitesinin inhibisyonu ile ilişkili osmoregülatör hasar olmaktadır. Tatlı su ve deniz balıklarında Na^{+}/K^{+}-ATPaz inhibisyonu ile bağlantılı osmoregülasyonda bozulmalara neden olan metaller Cu^{+2}, Ag^{+}, Cd^{+2}, Zn^{+2} ve Hg^{+2} arasındadır (Bianchini ve ark., 2004,2005; Atlı, 2009).

1.2. Kadmiyum

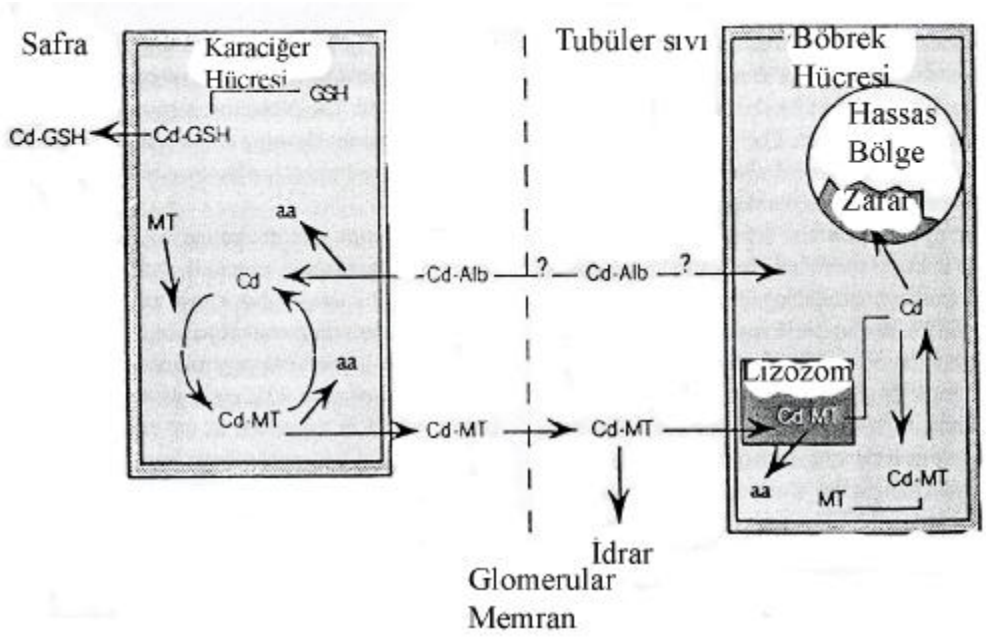
Cd^{+2}, atom numarası 48 ve atom ağırlığı 112,40 olan bir metal elementtir. Cd^{+2}, göreceli olarak yüksek buhar basıncına sahiptir ve atmosfere hızla Cd^{+2} oksit olarak oksitlenmektedir. Cd^{+2} doğada saf olarak bulunmaktadır. Doğal kaynakların yanı sıra hava, toprak ve suyun Cd^{+2} ile kirlenmesinde insan faktörü önemli rol oynamaktadır. Bu iki temel yol ile olmaktadır; Cd^{+2} üretimi ve Cd^{+2} içeren atıklardır.

Çevresel Cd^{+2} zehirlenme olayına ilk ev sahipliyi yapan ülkenin Japonya olduğu bildirilmiştir. Cd^{+2}'nin çok toksik formlarına rastlamak mümkündür. Balığın vahşi populasyonlarında Cd^{+2} toksisitesinin sublethal etkileri görülmektedir (Adams, 2002). Cd^{+2} daha 1817'de keşfedilen 50 yıl öncesine kadar endüstride kullanılan önemsiz bir elementtir. Fakat şimdi Cd^{+2} birçok uygulama ile birlikte çok önemli bir metaldir. Cd^{+2}'nin aşındırma özelliği yoktur, bundan dolayı elektrikli kaplama ya da

çinko kaplamada kullanılır. Çevresel kirliliğin önemli kaynağı olan Cd^{+2}; Zn^{+2} madenciliği ile doğaya çıkmaktadır (Klaassen, 2001; Williams ve ark., 2000). Ülkemizde, tütün kullanımı oranının gün geçtikçe artması, tarım sektöründeki denetimsiz seracılık, yapay gübre kullanımı ve hava kirliliği sorunları göz önüne alındığında, toplumumuzda kronik Cd^{+2} boyutlarının nedenli büyük olduğunu göstermektedir (Koçak, 2004).

Genel populasyonda bireyler için en büyük Cd^{+2} kaynağı besindir. Bitkiler, Cd^{+2} içeren gübreler, sulama için kullanılan Cd^{+2} içeren su ve hava kaynaklı nükleer atıklarla kirlenen topraktan Cd^{+2}'yi kolayca almaktadır. Cd^{+2}'nin %5-8'i gastrointestinal sistemde absorbe olmaktadır. Cd^{+2}'nin besin ya da sıvıyla yüksek konsantrasyon oranlarında alınması sonucu akut toksisite olabilmektedir. İnsanlar ve deney hayvanları için Cd^{+2} bileşimlerinin büyük dozlarında nefes alma lethal olabilmektedir (Klaassen, 2001).

Cd^{+2} balıkta yavaş bir şekilde birikim göstermektedir. Cd^{+2} balıkta çeşitli enzim sistemlerini etkileyerek, nörotransmisyon, transepitelyal taşınma, bağışıklık sistemi, oksidazlar gibi temel fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaları bozabilmektedir. Bu tür etkiler Cd^{+2}'nin kısa süreli etkilerinde önemli olduğundan, enzimler Cd^{+2} toksisitesinde güvenilir belirteçler olarak kullanılabilmektedir (Şekil 1.2.). Bununla birlikte Cd^{+2} Na^{+}/K^{+}-ATPaz gibi solungaçlarda iyon taşınmasında görev alan enzimleri inhibe ederek solungaçlarda iyon geçirgenliğinde artışa neden olmaktadır (Silvestre ve ark., 2005).



Şekil 1.2. Kadmiyumun insan ince bağırsağından alınım mekanizması

Cd^{+2}'den ve proteinden fakir besin bağırsaklardan Cd^{+2} emilimini 3 kata kadar arttırmaktadır. Cd^{+2}'nin gastrointestinal kanaldan emilimi oldukça düşüktür; emilim oranı insanlarda % 3-7, deney hayvanlarında ise %2'dir. Cd^{+2}'ye maruz bırakılan hayvanlarda en yüksek Cd^{+2} seviyeleri genellikle karaciğer, solungaç ve böbrek korteksinde saptanmaktadır (Kalay, 2003; Koçak, 2004). Bununla birlikte, vücuttaki dağılımı, Cd^{+2}'nin alınış yolu, dozu ve süresi ile değişiklik göstermektedir. Karaciğer ve böbrek, sistematik Cd^{+2}'nin elimine edilmesinde rol oynayan birincil organlardır ve Cd^{+2}'nin toksisitesinin hedefidirler (Koçak, 2004). Cd^{+2} birikim düzeyindeki artışa bağlı olarak total protein derişimi artış göstermektedir. Karaciğer dokusu, metallerin taşınmasında ve detoksifikasyonunda görev yapan metallothionein ve benzeri proteinlerin başlıca sentez yerlerinden biri olduğundan Cd^{+2} detoksifikasyonundaki işlevi oldukça önemlidir. Ancak Cd^{+2} birikim düzeyi bakımından, özellikle kronik çalışmalarda, karaciğer dokusuna göre birikimin en fazla böbrek dokusunda olduğu belirlenmiştir (Kalay, 2003).

Bazı metaller redoks-aktif özelliğinde olup toksik etkilerinin neden olduğu biyokimyasal tepkilere ek olarak oksidatif strese neden olabilmektedir. Metallerin neden olduğu oksidatif hasarın sonucunda ATPaz enzimlerinin inhibisyonu ile ilişkili osmoregülatör hasar, metallothionein fonksiyonu ve metal bağlamasında

değişiklikler ile doku elektrolit kaybı ve bunlarla ilişkili hücre zarlarında lipit peroksidasyonu gözlenebilmektedirler (Canlı ve Stagg, 1996; Atlı ve Canlı, 2007). Cd^{+2}'nin birikimine bağlı olarak balık *Anguilla anguilla*'nın solungaç ve bağırsak dokularında Na^{+}/K^{+}-ATPaz ve karbonik anhidraz enzimleri inhibe olurken bunun asit-baz dengesin ve osmoregülasyon sistemlerinin her ikisininde zarar görmesinden kaynaklanabilmektedir (Lionetto ve ark.,1988).

1.3. Plazma Membran Yapısı

Biyolojik membranların geçirgenliği yüksek seçicidir. Molekül ve iyonların hücreler arasında taşınması ve onların tam olarak düzenlenmesi özel transport sistemleri tarafından almaktadır. Bu sistemlerin çeşitli rolleri;

1- Kas ve sinirin uyarılabilirliği için iyonik yoğunluklar üretir,

2- Hücre hacmini korur, intracelüler pH ve iyonik bileşimle enzim aktivitesi için uygun çevre sağlar (Stryer, 1988).

Lipidler, proteinler ve az miktarda glikoprotein ve glikolipid yapısında karbonhidratlardan oluşur. Membranlardaki protein / lipid oranları birbirinde farklılık gösterir. Membran yapısında bulunan lipidler amfipatik özelliktedir. Polar, hidrofilik ve nonpolar hidrofobik gruplar içerirler polar, hidrofilik gruplar baş kısmını, hidrofobik gruplar ise kuyruk kısmını oluştururlar.

1.4. Aktif Transport

Aktif transport, moleküllerin termodinamik dengeden uzağa yani derişim veya elektrokimyasal gradientin zıt yönünde taşınmaları açısından diffüzyondan farklıdır; bundan dolayı enerji gerektirir. Aktif transport için gereken enerji, ATP'nin hidrolizinden, elektron hareketinden veya ışıktan sağlanabilir. Aktif transport ile biyolojik sistemlerde elektrokimyasal gradientlerin devamlılığı sağlanır. Biyolojik sistemlerde elektrokimyasal gradientlerin devamlılığının sağlanması o derece önemlidir ki belki de bu olay bir hücreye ait total enerji tüketiminin %30-40'ını oluşturur. Genellikle hücreler, hücre içi ortamda net bir negatif elektriksel potansiyel

ile bir arada düşük bir intrasellüler Na^+ derişimi ve yüksek bir hücre içi K^+ derişimi sağlarlar: Hücre'nin içi ve dışı arasında gradientleri sağlayan Na^+/K^+ -ATPaz pompası, membrana bağımlı Na^+/K^+-ATPaz tarafından her ATP molekülünün ADP'ye hidrolizi sırasında 3 Na^+ iyonunun hücre içinden dışarıya ve 2 K^+ iyonunun dışarıdan hücre içine hareketini sağlar:

1.5. Na^+/K^+- ATPaz

Na^+/K^+- ATPaz enziminin varlığı ilk kez 1957 yılında Jens Skou tarafından sinir hücrelerinde gösterilmiştir (Stryer, 1988). Memeli hücrelerinin membranlarında bulunmaktadır. Na^+/K^+-ATPaz'ın enzimatik gösterimi sodyum pompası olarak da bilinir. Sodyum pompası hücre membranının iki tarafındaki iyon gradientlerinin düzenlenmesi ve korunmasından sorumlu ana protein olarak karşımıza çıkar ve bu nedenle hücrelerin düzgün çalışması, membran potansiyelinin ve ozmotik dengenin korunması için mutlaka gereklidir. Hayvansal hücrelerde Hücre içi K^+ derişimi 140Mm, hücre dışında 5mM'dır. Na^+ iyonu ise hücre içinde 5mM, hücre dışında 145mM derişiminde bulunur. Bu dengeyi Na^+/K^+-ATPaz enzim sistemi sağlamaktadır (Köksoy, 2002).

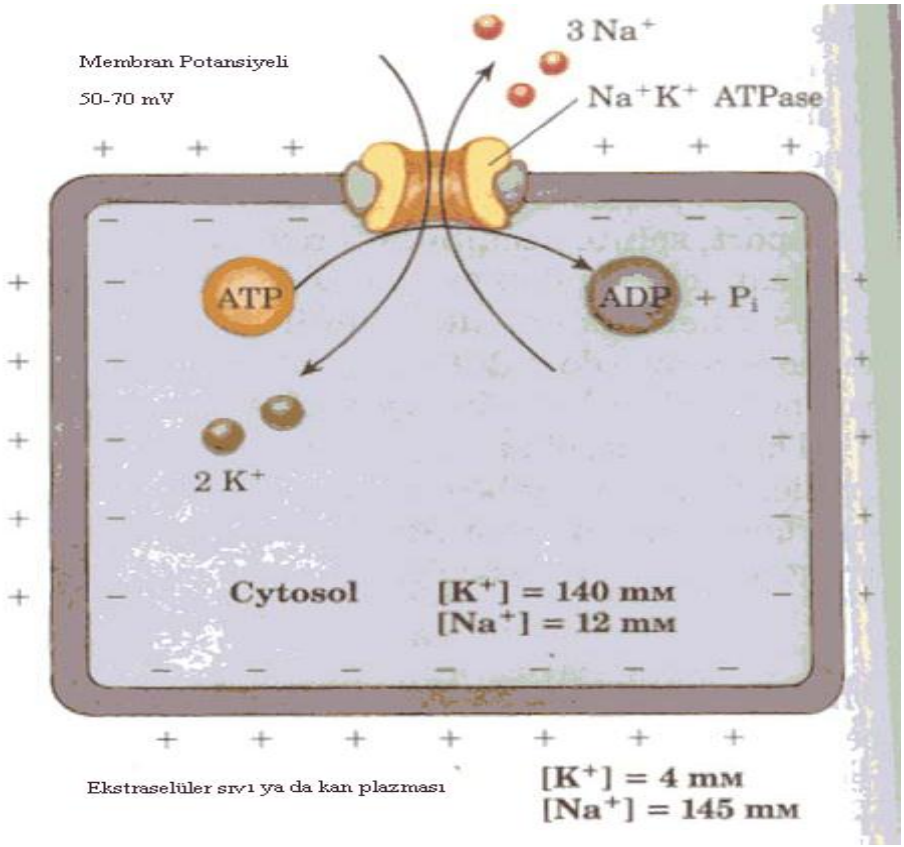
Na^+/K^+-ATPaz enzimi ATP-bağlı antiport sistemi ile çalışır, 2 K^+ iyonunun hücre içine girişi, 3 Na^+ iyonunun hücre dışına atılması sırasında 1 mol ATP'nin hidrolizi ile açığa çıkan enerjiyi kullanır. Na^+/K^+-ATPaz'ın her bir molekülü başına en elverişli koşullarda saniyede 100 mol ATP hidroliz edilir. Hücrelerin ihtiyaç duyduğu toplam enerji'nin 1/3'ü Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi için kullanılır. Elektriksel olarak uyarılabilen hücrelerde Na^+/K^+-ATPaz hücre enerjisinin %70'ini tüketir. Na^+/K^+-ATPaz enzimi integral bir zar proteinidir ve alfa ve beta olarak adlandırılan iki alt üniteden oluşan bir tetramerdir (2 alfa, 2 beta).

Alfa alt ünitesi ATP hidrolizini gerçekleştirir. Na^+ için sitoplazmik tarafta K^+ için ise hücrenin dışında bağlanma bölgesi mevcuttur. Daha küçük olan ß-alt üniteler fonksiyonu bilinmeyen glikoproteinlerdir. Diğer hücre glikoproteinlerinde olduğu gibi bu glikoproteinlerin karbonhidrat grupları hücre yüzeyinin daha dış kısmındadır. Katalitik döngü ve Na^+/K^+-ATPaz'ın iyon pompalama aktivitesi fosforil grupların

transfer reaksiyonlarına ve proteinin konformasyonel değişimlerine bağlıdır. İyon taşınmasının gerçekleşmesi için ATP ve Na^+ hücre içinde bulunmalı K^+ hücre dışında olmalıdır.

3 Na^+ iyonu hücrenin sitozolik ucunda Na^+/K^+-ATPaz'a bağlıdır. Enzimin sitoplazmik bölgesindeki aspartat artığına ATP'nin fosforil grubunun transferi enerjice zengin açil fosfat bağının oluşmasına neden olur. Konformasyonel değişim ile 3 Na^+ iyonu hücre dışına atılır, 2 K^+ iyonu hücre dışında Na^+/K^+-ATPaz'a bağlanır. Bir diğer konformasyonel değişme açil fosfat bağının hidrolizi ile meydana gelir, 2 K^+ iyonu hücre içine serbest bırakılır.

Na^+/K^+-ATPaz enzimi'nin hücre hacminin düzenlenmesinde büyük önemi vardır. Hücre zarından iyonların geçişi ile ozmotik basınçta değişme meydana gelir. Sonuçta hücreler şişer veya küçülür. K^+ ve Cl^- gibi iyonları bağlayan hücresel makromoleküller ozmotik basınca yardımcı olurlar. Bu iç basınç çoğunlukla Na^+ ve Cl^- olmak üzere hücre dışındaki iyonlar ile dengelenir. Na^+ ve Cl^- iyonlarının derişim gradyanına rağmen hücre içine difüzyonu ile hücre içinde ozmotik basınç ve buna bağlı olarak hücre hacmi artar. Bu durum Na^+/K^+-ATPaz enzimi tarafından Na^+'un dışarı atılması ile kontrol edilir. Na^+ iyonunun atılması zarda negatif iç potansiyele neden olur. Bu potansiyel hücre içine Cl^- iyonlarının geçişine engel olacak bir bariyer oluşturur (Şekil 1.3.) (Stryer, 1988).



Şekil 1.3. Na^+/K^+-ATPaz, bu aktif transport sisteminde hayvan hücrelerinde Na^+'un ve K^+'un intraselüler konsantrasyonun ve zardan geçişte, elektriksel potansiyel üretmek için ortamdan ve korunmasından sorumludur.

Metallere maruz bırakılan balıkların ATPaz aktivitesi inhibe olabilmekte ve dokuları zarar görmektedir. Solungaç ve bağırsak gibi osmoregülatör dokular da Na^+/K^+-ATPaz membrana bağlı önemli bir enzimdir. Bu enzimin önemli fonksiyonları hücre hacminin ayarı ve iyon transportudur (Heath, 1987; Canlı ve Stagg, 1996; Atlı ve Canlı, 2007; Ay ve ark., 1999). Na^+/K^+-ATPaz, osmoregülasyonda (tuzluluk) önemli görevi olan enzimlerden biridir ve solungaç ve bağırsak gibi tuz taşınmasının gerçekleştiği dokularda yüksek düzeylerde bulunmaktadır.

1.5.1. Na^+/K^+-ATPaz Enziminin Aktivatörleri

Na^+/K^+-ATPaz enziminin zara bağlı bir enzim olması nedeniyle aktivitesi için fosfolipidlere gereksinim duyar. Lipidlerin uzaklaştırılması, deterjanlarla muamele, organik çözücülerle muamelede veya fosfolipazlarla muamelede enzimin tamamen veya kısmen inaktivasyona uğradığı gösterilmiştir.

1.5.2. Na^+/K^+-ATPaz Enziminin İnhibitörleri

Bu grup inhibitörler Na^+/K^+-ATPaz'a son derece özgün olup en fazla kullanılanı ouabaindir. Çünkü ouabain suda kolay çözünür. Ouabain hücrenin dış yüzeyinde etkili olup ATP'nin enzime bağlanmasını ve fosfo arabileşiğinin defosforilasyonunu engelleyerek inhibitör etki gösterir. Ouabain-enzim etkileşmesi için Mg^{+2} iyonu gereklidir. ATP veya inorganik fosfat (Pi) ile fosforilasyon ouabainin bağlanma hızını şiddetle arttırır. Ouabain bağlama yerlerinin sayısı ATP bağlama ve fosforilasyon yerlerinin sayısına eşittir. Na^+/K^+-ATPaz enziminin sülfidril gruplarına etki eden maddelerle olan reaksiyonları enzim aktivitesini engeller. Değişik sülfidril reaktiflerinin çeşitli enzim aktiviteleri üzerine olan etkileri çeşitlidir. Kloropromazin, ethakrinik asit, 5,5'ditio bis (2-nitro benzoik asit (DTNB) ve N-etil maleimid (NEM) bunlardan bazılarıdır. Bu bileşikler enzimin elzem ve elzem olmayan –SH grupları ile etkileşerek enzim aktivitesini etkilerler. Diğer inhibitörler ise yüksek ve düşük ilgili ATP bağlanmasını inhibe eden 3 inhibitör bilinmektedir. Bunlar butanedion, 7- kloro 4- nitro benzo-2-oxa- 1,3 diazol ve vanadattır $(VO_4)^{-3}$. Bunlardan ilk ikisi direkt ATP ile bağlanır ve etkisini sırasıyla arginin ve tirozin artıklarını etkileyerek gerçekleştirir. Vanadat fosforilasyon bölgesine bağlanarak dolaylı olarak inhibitör etki gösterir. Vanadat Na^+/K^+-ATPaz'a özgün olmayıp Ca^{2+} -ATPaz enzim'i içinde inhibitör etki yapmaktadır (Stryer, 1988).

1.6. Tuzluluk

Örihalinlerde yapılan birçok çalışmalar göstermiştir ki düşük tuzluluğun bulunduğu ortamlarda biotadaki ağır metal miktarı artma eğilimindedir. Kirliliğin geldiği kaynağa bağlı olarak tuzlulukla ilişkili olan diğer faktörler birçok kimyasalın biyo kullanımını önemli derecede etkileyen organik karbondur.

Birçok metalin toksisitesi özellikle kabuklular için düşük tuzlulukta artar. Biyota tarafından metal birikimi tuzluluğun etkisi ile ilgili çalışmalar hem biyolojik hem kimyasal faktör etkisinin olduğunu göstermiştir. Organın fizyolojisi metal alınımını ve birçok yoldan toksisiteyi etkileyebilir. Örihalin türleri tuzluluğa geniş ölçüde toleranslı olmasına rağmen en elverişli tuzluluk türden türe değişir. Dış kaynaklı en elverişli tuzluluğun organizmaya oransız verilmesi iyonik ya da hücre hacminin düzenlenmesindeki enerjiyi tutacak ve toksik strese karşı hassas olabilecek. Bazı sucul türlerde, metal alınımı ile iyonik düzen arasındaki ilişki izlendiğinde, bazen etkileşim meydana gelir. Ortamın kalsiyum derişimi ve toksisite / kadmiyum alınımı arasında görünüşte ilişki bulunmaktadır. Cd^{+2}, Cu^{+2}, Ag^{+} ve Zn^{+2} gibi çeşitli metallerin tuzluluğun etkisi onların kimyasal özelliği ile ilgilidir. Örneğin Cd'nin biyo kullanılabilir formu özellikle tatlı sularda yoğun olarak bulunan serbest Cd^{+2} iyonlarıdır. Tuzluluğun arttığı ortamlarda Cd^{+2} daha az kullanılabilir ve böylece $CdCl^{-}$ ve $CdCl_2$ gibi klorit karmaşıkları oluşturur (Wright ve Welbourn, 2001; Monserrat, 2007).

Tuzluluk ile metal arasında pozitif yönde doğrusal ilişki bulunmasının sudaki metal katyon rekabetine bağlı olabileceği düşünülmektedir, çünkü yüzey sularında metallerin çözünürlüğü, suyun pH'sı, tipi, metalleri absorbe edebilen ligantların derişimleri, mineral bileşenlerinin oksidasyon durumu ve bağlanma yerleri için metal ve katyonlar arasındaki yarışın yüksek tuz konsantrasyonlarında daha da artacağı yani yüksek tuz derişimlerinde metallerin bu rekabet ortamından dolayı sık sık suya salıverilebileceği belirtilmektedir (Türkmen ve ark., 2004).

Oreochromis niloticus, Afrika kökenli bir balık türü olup, kültür koşullarında bakım ve üremesinin kolay olması, besin maddelerini iyi değerlendirmesi, kirlenmeye ve çeşitli hastalıklara dirençli olması bu türün kültür balıkçılığındaki önemini her geçen gün arttırmaktadır (Erdem, 1990; Canlı ve Erdem, 1994; Kalay, 1999). Tatlı su orjinli olan Tilapialar değişik tuzluluklara gösterdikleri toleransla dikkat çekmektedirler (Genç, 1996).

Teleostlar, osmolarite ve iyon dengesini korumak için tuzlarını tatlı sudan solungaçlar vasıtasıyla ve böbrekte tuzların reabsorbu ile alırlar. Buna karşı deniz suyundaki teleostlar tuzları solungaçlar vasıtasıyla dışarı salarlar ve böbrekte su

absorblarlar. Teleostlar tatlı suya ya da tuzlu suya adaptasyonda farklı sistemler kullanılır. Euryhaline balık tatlı su ya da tuzlu suyun her birine bu elverişli sistemlerin değişimiyle adapte olur (Kato ve ark., 2005).

Bu çalışmada, bir kültür balığı olan *Oreochromis niloticus*, NaCl'nin ayrı ayrı 2ppt, 4ppt ve 8ppt'lik derişimlerinde ve metal+tuz derişimlerinde (1µg/ml $CdCl_2$ + 2ppt NaCl, 1µg/ml $CdCl_2$ + 4ppt NaCl, 1µg/ml CdCl + 8ppt NaCl, 1µg/ml $CuCl_2$ + 2ppt NaCl, 1µg/ml $CuCl_2$ + 4ppt NaCl, 1µg/ml $CuCl_2$ + 8ppt NaCl) 14 gün süreyle etkisine bırakılarak solungaç ve bağırsak dokularındaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi ayrıca bu dokulardaki metal, iyon ve protein düzeylerini belirlemek amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Karakoç (1994), bir tatlı su balığı olan *Oreochromis niloticus'*un farklı tuz ve farklı metal etkileşimlerinin bu metalin alınımı, dağılımı ve eliminasyonu üzerine yaptığı çalışmalarda, tuzluluğun solungaç ve kas dokularında Cu^{+2} birikimini engellediğini, karaciğer dokusunda artan tuzluluk derişimine bağlı olarak Cu^{+2} birikimini azaldığını belirtmiştir.

Gjevre ve Naess (1996), örihalin bir balık olan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss walbavm)* ve Atlantik salmon'un *(Salmo salar L.*) bağırsak ve solungaçtaki Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi için uygun koşullar denemiş ve sonuçta salmon'un bağırsağındaki Na^+/K^+-ATPaz'ın özelliklerinin solungaçtakilerden çok farklı olmadığını fakat Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin bağırsakta solungaçlara göre daha yüksek miktarda substrata gereksinim duyduğunu ve bağırsakta inkübasyon sıcaklığının düşük olduğunu aynı zamanda bağırsaklarda Na^+, K^+ ve Mg^{+2} düzeylerini belirlediklerini bildirmişlerdir.

Nolan ve ark. (1999), bir örihalin olan tilapia'nın (*O. mossambicus)* tatlı sudan tuzlu suya adaptasyonunun bağırsak ve solungaç etkisi üzerine bir çalışma yapmışlar ve solungaçta Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinde azalma olduğunu bağırsakta Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi'nin önemsenmeyecek kadar az olduğunu belirtmişlerdir.

Kalay ve Erdem (2003), bir tatlı su balığı olan *Tilapia nilotica*'nın farklı dokularında $Cd^{+2'}$nin birikim düzeyi ve bu birikimin karaciğer ve böbrek dokularındaki total protein derişimine etkisi üzerine yaptıklaı bu çalışmada, Cd^{+2}'nin solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında yüksek düzeyde biriktiğini ve metallerin metabolik aktivitesi yüksek olan dokularda total protein derişimini arttırdığını, karaciğer ve böbrek dokularında Cd birikim düzeyi ile total protein derişimi arasında doğrusal bir ilişki bulunduğunu belirtmiştir.

Grosell ve ark. (2004), bir deniz balığı olan *Opsanus beta'*da 12,8 ve 55,2 µM Cu^{+2}'nin 30 günlük etkisi sonrasında metal birikimi ve Na^+/K^+-ATPaz aktivitesine bakmışlardır. Buna göre, solungaç dokusunda bağırsak dokusuna göre daha hızlı Cu^{+2} birikimi gözlenmiştir. Bununla birlikte Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinde solungaç ve böbrek dokusundaki Cu^{+2} birikimine karşın inhibisyon gözlenmemiştir.

Türkmen ve ark. (2004), İskenderun körfezinde, deniz suyunun sıcaklık, pH, tuzluluk ve oksijen değerleriyle, metal derişimleri arasındaki korelasyonuna ilişkin yaptıkları bu çalışmada, tuzluluk ile metal arasındaki pozitif yöndeki korelasyonun sudaki metal katyon rekabetine bağlı olabileceğini, çünkü yüzey sularında metallerin çözünürlüğünün, suyun pH'sına, metalleri absorbe edebilen ligandların derişimlerine, mineral bileşenlerinin oksidasyon durumuna ve sistemin redoks çevresi tarafından öncelikle kontrol edilmesine bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Bağlanma yerleri için metal ve katyonlar arasındaki yarışın yüksek tuz derişimlerinde daha da artacağını yani yüksek tuz derişimlerinde metallerin, bu rekabet ortamından dolayı sık sık suya salıverileceğini bildirmişlerdir.

Güner ve ark. (2005), deniz suyuna doğrudan transfer edilen tilapialarda (*O. niloticus)* ve 14. gün süresince çevresel tuzluluğa bağlı olarak solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin, klorit hücre sayısı ve boyutlarında meydana gelen değişimler üzerine yaptıkları çalışmalarda, doğrudan deniz suyuna transfer edilen balıklarda %100 ölüm olduğunu, deniz suyuna kademeli transfer edilen tilapiaların solungaç klorit hücre sayısının azaldığını, klorit hücre boyutlarında artış olduğunu ve doğrudan ve kademeli adaptasyon sonucu yüksek tuzluluğun solungaç Na^+/K^+-ATPaz enzim aktivitesi ve klorit hücre yoğunluğu üzerine etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir.

Shivkamat ve Roy (2005), tatlı su balığı olan *Oreochromis* niloticus'a tuz etkisini gözlemlemek amacıyla yaptıkları araştırmalarda solungaç epitelyum hücrelerinin sub selüler membranlarındaki yağ tabakasının kompozisyonu ve membran geçirgenliğini de önemli değişimlerin olduğunu belirlemişlerdir. Balığın mikrozomal membranlarındaki glukoz-6-fosfat-dehidrogenaz'ın 2,5 kat ve plazma membranındaki Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin %70'e kadar arttığını belirlemişlerdir. Tuzluluk adaptasyonu sırasında solungaç epitelyum hücreleri içinden K^+'nın dışarı akması Na^+'nın içeri akmasından dolayı Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin ve buna bağlı olarak membran akıcılığı ve membran yapısının değiştiğini belirlemişlerdir.

Blanchard ve Grosell (2006), örihalin bir balık türü olan *Fundulus heteroclitus*'un bağırsak ve solungaç dokularında yüksek tuzlulukta Cu^{2+}'nun iyonoregülatör toksikant olup olmadığı araştırılan bu çalışmalarında, tatlı suda

Cu^{+2}'nin etkisi ile solungaç ve bağırsaktaki Na^{+}'nın azaldığı, Na^{+}/K^{+}-ATPaz'ın azaldığı ve Cu^{+2}'nin iyonoregülatör toksikant olduğunu, Kullanılan tuz konsantrasyonlarında ise sadece sudaki parametrelerin etkilendiği ve tuzlu suda Cu^{2+}'nun iyonoregülatör toksikant olmadığını bildirilmişlerdir.

Saoud ve ark. (2007), pasifik teleostları ailesinden olan *Siganus rivulatus*'un tuzluluğa toleransı, plazma osmolaritesi ve solungaç Na^{+}/K^{+}-ATPaz aktivitesinde tuzluluğun etkisi üzerine yaptıkları bu çalışmada *Siganus rivulatus*'un solungaç'ındaki Na^{+}/K^{+}-ATPaz'ın azalan tuzlulukta arttığını ve solungaç'ın çok güçlü osmoregülatör olduğunu belirtmişlerdir

Ağcasulu (2007), *Capoeta tinca*'nın karaciğer, kas ve solungaç dokularında Zn^{+2}, Pb^{+2}, Cu^{+2} ve Cd^{+2} metallerinin birikim düzeyleri üzerine yaptıkları çalışmalarda metallerin balığın farklı organlarında farklı düzeyde biriktiği ve metal birikimlerinin vücut ağırlığına bağlı olarak değiştiğini saptamıştır. Metal birikim değerlerinin karaciğer, kas ve solungaçta $Zn^{+2}>Pb^{+2}>Cu^{+2}>Cd^{+2}$ şeklinde olduğunu bildirmişlerdir.

3.MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

3.1.1.1. Metaller, Asitler ve Tuz

Bakır klorür dihidrat ($CuCl_2 .2H_2O$, Merck)
Potasyum kromat (K_2CrO_4, Merck)
Kadmiyum klorür monohidrat ($CdCl_2 .H_2O$, Merck)
Nitrik asit (HNO_3 %65, Merck)
Perklorik asit ($HCIO_4$ 70-72%, Merck)
Trisodyum sitrat dihidrat ($C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$, Riedel)
Sodyum klorür (NaCl, Riedel)

3.1.1.2. ATPaz Aktivite Ölçümünde Kullanılan Kimyasallar

Sukroz (α-D-Glukopiranozil β-D-fruktofuranosid; $C_{12}H_{22}O_{11}$ 99.5%, Sigma)
Trizma –Base (Tris [hidroksimetil]aminometan; $C_4H_{11}NO_3$, Sigma)
EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2.2H_2O$, Sigma)
Ouabain ($C_{29}H_{44}O_{12}$, Sigma)
Sodyum klorür (NaCl, Merck)
Potasyum klorür (KCl, Merck)
Magnezyum klorür ($MgCl_2.6H_2O$, Merck)
Trizma Base (Tris [hidroksimetil] aminometan; $C_4H_{11}NO_3$, 99.9%, Sigma)
Disodyum Adenozin trifosfat (Na_2ATP 99%, Sigma)
Polioksietilen 10 Lauril-eter (Sigma)
Amonyum Molibdat [$(NH4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$, Merck)
Sülfirik asit (H_2SO_4 %98, Merck)
Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH_2PO_4, Merck)

3.1.1.3. Protein Analizinde Kullanılan Kimyasallar

Bakır (II) sulfat pentahidrat ($CuSO_4.5H_2O$, Merck)
Sığır Serum Albumini (Sigma)
Folin Ciocalteu Fenol Ayıracı (Sigma)
Potasyum sodyum tartarat tetrahidrat ($C_4H_4KNaO_6.4H_2O$, Merck)
Sodyum hidroksit (NaOH, Merck)
Sodyum karbonat (Na_2CO_3, Fluka)

3.1.2. Kullanılan Aletler

Ultra saf su cihazı: Millipore
Santrifüj: Sigma 2-16
Spektrofotometre: Cecil 5000 series
Derin dondurucu (-80 ^{0}C): Sanyo/MDF-U30865
Su banyosu: Memmert
Etüv: Memmert
pH metre: Hanna HI 8314 membran pH metre
Hassas terazi: Sartorius Analytic A 200S
Homojenizatör: Janke & Kunkel Ultra Turrax T25
Manyetik Karıştırıcı: Janke & Kunkel IKAMAG RH
Atomik Absorbsiyon SpektrofotometresiPerkin Emler 3100
Alev Fotometresi

3.2. Yöntem

Deneylerde kullanılmak üzere, tropikal tatlı su balığı olan *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae), Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi balık yetiştirme havuzlarından alınarak 40 x 40 x 100 cm boyutlarındaki 120 L çeşme suyu içeren akvaryumlarda, 20 ± 1 ^{0}C sıcaklığında ve 12 saat aydınlanma periyodu uygulanan laboratuar koşullarında 1 ay kadar süreyle yeni şartlara adapte edildi. Balıklar;

kontrol (1), tuz etkisindeki kontrol (2), tuz ve metal etkisindeki deney grubu (3) olmak üzere 3 bölüme ayrıldı. Buna göre 1. grupta tuz ve metal etkisi uygulanmazken, 2. grupta sadece tuz etkisi, 3. grupta ise tuz ve metal etkisi birlikte uygulandı. Balıklar bu deney esasına göre 2, 4, 8 ppt tuz (NaCl) derişimleri ile 1 µg/mL bakır ($CuCl_2.2H_2O$) ve kadmiyum ($CdCl_2 .H_2O$) derişimlerinin 14 gün süreyle etkisine bırakıldı.

Bakırın akvaryum tabanına çökmesini önlemek amacıyla 1 µg/mL trisodyum sitrat 2-hidrat ($C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$) kullanıldı. Deney süresi boyunca deney yapılan akvaryumlardaki oksijen miktarı 7,04 ± 0,55mg O_2/L, pH 8,35±0,16, sertlik 309,5 ± 22 mg $CaCO_3$ /L, alkalinite 61,9 ± 7,26 mg $CaCO_3$ / L, iletkenlik 9,67 ± 5,11 mS olarak ölçüldü. Adaptasyon süresi boyunca balıklara günde bir defa olmak üzere ağırlıklarının %2-3'ü kadar hazır balık yemi (Pınar Sazan Yavru Yemi, İzmir) verildi. Kullanılan balık yemindeki mikro elementlerin miktarları sırasıyla 70 mg Zn / kg, 25 mg Mn / kg, 25 mg Mg / kg, 2 mg Fe / kg, 0,7 mg I / kg, 1 mg Cu / kg, 0,2 mg Co / kg, 0,03 mg Se / kg; makro elementlerin miktarı ise en az %2- en çok % 2,5 Ca, en az % 0,2, en çok %1 Na, en az % 1 P ve yem içeriğindeki ham protein ise en az % 40'dır. Deney sırasında akvaryumların cam yüzeylerine tutunma, akvaryum suyunun buharlaşması gibi nedenlerle akvaryumdaki metal ve tuz derişimleri değişebileceğinden akvaryum suları 2 günde bir taze hazırlanan stok çözeltilerden yapılan seyreltmelerle değiştirildi ve ayrıca uygulanan tuz derişimleri hergün çoklu ölçüm cihazı Orian-5-star ile ölçüldü ve metallerin yemlere yapışmaması için akvaryum sularının değişiminden 1 saat kadar önce yem verildi.

3.2.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanışı

Deney süreleri sonunda akvaryumlardan alınan balıklar spinal hale getirilmek sureti ile ani ölümleri gerçekleştirildi. Bir kurutma kağıdı ile kurutulduktan sonra boyları en yakın cm ve ağırlıkları en yakın g cinsinden ölçüldü. Balıkların ortalama boy (13,19±1,17 cm) ve ağırlıklarının (32,20±6,98 g) farklı deney grupları arasında istatiksel olarak bir ayırım göstermediği gözlendi ($P>0,05$). Bu aşamalardan sonra steril aletler kullanılarak balıkların bağırsak ve solungaç dokuları dikkatli bir şekilde

alındı ve homojenize edilinceye kadar -80 ^{0}C'de saklandı. Dokular ağırlıklarının 1/10'u oranında homojenizasyon tamponu (250 mM Sukroz, 20 mM Trizma-Baz, 1mM EDTA- pH 7,8) ile 9500 rpm'de 90 sn süreyle buz üstünde homojenize edildi. Ependorf tüplerine aktarılan homojenatlar 13,000 g'de +4^{0}C'de 20 dk santrifüj edildi ve elde edilen supernatantlar enzim analizinde ve protein tayininde kullanılmak üzere ependorf tüplerine aktarılarak buz üzerinde saklandı.

3.2.2. Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesinin Ölçümü

Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin ölçüldüğü inkübasyon ortamının optimum koşulları Atlı (2009)'nın doktora çalışmasında belirlenmiştir (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Dokularda en yüksek Na^+/K^+-ATPaz enzim aktivitesinin ölçüldüğü optimum ortam koşulları ve inkübasyon ortamındaki iyonların son iyon derişimleri.

	(- Ouabain)	**(+ Ouabain)**
Ouabain (mM)	-	1
NaCl (mM)	100	100
KCl (mM)	20	20
$MgCl_2$ (mM)	4	4
Tris (mM)	40	40
pH	7,7	7,7
ATP (mM)	3	3
^{0}C	37	37

Enzim aktivitelerinin saptanması için analizlerde iki tekrarlı olmak üzere her tüpe son iyon derişimleri çizelge 3.1'de verilen 870 µL inkübasyon ortamı ve 30 µL örnek kondu ve sıcak su banyosunda 37 ^{0}C'de 5 dk inkübe edildi. Reaksiyon, tüplerin üzerlerine 100 µL 3 mM Na_2ATP konmasıyla başlatıldı. Reaksiyon, 30 dk inkübasyon süresinin ardından tüplere konan 500 µL soğuk saf su (+4 ^{o}C) ile sonlandırıldı. Tüm bileşenler dışında ATP içermeyen tüpler ATP körü, sadece örnek içermeyen tüpler ise Örnek körü olarak kullanıldı (Çizelge 3.2.). Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi, Toplam-ATPaz (ouabain içermeyen) aktivitesinden Mg^{+2}-ATPaz (Ouabain

içeren) aktivitesinin çıkarılması ile hesaplandı. Enzim aktiviteleri, µmol Pi/mg prot./sa. cinsinden verildi.

Çizelge 3.2. Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi analiz şeması.

	Total-ATPaz	Mg^{+2}-ATPaz	Ör Kör	ATP Kör	Kör
- Ouabain inkb ortamı	870µL	-	870µL	870µL	870µL
+ Ouabain inkb ortamı	-	870µL	-	-	-
Örnek Hmj	30µL	30µL	-	30µL	-
dH_2O	-	-	30µL	100µL	130µL
ATP	100µL	100µL	100µL	-	-

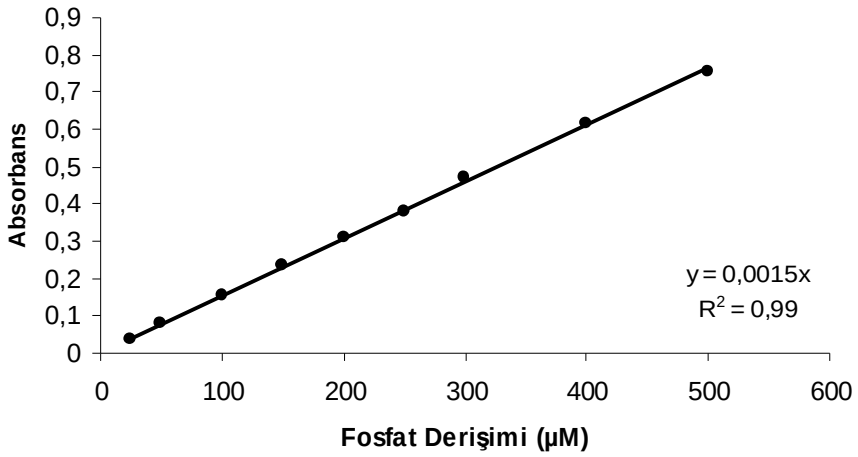
3.2.3. İnorganik Fosfat Tayini

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

1. % 5 Polioksietilen 10 Lauril eter: 5 g Polioksietilen eter tartılarak saf su ile çözüldü ve 100 ml'ye tamamlandı. Kullanılmadan önce oluşan bulanıklığın giderilmesi için 37 ^{0}C'de 30-40 dk bekletildi.
2. % 2 Amonyum Molibdat: 2 g $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ tartılarak 1,8 M H_2SO_4 çözeltisinde çözüldü.
3. Ana ayıraç: 10 mL % 5 Polioksietilen eter, 25 mL % 2 Molibdik asit ve 65 mL saf su karıştırılarak hazırlandı.

Yöntem: Çizelge 3.1.'de belirtilen şekilde hazırlanmış olan tüp içerikleri 37 ^{0}C'de 5 dk su banyosunda tutuldu. Atkinson ve ark (1973) kullandığı yönteme dayanarak tüplerde açığa çıkan inorganik fosfat miktarı, son hacmi 1,5 mL olan tüplere 3 mL polioksietilen 10-lauril eter, amonyum molibdat karışımı konulduktan sonra 10 dk

oda sıcaklığında bekletilerek, 390 nm dalga boyunda açığa çıkan sarı renkli kompleksin absorbansının okunmasıyla ölçüldü. Sonuçlar 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 μM KH_2PO_4 çözeltisinden hazırlanarak elde edilen standart eğri üzerinden değerlendirildi (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Fosfat derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki.

3.2.4. Toplam Protein Analizi

Homojenize edilen solungaç ve bağırsak örnekleri santrifüj edildikten sonra elde edilen supernatantlarda Lowry metodu (Lowry ve ark., 1951) ile protein analizi yapıldı.

Prensip: Proteinlerin alkali bakır sülfat ilavesiyle, fosfotungustik asit ile mavi renkli kompleks oluşturma esasına dayanır. Oluşan bu renkli bileşiğin ise spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda absorbansı ölçülerek kantitatif olarak protein miktarları tespit edilir. Proteinlerin çoğunda tirozin veya triptofan veya her iki aminoasit eşit oranlarda bulunmaktadır. Bu aminoasitler, fosfotungstik-fosfo molibdik asidi (Folin-Ciocalteu) redükleyerek mavi renk verirler. Bu metod ile, proteinler önce alkali ortamda bakır iyonu ile reaksiyona girerek bakır-protein kompleksini oluşturur, daha sonra ortama Folin-Ciocalteu çözeltisi eklendiğinde bakır-protein kompleksi, tirozin ve triptofan kökleriyle birleşir.

Ayıraçlar:

1- Ayıraç A: % 2 Na_2CO_3 (0.1 N NaOH içinde). 2 g Na_2CO_3 tartılarak 0.1 N NaOH içinde çözünmesi sağlanmıştır.

2- Ayıraç B1: % 1 $CuSO_4.5H_2O$. 1 g $CuSO_4.5H_2O$ tartılıp, 100 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır.

3- Ayıraç B2: % 2 Na-K-Tartarat. 2 g Na-K-Tartarat tartılıp 100 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır.

4- Ayıraç C: 50 hacim ayıraç A+1 hacim eşit oranda karıştırılan ayıraç B1 ve B2.

5- Folin-Ciocalteu Ayıracı: Kullanılırken 1'e 1,5 oranında seyreltilmelidir.

6- Standart bovin albumin çözeltisi: Bovin albuminden 0,1 g tartılarak 100 mL distile suda çözünmesi sağlanır. Böylece 1 mL'de 1 mg (1000 μg) bovin albumin olacak şekilde stok bovin albumin çözeltisi hazırlanmış olur. Stok bovin albumin çözeltisinden 100-200-300-400-500-600-700 μg / mL olacak şekilde standart çözeltiler hazırlandı.

Deney tüplerine hazırlanan standart çözeltilerden ve örneklerden 0,3 mL konularak üzerlerine 3 mL ayıraç C eklendi ve karıştırılarak 15 dk oda sıcaklığında bekletildi. Bu süre sonunda her tüpe 0,3 mL Folin-Ciocalteu konarak tüpler iyice karıştırıldı ve oda sıcaklığında 30 dk bekletildi.

Deneyin Yapılışı:

Standart Çözeltilerin Hazırlanması:

Standart 1 = 100 μg : 0.1 mL stok bovin albumin + 0.9 mL disti,le su
Standart 2 = 200 μg : 0.2 mL stok bovin albumin + 0.8 mL distile su
Standart 3 = 300 μg : 0.3 mL stok bovin albumin + 0.7 mL distile su
Standart 4 = 400 μg : 0.4 mL stok bovin albumin + 0.6 mL distile su
Standart 5 = 500 μg : 0.5 mL stok bovin albumin + 0.5 mL distile su
Standart 6 = 600 μg : 0.6 mL stok bovin albumin + 0.6 mL distile su
Standart 7 = 700 μg : 0.7 mL stok bovin albumin + 0.7 mL distile su

7 Deney tüpü alınarak bu deney tüplerine yukarıdaki farklı derişimlerdeki standart çözeltilerden 0.3 mL konuldu. Bunların üzerlerine 3 mL Ayıraç C ilave edilerek karıştırıldı ve 15 dk oda sıcaklığında beklenmeleri sağlandı. Bu süre sonunda her bir tüpe 0.3 mL Folin Ciocalteu konarak oda sıcaklığında 30 dk bekletildi.

Çizelge 3.3. Protein Analiz Şeması.

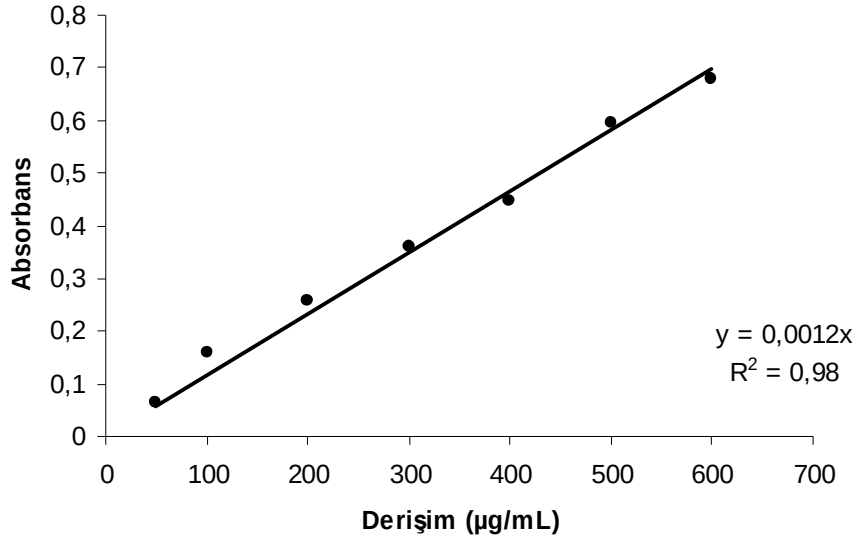
	KÖR	STANDART	NUMUNE
SAF SU	0.3	-	-
STANDART	-	0.3	-
NUMUNE	-	-	0.3
AYIRAÇ-C	3.0	3.0	3.0

Tüpler karıştırılır ve oda ısısında 15 dakika bekletilir.

FOLİN CIOCELTEAU	0.3	0.3	0.3

Tüpler karıştırılır ve oda ısısında 30 dakika bekletilir.

Bu sürenin sonunda oluşan mavi renkli kompleks, 750 nm dalga boyunda su körüne karşı okundu. *O. niloticus* dokularında toplam protein düzeyini belirlemek için stok serum sığır serum albumini çözeltisinden uygun seyreltmeler yapılarak 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600 µg/mL olacak şekilde hazırlanan standart derişimlerine karşılık gelen absorbans değerleri aracılığıyla çizilen standart eğride regresyon eşitliği y = 0,0012x olarak bulundu (Şekil 3.2.). Burada y absorbans değerini, x ise derişimi göstermektedir.



Şekil 3.2. Sığır albuminden hazırlanan standart derişimler ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki.

Buna göre 0,1 µg/mL Cd^{+2} etkisinde 1 nolu *O. niloticus*'un solungacında 3. gün sonunda toplam protein düzeyi:

y = 0,0012x

Absorbans: y = 0,464

$$\text{Derişim (x)} = \frac{0,464}{0,0012}$$

Derişim = 0,386 mg/mL

Doku homojenatı ve doku tamponla 10'ar mL'ye seyreltildiği için

Derişim = 0,386 x 10 x 10

Derişim = 38,6 mg prot./ g yaş ağırlık (y.a.)

Aynı regresyon eşitliği kullanılarak Cu^{+2} etkisindeki deney grubunda ve kontrol grubunda iki tekrarlı olmak üzere toplam protein düzeyleri hesaplandı.

3.2.5. ATPaz Aktivitesinin Hesaplanması

$$\text{ATPaz aktivitesi} = \frac{\text{OD}/0{,}0015^{*} \text{ x } 4{,}5 \text{ (mL)}}{1000 \text{ x } 0{,}03 \text{ (mL) x } 0{,}5 \text{ (sa.) x mg prot./mL}}$$

= µmol Pi/mg prot./sa.

* = İnorganik fosfat regresyon eşitliği (y = 0,0015x)

0,1 µg/mL Cd^{+2} etkisinde 1 nolu *O. niloticus*'un solungacında 3. gün sonunda Na^{+}/K^{+}-ATPaz aktivitesi:

Absorbans: y = 0,233

$$Na^{+}/K^{+}\text{-ATPaz aktivitesi} = \frac{0{,}233/0{,}0015 \text{ x } 4{,}5 \text{ (mL)}}{1000 \text{ x } 0{,}03 \text{ (mL) x } 0{,}5 \text{ (sa.) x } 3{,}86 \text{ mg prot./mL}}$$

Na^{+}/K^{+}-ATPaz aktivitesi = 12,07 µmol Pi/mg prot./sa.

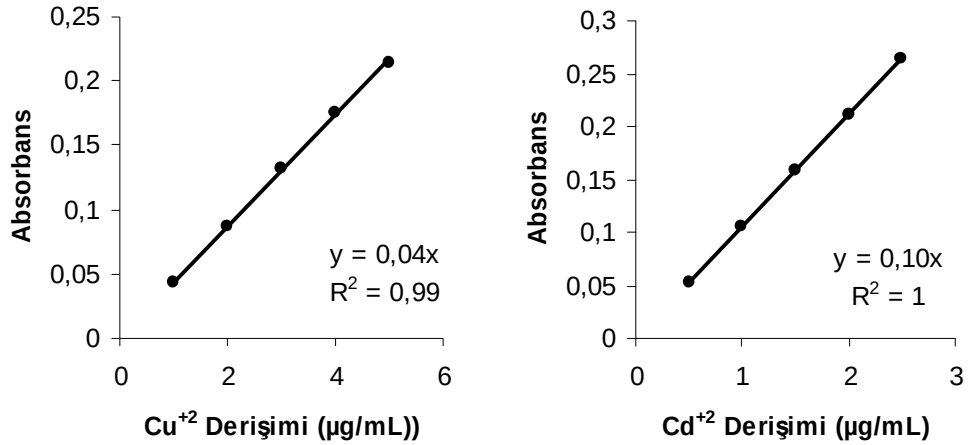
3.2.6. Metal ve İyon Analizi

Toplam metal analizi için dokular 105 ^{0}C'de 5 gün süreyle sabit ağırlığa ulaşana kadar kurumaya bırakıldı. Bu süre sonunda dokular, kuru ağırlıkları saptandıktan sonra üzerlerine 2 mL perklorik asit ve 4 mL nitrik asit ilavesiyle 100 ^{0}C'de 4,5 saat süreyle çeker ocaklı ortamda yakıldı. Örneklerin tamamı homojen olarak yakıldıktan sonra plastik tüplere alınarak 10 mL'ye distile su ile seyreltildi ve atomik absorbsiyon spektrofotometresinde (Perkin Elmer AS 3100- SpectrAA 220 FS-Flame Photometer Jenway PFP7) okundu. Cd^{+2} ve Cu^{+2} için saptama sınırları ile dalga boyları sırasıyla 0,001 ve 0,002 µg/mL ile 228,8 ve 324,7 nm'dir. Na^{+}, K^{+} ve Mg^{+2} için ise saptama sınırları ile dalga boyları sırasıyla 2,0, 15,0 ve 0,0001 µg/mL ile 330,3, 404,4 ve 285,2 nm'dir. Atomik absorbsiyon spektrofotometresinin ve ölçümlerin doğruluğu referans materyal (TORT 1 istakoz hepatopankreası, National

Research Council, Canada) kullanılarak kontrol edildi ve ortalama ile standart hatasının % 10 aralığında olduğu belirlendi.

3.2.7. Metal Derişiminin Hesaplanması

Cd^{+2} ve Cu^{+2} etkisinde kalan deney gruplarında ve kontrol gruplarında, metal standartları ile absorbansları arasındaki doğrusal ilişkiyi gösteren standart grafikler (Şekil 3.3) kullanılarak metal birikim düzeyleri belirlendi.



Şekil 3.3. Metal derişimleri ve absorbansları arasındaki doğrusal ilişki.

Cd^{+2} etkisinde kalan örneklerde, Cd^{+2} birikimini belirlemek için stok çözeltiden uygun seyreltmelerle hazırlanan 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 µg/mL derişimlerindeki Cd^{+2} standartlarının absorbans değerleri ile y = 0,10x regresyon eşitliği elde edildi. Denklemdeki y absorbansı, x ise kadmiyum derişimini göstermektedir (Şekil 3.3.).

Toplam metal düzeyleri belirlenirken, regresyon eşitlikleri kullanılarak hesaplamalar yapıldı.

1 µg/mL Cd^{+2} etkisinde 1 nolu *Oreochromis niloticus*'un solungacında 3. gün sonunda Cd^{+2} derişimi:

$y = 0,10x$

Absorbans: $y = 0,007$

$$\text{Derişim (x)} = \frac{0,007}{0,10}$$

Derişim = 0,07 µg/mL Cd^{+2}

Doku asitle yakıldıktan sonra 10 mL'ye tamamlandığı için

Derişim = 0,07 x 10

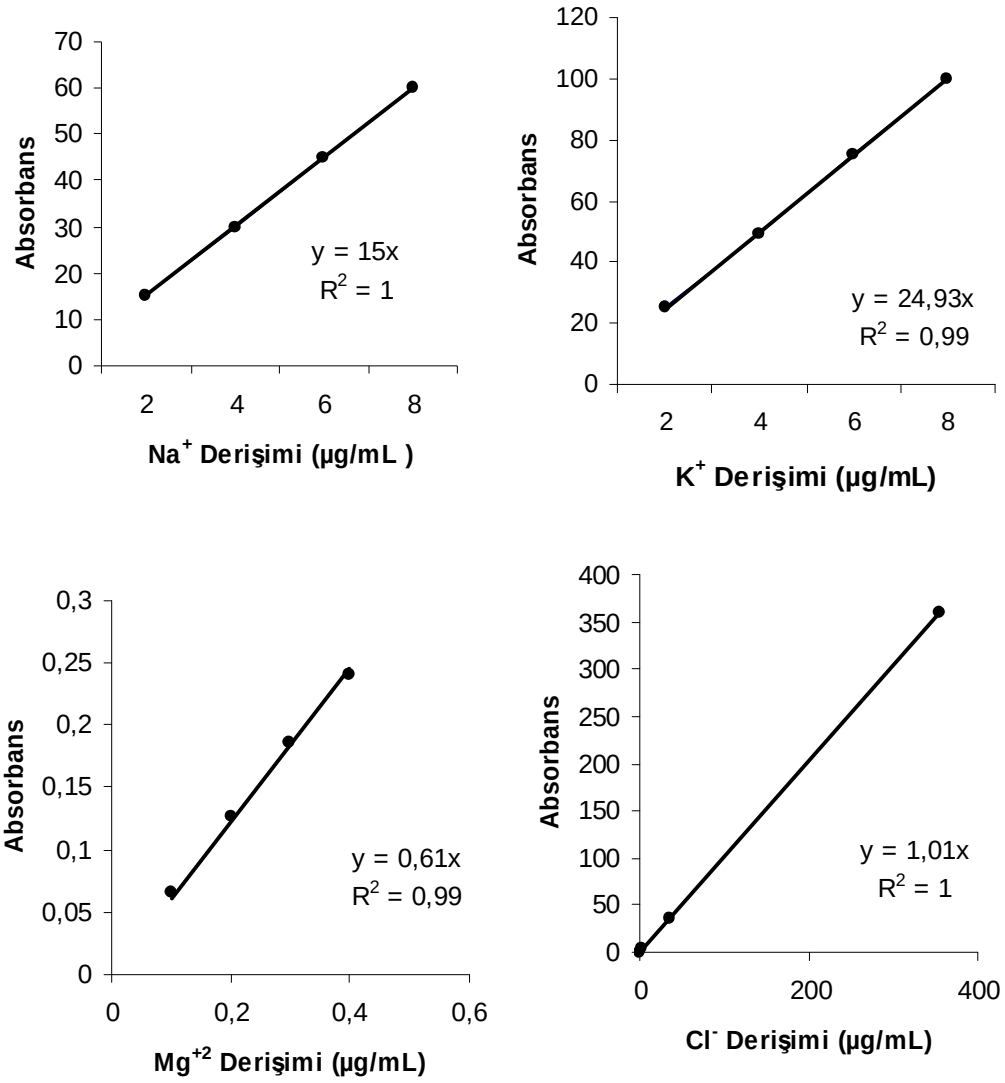
Derişim = 0,1 µg Cd^{+2}

Cd^{+2} etkisindeki deney grubunda solungaç dokusunun kuru ağırlığı 0,0843 g olarak tespit edildi. Buna göre 1 g dokudaki Cd^{+2} derişimi:

$$\text{Derişim} = \frac{0,1}{0,0843}$$

Derişim = 1,19 µg Cd^{+2}/g kuru ağırlık (k.a.)

Toplam metal düzeyi diğer Cu^{+2} ve Cd^{+2} etkisinde kalan deney grupları ve kontrol grupları için de aynı şekilde hesaplandı.



Şekil 3.4. İyon derişimleri ve absorbansları arasındaki doğrusal ilişki.

3.2.8. İyon Derişiminin Hesaplanması

Toplam iyon düzeyleri, kontrol ve metal etkisinde kalan gruplarda Na^{+}, K^{+} ve Mg^{+2} standartları ile absorbans değerleri arasındaki ilişkileri gösteren standart eğriler (Şekil 3.4.) kullanılarak hesaplandı ve bu değerler Çizelge 3.3'de gösterildi.

1 µg/mL Cd^{+2} etkisinde 1 nolu *Oreochromis niloticus*'un solungacında 3. gün sonunda Na^{+} derişimi:

$y = 15x$

Absorbans: y

$$\text{Derişim (x)} = \frac{5}{15}$$

Derişim = 0,33 µg/mL Na^+

Doku asitle yakıldıktan sonra 10 mL'ye seyreltildiği için

Derişim = 0,33x 10

Derişim = 3,3 mg Na^+

Cd^{+2} etkisindeki deney grubunda solungaç dokusunun kuru ağırlığı 0,0843 g olarak ölçüldü. Buna göre 1 g dokudaki Na^+ derişimi:

$$\text{Derişim} = \frac{3,3}{0,0843}$$

Derişim = 39,15 mg Na^+/g k.a.

Toplam iyon düzeyi diğer Cu^{+2} ve Cd^{+2} etkisinde kalan deney grupları ve kontrol grupları için de aynı şekilde hesaplandı.

3.2.9. İstatistik

Bu çalışmadaki istatistiksel analizler, SPSS yardımıyla "Regresyon Analizi" ve "One-way ANOVA" kullanılarak yapıldı. Kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel bir ayırım gözlendiğinde ($P<0.05$), hangi grup veya grupların farklı olduğu post-hoc testlerinden Duncan-test kullanılarak belirlendi. Grafik çizimleri ise Microsoft Excel programı kullanılarak çizildi

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi

Kontrol, Cd^{+2} ve Cu^{+2}'nin 1,0 µg/mL derişimlerinin 1, 3, 7 ve 14 gün süre ile etkisinde kalan *O. niloticus*'ların solungaç ve bağırsak dokularında Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi ölçüldü. Deney süresi boyunca Cd^{+2} ve Cu^{+2}'nin etkisinde kalan balıklarda ölüm gözlenmedi.

4.1.1.1. Kontrol Grubu Balıklar

4.1.1.1.(a). Normal Kontrol Grubu

Elde edilen veriler, kontrol grubu balıkların solungaç dokusunda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin 3,22±0,31 µmol Pi/mg prot./sa., düzeyinde olduğunu gösterdi (Şekil 4.1.).

Bağırsak dokusunda ise kontrol grubu balıklarda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi 1,01±0,05 µmol Pi/mg prot./sa., düzeyinde olduğu belirlendi (Şekil 4.5.).

4.1.1.1.(b). 2ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi

Kontrol+2ppt grubu balıklarda solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi artış gösterirken, bu artışın %24 ile %32 oranlarında değiştiği belirlendi. Kontrol+2ppt etkisinde en düşük aktivite 7. günde 3,99±0,15 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek aktivite 14. günde 4,32±0,17 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak belirlendi (Şekil 4.1.).

Bağırsak dokusunda Kontrol+2ppt grubu balıklarda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi %74 ile %141 oranlarında artış gösterdi. Kontrol+2ppt etkisinde en düşük aktivite

1.günde 1,76±0,26 µmol Pi/mg prot./sa. (P<0,05) olarak, en yüksek aktivite 14. günde 2,76±0,12 µmol Pi/mg prot./sa. (P<0,05) olarak belirlendi (Şekil 4.5.).

4.1.1.1.(c). 4ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi

Solungaç dokusuda Kontrol+4ppt grubu balıklarda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi artış gösterirken, bu artışın %40 ile %116 oranlarında değiştiği belirlendi. Kontrol+4ppt etkisinde en düşük aktivite 1.günde 4,28±0,49 µmol Pi/mg prot./sa. (P<0,05) olarak, en yüksek aktivite ise 14. günde 7,36±0,32 µmol Pi/mg prot./sa. (P<0,05) olarak ölçüldü (Şekil 4.1.).

Bağırsak dokusunda Kontrol+4ppt grubu balıklarda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinde artış gösterirken, bu artışın %177 ile %411 oranlarında değiştiği belirlendi. Kontrol+4ppt etkisinde en düşük aktivite 1.günde 2,83±0,44 µmol Pi/mg prot./sa. (P<0,05) olarak, en yüksek aktivite 14. günde 5,85±0,04 µmol Pi/mg prot./sa. (P<0,05) olarak belirlendi (Şekil 4.5.).

4.1.1.1.(d). 8ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi

Solungaç dokusuda Kontrol+8ppt grubu balıklarda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi hem artış hem azalış göstermiştir, %25 oranında artarken, %6 ile %29 oranlarında azaldığı belirlendi. Kontrol+8ppt etkisinde en düşük aktivite 1.günde 2,19±0,14 µmol Pi/mg prot./sa. (P<0,05) olarak, en yüksek aktivite ise 14. günde 4,26±0,25 µmol Pi/mg prot./sa. (P<0,05) olarak belirlendi (Şekil 4.1.).

Bağırsak dokusunda Kontrol+8ppt grubu balıklarda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinde artış gösterirken, bu artışın %62 ile %122 oranlarında değiştiği belirlendi. Kontrol+8ppt etkisinde en düşük aktivite 1.günde 1,91±0,08 µmol Pi/mg prot./sa. (P<0,05) olarak, en yüksek aktivite ise 3. günde 2,33±0,43 µmol Pi/mg prot./sa. (P<0,05) olarak belirlendi (Şekil 4.5.).

4.1.1.2. Kadmiyum Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi

4.1.1.2.(a). 2ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi

Solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinde hem artış hem azalış gösterdi. Enzim aktivitesi %4 ile %10 oranlarında artarken, %10 ile 28 oranlarında azaldı. En düşük aktivite 7.günde 2,32±0,15 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek aktivite ise 1. günde 3,36±0,09 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak belirlendi (Şekil 4.2.)

Bağırsak dokusunda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi hem artış hem azalış gösterdi. Buna göre enzim aktivitesi, %64 ile %79 oranlarında artarken, %1 ile 20 oranlarında azaldı. En düşük aktivite 1.günde 0,81±0,08 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek aktivite ise 7. günde 2,21±0,11 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak ölçüldü (Şekil 4.6.).

4.1.1.2.(b). 4ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi

Solungaç dokusunda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi hem artış hem azalış gösterdi. Enzim aktivitesi %17 ile %50 oranlarında artarken, %6 oranında azaldı. En düşük aktivite 7.günde 3,03±0,34 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek aktivite ise 1. günde 4,60±0,34 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak belirlendi (Şekil 4.3.).

Bağırsak dokusunda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi artış gösterdi. Buna göre enzim aktivitesi %10 ile %66 oranlarında arttığı belirlendi. En düşük aktivite 3.günde 1,35±0,27 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek aktivite 14. günde 1,79±0,05 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak ölçüldü (Şekil 4.7.).

4.1.1.2.(c). 8ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi

Solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi hem artış hem azalış gösterdi. Enzim aktivitesi %39 ile %128 oranlarında artarken, %44 oranında azaldı. En düşük aktivite 7.günde 2,07±0,52 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek aktivite ise 3. günde 7,16±0,10 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak belirlendi (Şekil 4.4.).

Bağırsak Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin %21 ile %278 oranlarında arttığı belirlendi. En düşük aktivite 14.günde 1,38±0,36 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek aktivite ise 1. günde 3,65±0,30 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak belirlendi (Şekil 4.8.).

4.1.1.3. Bakır Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi

4.1.1.3.(a). 2ppt Bakır Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi

Solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi %5 ile %34 oranlarında artış gösterdi. En düşük enzim aktivitesi 3,38±0,51µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek enzim aktivitesi 14. günde 4,56±0,07 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak belirlendi (Şekil 4.2.).

Bağırsak Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi hem artış hem azaldı. Enzim aktivitesi %43 ile %105 oranlarında arttı ve %21 oranında azaldı. En düşük enzim aktivitesi 0,79±0,05 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek enzim aktivitesi ise 14.günde 2,50±0,54 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak belirlendi (Şekil 4.6.).

4.1.1.3.(b). 4ppt Bakır Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi

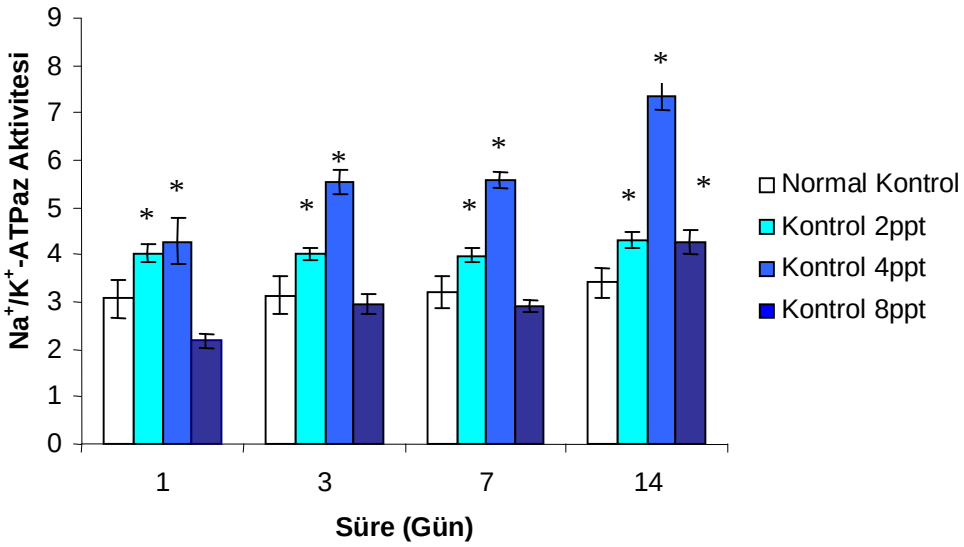
Solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi hem artış hem azalış gösterdi. Enzim aktivitesi %2 ile %68 oranlarında arttı ve %3 oranında azaldı. En yüksek enzim aktivitesi 14.günde 5,72±0,54 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak belirlendi (Şekil 4.3.).

Bağırsak Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi %23 ile %184 oranlarında arttı. En düşük aktivite 3. günde 1,30±0,05 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek aktivite ise 14.günde 3,25±0,15 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak belirlendi (Şekil 4.7.).

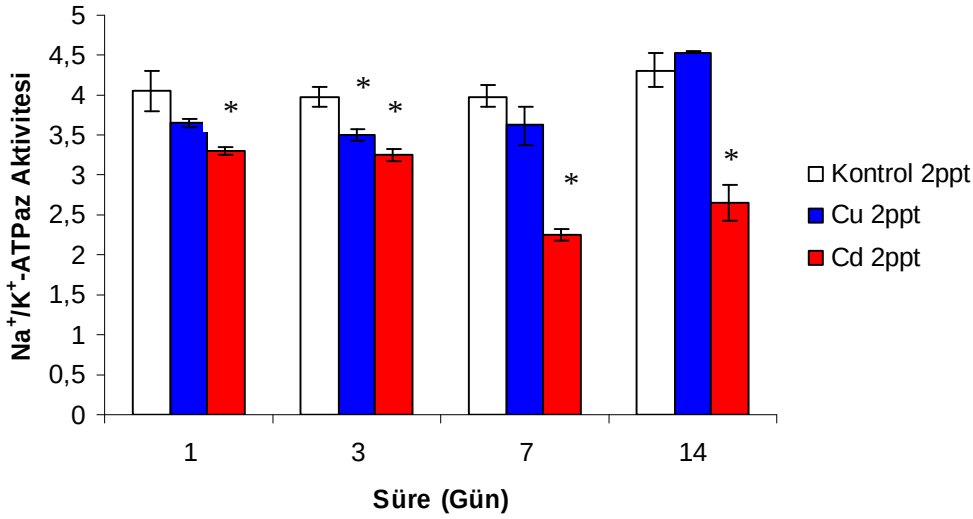
4.1.1.3.(c). 8ppt Bakır Etkisinde Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi

Solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi hem artış hem azalış gösterdi. Enzim aktivitesi %15 ile %150 oranlarında arttı ve %25 oranında azaldı. En düşük aktivite 1.günde 2,29±0,15 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek aktivite ise 14.günde 8,40±0,44 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak belirlendi (Şekil 4.4.).

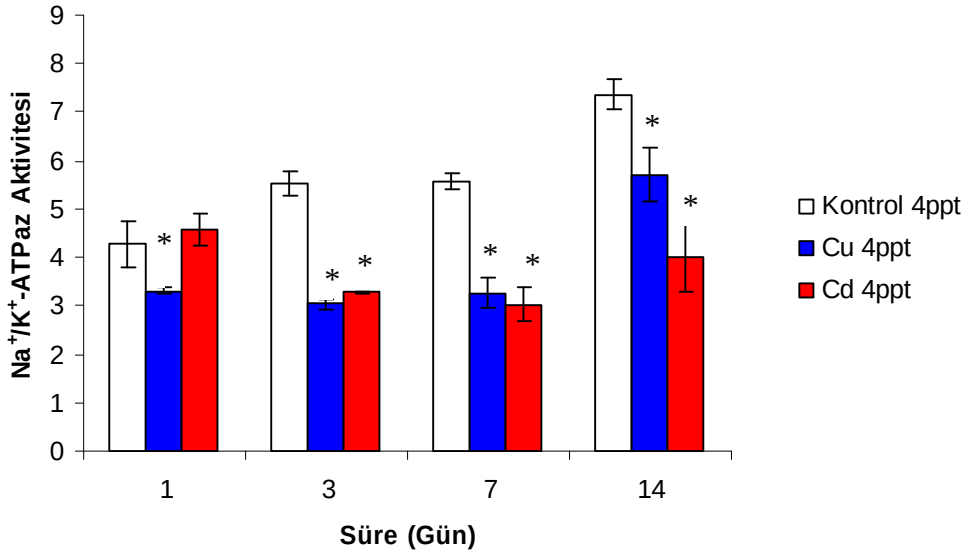
Bağırsak Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi %155 ile %219 oranlarında arttığı belirlendi. En düşük aktivite 1.günde 2,57±0,24 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak, en yüksek aktivite 14.günde 5,89±0,49 µmol Pi/mg prot./sa. ($P<0,05$) olarak belirlendi (Şekil 4.8.).



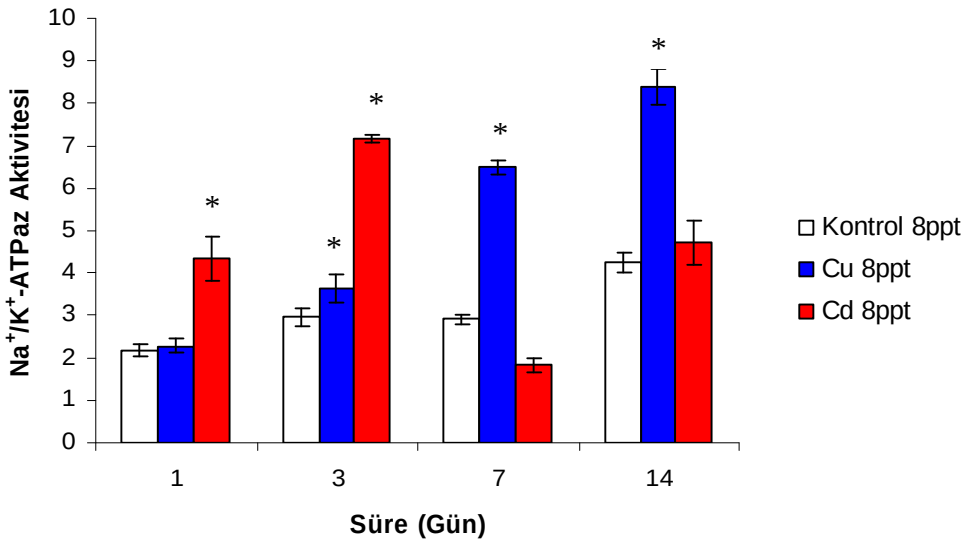
Şekil 4.1. Normal kontrol ve farklı tuzluluk kontrollerinin etkisinde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi.



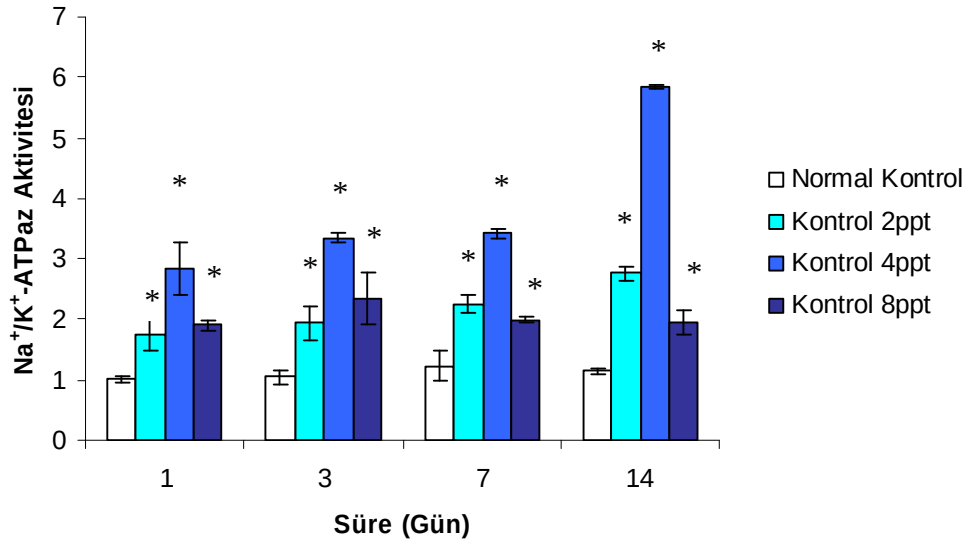
Şekil 4.2. 1,0 µg/mL metal + 2ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi.



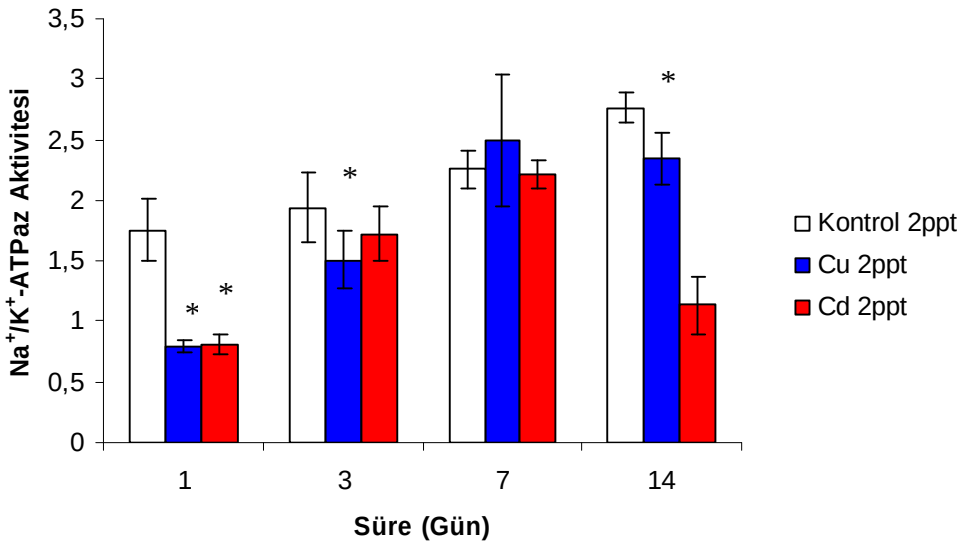
Şekil 4.3. 1,0 µg/mL metal + 4ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi.



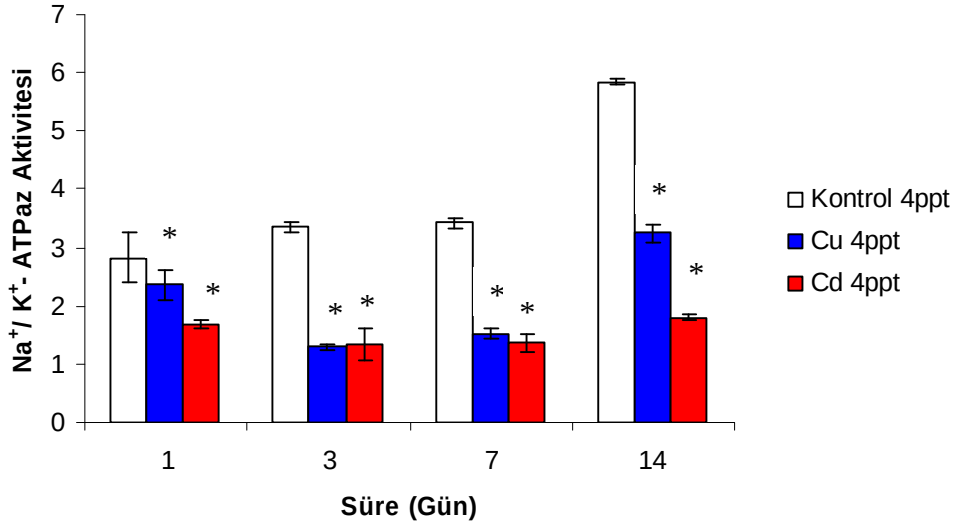
Şekil 4.4. 1,0 µg/mL metal + 8ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde *O. niloticus*'un solungaç dokusunda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi.



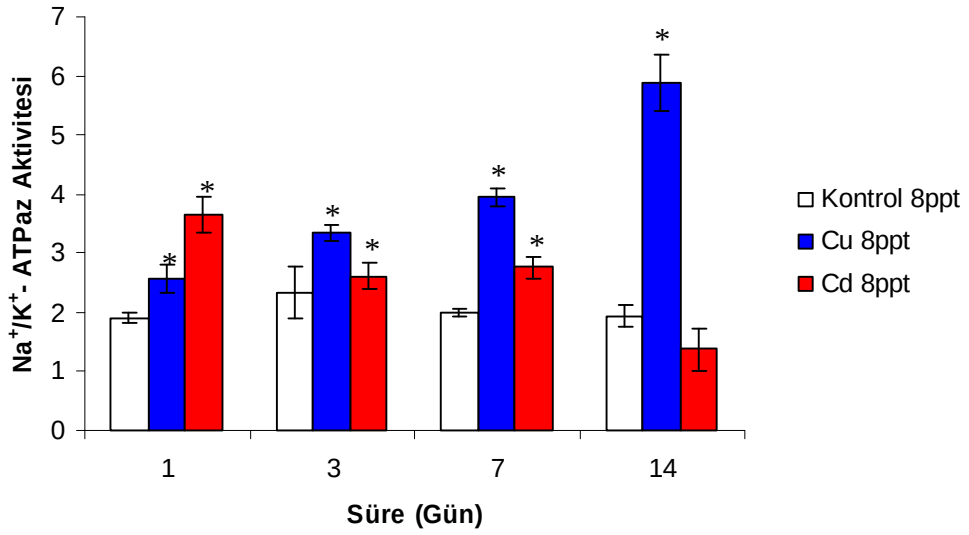
Şekil 4.5. Normal kontrol ve farklı tuzluluk kontrollerinin etkisinde *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi.



Şekil 4.6. 1,0 µg/mL metal + 2ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde O. niloticus bağırsak dokusunda Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi .



Şekil 4.7. 1,0 µg/mL metal + 4ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi.



Şekil 4.8. 1,0 µg/mL metal + 8ppt tuzluluk etkisinde ve farklı sürelerde *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda Na^{+}/K^{+} -ATPaz aktivitesi.

4.1.2. Toplam Metal Düzeyi

4.1.2.1. Bakır Düzeylerinin Belirlenmesi

4.1.2.1.(1). Kontrol Gruplarında Bakır Düzeylerinin Belirlenmesi

Normal Kontrol grubu ve tuzluluk kontrol gruplarının (2, 4, 8 ppt) etkisindeki *O. niloticus*'ların solungaç ve bağırsak dokularında bakır düzeyleri saptama sınırlarının altında belirlendi (Cu^{+2}: S.S.<0,002).

4.1.2.1.(2). Bakır ve Tuz Etkisinde Bulunan Gruplarda Bakır Düzeylerinin Belirlenmesi

Solungaç dokusunda Cu^{+2}+2ppt etkisinde Cu^{+2} düzeyi sadece 14. gün sonunda gözlendi (12,7±0,9 µg/g k.a.) (P<0,05) (Çizelge 4.1.). Bağırsak dokusunda Cu^{+2}+2ppt etkisinde Cu^{+2} düzeyi sadece 14. gün sonunda gözlendi (154,7±5,5 µg/g k.a.) (P<0,05) (Çizelge 4.1.).

Solungaç dokusunda Cu^{+2}+4ppt etkisinde Cu^{+2} birikim düzeyi en yüksek 14. günde belirlendi (5,3±1,4 µg/g k.a.) (P<0,05) (Çizelge 4.2.). Bağırsak dokusunda Cu^{+2}+4ppt etkisinde Cu^{+2} birikim düzeyi en yüksek en uzun etki süresi sonunda gözlendi (74,7±4,0 µg/g k.a.) (P<0,05) (Çizelge 4.2.) .

Solungaç Cu^{+2}+8ppt etkisinde Cu^{+2} birikim düzeyi en yüksek 14. günde ölçüldü (5,5±0,5 µg/g k.a.) (P<0,05) (Çizelge 4.3.). Bağırsak dokusunda bakır düzeyleri, 14. gün sonunda en yüksek düzeyde saptandı (51,5±3,5 µg/g k.a.) (P<0,05) (Çizelge 4.3.).

4.1.2.2. Kadmiyum Düzeylerinin Belirlenmesi

4.1.2.2.(1). Kontrol Gruplarında Kadmiyum Düzeylerinin Belirlenmesi

Normal kontrol ve tuzluluk kontrol gruplarının solungaç ve bağırsak dokusunda Cd^{+2} saptama sınırlarının altında belirlenmiştir (S.S.<0,001).

4.1.2.2.(3). Kadmiyum ve Tuz Etkisinde Bulunan Gruplarda Kadmiyum Düzeylerinin Belirlenmesi

Solungaç dokusunda Cd^{+2}+2ppt etkisinde Cd^{+2} birikim düzeyi 14. günsonunda en yüksek düzeyde belirlendi (23,6±5,95 µg/g k.a.) (P<0,05) (Çizelge 4.1.). Bağırsak dokusunda ise Cd^{+2} birikim düzeyi en uzun etki süresi sonunda artarak en yüksek düzeyde belirlendi (251,6±90,7 µg/g k.a.) (P<0,05). (Çizelge 4.1.).

Solungaç dokusunda Cd^{+2}+4ppt etkisinde Cd^{+2} birikim düzeyi artarak en uzun etki süresi sonunda en yüksek düzeyde kaydedildi (53,9±19,1 µg/g k.a.) (P<0,05). (Çizelge 4.2.). Bağırsak dokusunda ise Cd^{+2} birikim düzeyi 14. gün sonunda en yüksek düzeyde belirlendi (182,7±46,5 µg/g k.a.) (P<0,05) (Çizelge 4.2.).

Solungaç dokusunda Cd^{+2}+8ppt etkisinde birikim düzeyi en yüksek düzeyde ölçüldü (75,8±6,5 µg/g k.a.) ($P<0,05$) (Çizelge 4.3.). Bağırsak dokusunda ise Cd^{+2} birikim düzeyi etki süresi sonunda artarak en yüksek düzeyde kaydedildi (144,4±45,4 µg/g k.a.) ($P<0,05$) (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.1. Tuzluluk (2 ppt) ve metal etkisinde farklı sürelerde *O. niloticus* dokularındaki total metal düzeyleri (µg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıklar; *: $P<0,05$ düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik verileri belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K2ppt (Cu^{+2})	1	<0,002	<0,002
	3	<0,002	<0,002
	7	<0,002	<0,002
	14	<0,002	<0,002
Cu^{+2} 2ppt	1	<0,002	<0,002
	3	<0,002	<0,002
	7	<0,002	<0,002
	14	12.7±0.9*	154.7±5.5*
K2ppt (Cd^{+2})	1	<0,001	<0,001
	3	<0,001	<0,001
	7	<0,001	<0,001
	14	<0,001	<0,001
Cd^{+2} 2ppt	1	<0,001	<0,001
	3	2.40±0.01*	3.50±0.30*
	7	8.90±1.79*	186.5±0.01*
	14	23.6±5.95*	251.6±45.4*

Çizelge 4.2. Tuzluluk (4 ppt) ve metal etkisinde farklı sürelerde *O. niloticus* dokularındaki total metal düzeyleri (µg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıklar; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik verileri belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K4ppt (Cu^{+2})	1	<0,002	<0,002
	3	<0,002	<0,002
	7	<0,002	<0,002
	14	<0,002	<0,002
Cu^{+2} 4ppt	1	<0,002	<0,002
	3	<0,002	<0,002
	7	<0,002	<0,002
	14	5.3±1.4*	74.7±4.0*
K4ppt (Cd^{+2})	1	<0,001	<0,001
	3	<0,001	<0,001
	7	<0,001	<0,001
	14	<0,001	<0,001
Cd^{+2} 4ppt	1	<0,001	<0,001
	3	4.25±0.01*	43.7±16.6*
	7	5.78±1.80*	157.2±25.1*
	14	53.9±19.1*	182.7±46.5*

Çizelge 4.3. Tuzluluk (8 ppt) ve metal etkisinde farklı sürelerde *O. niloticus* dokularındaki total metal düzeyleri (µg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıklar; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik verileri belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K8ppt (Cu^{+2})	1	<0,002	<0,002
	3	<0,002	<0,002
	7	<0,002	<0,002
	14	<0,002	<0,002
Cu^{+2} 8ppt	1	<0,002	<0,002
	3	<0,002	<0,002
	7	<0,002	<0,002
	14	5.5±0.5*	51.5±3.5*
K8ppt (Cd^{+2})	1	<0,001	<0,001
	3	<0,001	<0,001
	7	<0,001	<0,001
	14	<0,001	<0,001
Cd^{+2} 8ppt	1	<0,001	63.9±20.2*
	3	2.17±0.01*	23.4±8.16*
	7	1.71±0.37*	76.3±23.3*
	14	75.8±6.5*	144.4±45.4*

4.1.3. Toplam İyon Düzeyi

4.1.3.1. Sodyum İyon Düzeyi

4.1.3.1.(1). Kontrol Grupları

O. niloticus'un kontrol gruplarının solungaç dokularında ölçülen Na^+ iyon düzeyi, 4,06±1,05 mg/g k.a. olarak gözlendi (P<0,05) (Çizelge 4.4.). *O. niloticus*'un kontrol gruplarının bağırsak dokularında ölçülen Na^+ iyon düzeyi, 3,24±1,08 mg/g k.a. olarak gözlendi (P<0,05) (Çizelge 4.4.).

4.1.3.1.(1).(b). 2ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 4,09±1,27 ile 9,48±0,49 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük 7. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 1. günde gözlendi (P<0,05) (Çizelge 4.4.).

O. niloticus'un bağırsak dokusunda 4,20±1,99 ile 48,53±4,71 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 3. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 7. günde gözlendi (P<0,05) (Çizelge 4.4.).

4.1.3.1.(1).(c). 4ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 2,58±0,09 ile 8,28±0,40 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 1. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 3. günde gözlendi (P<0,05) (Çizelge 4.4.).

O. niloticus'un bağırsak dokusunda 1,55±1,29 ile 20,34±0,30 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 3. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 7. günde gözlendi (P<0,05) (Çizelge 4.4.).

4.1.3.1.(d). 8ppt Tuzluluk Etkisinde Na^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 2,19±0,80 ile 5,05±0,16 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 3. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 14. günde gözlendi (P<0,05) (Çizelge 4.4.).

O. niloticus'un bağırsak dokusunda 0,62±0,10 ile 33,01±16,55 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 3. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 7. günde gözlendi (P<0,05) (Çizelge 4.4.).

4.1.3.1.(2). Kadmiyum Etkisinde Na^+ Düzeyi

4.1.3.1.(2).(a). 2ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 3,44±0,72 ile 4,28±0,46 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 3. günde ($P<0,05$), en yüksek düzeyi ise 14. günde ($P<0,05$) gözlendi (Çizelge 4.5.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda Na^+ düzeyi Kontrol-2ppt ile karşılaştırıldığında herhangi bir ayırım göstermemiştir ($P>0,05$) (Çizelge 4.5.).

4.1.3.1.(2).(b). 4ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 3,23±0,14 ile 5,45±0,68 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 3. günde ($P<0,05$) gözlendi (Çizelge 4.6.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda Cd^{+2}-4 ppt grubunda Na^+'nın en düşük düzeyi 1. günde ($P<0,05$), en yüksek düzeyi ise 7. günde ($P<0,05$) gözlendi (Çizelge 4.6.).

4.1.3.1.(2).(c). 8ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Na^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 5,09±0,73 ile 13,47±0,03 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 3. günde ($P<0,05$), en yüksek düzeyi ise 1. günde ($P<0,05$) gözlendi (Çizelge 4.7.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 3,10±0,08 ile 6,93±2,09 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 3. günde ($P<0,05$), en yüksek düzeyi ise 7. günde ($P<0,05$) gözlendi (Çizelge 4.7.).

4.1.3.1.(3). Bakır Etkisinde Na^+ Düzeyi

4.1.3.1.(3).(a). 2ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Na^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 4,03±0,64 ile 7,37±0,50 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 7. günde (P>0,05), en yüksek düzeyi ise 1. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.5.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 0,78±0,36 ile 58,98±48,14 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 1. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 7. günde (P>0,05) gözlendi (Çizelge 4.5.).

4.1.3.1.(3).(b). 4ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Na^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 2,80±0,36 ile 5,03±0,28 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 3. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 14. günde (P>0,05) gözlendi (Çizelge 4.6.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 2,31±0,60 ile 60,68±0,27 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 3. günde (P>0,05), en yüksek düzeyi ise 1. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.6.).

4.1.3.1.(3).(c). 8ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Na^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 2,59±0,60 ile 4,65±0,61 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 1. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 3. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.7.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 3,29±0,60 ile 30,36±1,47 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Na^+'nın en düşük düzeyi 3. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 7. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.4. Kontrol *O. niloticus* dokularında farklı tuz derişimi ve sürelerde Na^+ düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir. K: Kontrol balıklar; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik verileri belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K2ppt	1	9.48±0.49*	4.29±1.72
	3	6.66±1.79*	4.20±1.99
	7	4.09±1.27	48.53±4.71*
	14	6.88±0.03*	4.67±3.15
K4ppt	1	2.58±0.09	3.40±0.36
	3	8.28±0.40*	1.55±1.29
	7	4.94±0.88	20.34±0.30*
	14	4.19±0.51	4.39±0.59
K8ppt	1	4.78±0.17	2.48±0.95
	3	2.19±0.80	0.62±0.10*
	7	4.50±0.91	33.0±16.55*
	14	5.05±0.16	4.82±2.17

Çizelge 4.5. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 2 ppt tuz etkisinde Na^{+} düzeyleri (mg/g k.a.).Veriler Aritmetik ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K2ppt	1	9.48±0.49	4.29±1.72
	3	6.66±1.79	4.20±1.99
	7	4.09±1.27	48.53±4.71
	14	6.88±0.03	4.67±3.15
Cu^{+2} 2ppt	1	7.37±0.50*	0.78±0.36*
	3	4.24±0.81	2.87±0.11
	7	4.03±0.64	58.98±48.13
	14	5.05±0.98*	3.87±0.30
Cd^{+2} 2ppt	1	3.63±0.78*	2.69±0.43
	3	3.44±0.72	2.79±1.27
	7	3.71±0.51	13.41±2.54
	14	4.28±0.46*	3.65±0.94

Çizelge 4.6. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 4 ppt tuz etkisinde Na^{+} düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K4ppt	1	2.58±0.09	3.40±0.36
	3	8.28±0.40	1.55±1.29
	7	4.94±0.88	20.34±0.30
	14	4.19±0.51	4.39±0.59
Cu^{+2} 4ppt	1	2.99±0.64	60.68±0.27*
	3	2.80±0.36*	2.31±0.60
	7	3.02±0.80	31.68±3.39*
	14	5.03±0.28	3.87±0.30
Cd^{+2} 4ppt	1	3.23±0.14	2.69±0.43
	3	5.45±0.68*	2.91±0.17
	7	4.08±0.41	30.89±4.00*
	14	4.06±0.66	3.77±0.53

Çizelge 4.7. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 8 ppt tuz etkisinde Na^+ düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K8ppt	1	4.78±0.17	2.48±0.95
	3	2.19±0.80	0.62±0.10
	7	4.50±0.91	33.0±16.55
	14	5.05±0.16	4.82±2.17
Cu^{+2} 8ppt	1	2.59±0.60*	3.40±2.41
	3	4.65±0.61*	3.29±0.60*
	7	4.01±0.15	30.36±1.47
	14	4.15±0.58	3.86±1.32
Cd^{+2} 8ppt	1	13.47±0.28*	3.87±1.35
	3	5.10±0.47*	3.10±0.08*
	7	5.09±0.73	6.92±2.08
	14	5.51±1.29	4.73±0.41

4.1.3.2. Potasyum İyon Düzeyi

4.1.3.2.(1). Kontrol Grupları

4.1.3.2.(1).(a). Normal Kontrol Grubu

Tuz etkisinde bırakılmayan stok kontrol *O. niloticus*'un solungaç ve bağırsak dokularında K^+ düzeyleri sırasıyla 5,13±0,36 mg/g k.a., 74,5±3,22 mg/g k.a. olarak saptandı (Çizelge 4.8.).

4.1.3.2.(1).(b). 2ppt Tuzluluk Etkisinde K^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaçlarında K^+ düzeyleri, kontrol 2ppt grubunda stok kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında 4,10±0,73 ile 12,3±0,44 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+nın en düşük düzeyi en uzun etki süresi sonunda en yüksek düzeyi ise 1. günde ($P<0,05$) gözlendi (Çizelge 4.8.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 69,6±12,0 ile 274,2±46,7 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi en uzun etki süresi sonunda ($P>0,05$) en yüksek düzey ise 7. günde ($P<0,05$) gözlendi (Çizelge 4.8.).

4.1.3.2.(1).(c). 4ppt Tuzluluk Etkisinde K^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 3,29±0,58 ile 8,59±1,65 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi K+4ppt etkisinde stok kontrol grubuna göre 14. günde, en yüksek düzeyi ise 3. günde ($P<0,05$) saptandı (Çizelge 4.8.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 37,2±13,5 ile 81,4±5,04 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi K+4ppt stok kontrol grubuna göre herhangi bir ayırım göstermediği kaydedildi ($P>0,05$) (Çizelge 4.8.).

4.1.3.2.(1).(d). 8ppt Tuzluluk Etkisinde K^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 3,54±0,90 ile 16.7±0,30 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 3. günde ($P>0,05$), en yüksek düzeyi ise 1. günde ($P<0,05$) saptandı (Çizelge 4.8.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 58,3±12,4 ile 117,6±16,2 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 1. günde ($P>0,05$), en yüksek düzeyi ise 14. günde ($P<0,05$) saptandı (Çizelge 4.8.).

4.1.3.2.(2). Kadmiyum Etkisinde K^+ Düzeyi

4.1.3.2.(2).(a). 2ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde K^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 3,10±0,46 ile 10,0±0,09 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 3. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 1. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.9.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 50,3±28,5 ile 255,8±11,6 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 7. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 1. günde (P<0,05) saptandı (Çizelge 4.9.).

4.1.3.2.(2).(b). 4ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde K^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 4,94±0,10 ile 6,33±0,55 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 7. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 1. günde gözlendi (P<0,05) (Çizelge 4.10). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 2,69±0,43 ile 30,89±4,00 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 1. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 7. günde (P<0,05) saptandı (Çizelge 4.10).

4.1.3.2.(2).(c). 8ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde K^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 6,24±0,57 ile 8,87±4,82 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 7. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 1. günde (P<0,05) belirlendi (Çizelge 4.11.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 78,4±2,60 ile 120,7±20,5 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 1. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 7. günde (P<0,05) belirlendi (Çizelge 4.11.).

4.1.3.2.(3). Bakır Etkisinde K^+ Düzeyi

4.1.3.2.(3).(a). 2ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde K^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 3,66±0,64 ile 13,6±0,44 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 7. günde (P<0,05), en

yüksek düzeyi ise en kısa etki süresinde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.9.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 54,7±28,7 ile 126,5±22,8 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 1. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 7. günde (P>0,05) gözlendi (Çizelge 4.9.).

4.1.3.2.(3).(b). 4ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde K^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 3,49±0,88 ile 9,40±2,05 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'un en düşük düzeyi 3. günde (P<0,05), en yüksek düzeyde 1. günde (P>0,05) gözlendi (Çizelge 4.10.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 69,2±10,6 ile 521,5±1,61 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 3. günde (P>0,05), en yüksek düzeyi ise 1. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.10.).

4.1.3.2.(3).(c). 8ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde K^+ Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 4,16±0,41 ile 5,68±0,32 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 3. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise en uzun etki süresi sonunda (P>0,05) gözlendi (Çizelge 4.11.). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 78,8±2,05 ile 153,1±5,70 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen K^+'nın en düşük düzeyi 3. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 7. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.11.).

Çizelge 4.8. Kontrol *O. niloticus* dokularında farklı tuz derişimi ve sürelerde K^+ düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıklar; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K2ppt	0	5.13±0.36	74.5±3.22
	1	12.3±0.44*	97.1±8.70
	3	5.42±1.22	86.7±1.98
	7	8.52±1.02*	274.2±46.7*
	14	4.10±0.73*	69.6±12.0
K4ppt	0	5.13±0.36	74.5±3.22
	1	5.75±2.19	81.4±5.04
	3	8.59±1.65*	75.5±2.47
	7	5.86±0.79	37.2±13.5
	14	3.29±0.58	72.0±4.08
K8ppt	0	5.13±0.36	74.5±3.22
	1	10.7±0.30*	58.3±12.4
	3	3.54±0.90	72.9±21.0
	7	4.96±0.58	91.3±0.58
	14	6.61±0.2	117.6±16.2*

Çizelge 4.9. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 2 ppt tuz etkisinde K^+ düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K2ppt	1	12.3±0.44	97.1±8.70
	3	5.42±1.22	86.7±1.98
	7	8.52±1.02	274.2±46.7
	14	4.10±0.73	69.6±12.0
Cu^{+2} 2ppt	1	13.6±0.44	54.7±28.7*
	3	3.72±0.14	84.4±2.93
	7	3.66±0.64*	126.5±22.8*
	14	6.52±0.73*	83.2±4.08
Cd^{+2} 2ppt	1	10.0±0.09	255.8±11.6*
	3	3.10±0.46	50.4±7.93*
	7	4.72±0.37*	50.3±28.5*
	14	5.91±0.38	67.5±15.3

Çizelge 4.10. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 4 ppt tuz etkisinde K^+ düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K4ppt	1	5.75±2.19	81.4±5.04
	3	8.59±1.65*	75.5±2.47
	7	5.86±0.79	37.2±13.5
	14	3.29±0.58*	72.0±4.08
Cu^{+2} 4ppt	1	9.40±2.05	521.5±1.61*
	3	3.49±0.88*	69.2±10.6
	7	3.50±0.62*	79.1±1.07
	14	5.56±0.50*	79.3±4.06
Cd^{+2} 4ppt	1	5.56±0.79	90.4±5.28
	3	6.33±0.55	74.0±5.42
	7	4.94±0.10	89.0±3.29*
	14	5.34±0.54*	84.9±3.83

Çizelge 4.11. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 8 ppt tuz etkisinde K^+ düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K8ppt	1	10.7±0.30	58.3±12.4*
	3	3.54±0.90	72.9±21.0*
	7	4.96±0.58	91.3±0.58*
	14	6.61±0.23	117.6±16.2*
Cu^{+2} 8ppt	1	4.53±1.50*	153.1±5.75*
	3	4.16±0.41	78.8±2.05
	7	4.97±0.02	80.7±6.20
	14	5.68±0.32	81.6±1.93
Cd^{+2} 8ppt	1	8.87±4.82	78.4±2.60
	3	8.40±0.23*	87.9±1.20
	7	6.24±0.57	120.7±23.5
	14	6.79±0.90	85.7±2.52*

4.1.3.3. Magnezyum İyon Düzeyi

4.1.3.3.(1). Kontrol Grupları

4.1.3.3.(1).(a). Normal Kontrol Grubu

O. niloticus'un kontrol gruplarının solungaç dokularında ölçülen Mg^{+2} düzeyi, 2,90±2,21 mg/g k.a. olarak gözlendi (P>0,05) (Çizelge 4.12). *O. niloticus*'un kontrol gruplarının bağırsak dokularında ölçülen Mg^{+2} düzeyi, 6,81±0,97 mg/g k.a. olarak gözlendi (P>0,05) (Çizelge 4.12).

4.1.3.3.(1).(b). 2ppt Tuzluluk Etkisinde Mg^{+2} Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 0,79±0,05 ile 6,67±1,44 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi K+2ppt etkisinde 14. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 3. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.12). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 2,28±0,01 ile 15,7±2,63 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 7. günde (P>0,05), en yüksek düzeyi ise 14. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.12).

4.1.3.3.(1).(c). 4ppt Tuzluluk Etkisinde Mg^{+2} Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 2,12±0,38 ile 4,99±1,49 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 1. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise en uzun etki süresi sonunda (P>0,05) gözlendi (Çizelge 4.12).

O. niloticus'un bağırsak dokusunda Mg^{+2} düzeyleri ise kontrole göre herhangi bir ayırım göstermemiştir (P>0,05) (Çizelge 4.12).

4.1.3.3.(1).(d). 8ppt Tuzluluk Etkisinde Mg^{+2} Düzeyi

O. niloticus'un solungaç ve bağırsak dokularında Mg^{+2} düzeyleri ise kontrole göre herhangi bir ayırım göstermemiştir (P>0,05) (Çizelge 4.12).

4.1.3.3.(2). Kadmiyum Etkisinde Mg^{+2} Düzeyi

4.1.3.3.(2).(a). 2ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Mg^{+2} Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 2,09±0,12 ile 3,15±0,31 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 3. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 7. gün sonunda (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.13). Bağırsak dokusunda ise Mg^{+2} düzeylerinin Cd^{+2} etkisinde 1. gün sonunda artarken (38,4±14,6

mg/g k.a.), 14. gün sonunda azaldığı kaydedildi (3,56±0,44 mg/g k.a.) (P<0,05) (Çizelge 4.13).

4.1.3.3.(2).(b). 4ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Mg^{+2} Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 2,37±0,14 ile 3,14±0,46 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 14. günde, en yüksek düzeyi ise 7. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.14). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 3,04±0,53 ile 8,52±2,36 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 3. günde, en yüksek düzeyi ise en uzun etki süresinde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.14).

4.1.3.3.(2).(c). 8ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Mg^{2+} Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 3,0±0,26 ile 4,13±0,93 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 7. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 1. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.15). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 3,91±0,87 ile 10,5±2,41 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 3. günde, en yüksek düzeyi ise 7. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.15).

4.1.3.3.(3). Bakır Etkisinde Mg^{+2} Düzeyi

4.1.3.3.(3).(a). 2ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Mg^{+2} Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 2,19±0,40 ile 6,12±3,40 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 7. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 3. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.13). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 1,88±0,15 ile 6,57±2,28 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 7. günde (P<0,05), en yüksek düzeyi ise 1. günde (P<0,05) gözlendi (Çizelge 4.13).

4.1.3.3.(3).(b). 4ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Mg^{+2} Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 2,40±0,17 ile 3,33±1,07 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 3. günde, en yüksek düzeyi ise 1. günde ($P<0,05$) gözlendi (Çizelge 4.14). *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda 3,26±0,15 ile 7,56±1,03 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 3. günde, en yüksek düzeyi ise 1. günde ($P<0,05$) gözlendi (Çizelge 4.14).

4.1.3.3.(3).(c). 8ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Mg^{+2} Düzeyi

O. niloticus'un solungaç dokusunda 1,93±0,64 ile 2,88±0,17 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi 3. günde, en yüksek düzeyi ise 7. günde ($P<0,05$) gözlendi (Çizelge 4.15).

O. niloticus'un bağırsak dokusunda 2,89±0,32 ile 3,92±0,97 mg/g k.a. arasında değişen değerlerde gözlenen Mg^{+2}'nin en düşük düzeyi en uzun etki süresi sonunda, en yüksek düzeyi ise 3. gün sonunda ($P<0,05$) gözlendi (Çizelge 4.15).

Çizelge 12. Kontrol *O. niloticus* dokularında farklı tuz derişimi ve sürelerde Mg^{+2} düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıklar; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik verileri belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K2ppt	0	2.90±0.27	6.81±0.97
	1	3.37±0.59	6.03±0.70
	3	6.67±1.44*	3.48±0.52
	7	3.32±0.93	2.28±0.01
	14	0.79±0.05*	15.7±2.63*
K4ppt	0	29.0±0.27	6.81±0.97
	1	2.12±0.38	1.96±0.16
	3	3.54±0.31	7.63±2.32
	7	3.76±0.65	1.88±0.49
	14	4.99±1.49*	5.99±3.24
K8ppt	0	29.0±0.27	6.81±0.97
	1	3.13±0.39	2.28±0.33
	3	2.92±0.33	4.89±1.01
	7	3.11±0.26	5.82±1.24
	14	3.44±0.38	11.9±1.66

Çizelge 4.13. Kontrol ve deney grubu *O. niloticus* dokularında 2 ppt tuz etkisinde Mg^{+2} düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik verileri belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K2ppt	1	3.37±0.59	6.03±0.70
	3	6.67±1.44	3.48±0.52
	7	3.32±0.93	2.28±0.01
	14	0.79±0.05	15.7±2.63
Cu^{+2} 2ppt	1	5.01±0.49*	6.57±2.28
	3	6.12±3.40	4.83±5.56
	7	2.19±0.40	1.88±0.15
	14	3.07±0.28*	2.93±0.82*
Cd^{+2} 2ppt	1	3.06±0.17	38.4±14.6*
	3	2.09±0.12*	3.65±0.63
	7	3.15±0.31	3.52±0.65
	14	2.82±0.25*	3.56±0.44*

Çizelge 4.14. Kontrol ve deney grubu *O. niloticus* dokularında 4 ppt tuz etkisinde Mg^{+2} düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik verileri belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K4ppt	1	2.12±0.38	1.96±0.16
	3	3.54±0.31	7.63±2,32
	7	3.76±0.65	1.88±0,49
	14	4.99±1.49	5.99±3,24
Cu^{+2} 4ppt	1	3.33±1.07	7.56±1.03*
	3	2.40±0.17	3.26±0.15*
	7	2.59±0.52	5.57±0.94
	14	2.48±0.07*	6.83±0.82
Cd^{+2} 4ppt	1	2.78±0.37	6.01±0.23*
	3	2.74±0.07	3.04±0.53*
	7	3.14±0.46	4.08±0.62
	14	2.37±0.14*	8.52±2.36

Çizelge 4.15. Kontrol ve deney grubu *O. niloticus* dokularında 8 ppt tuz etkisinde Mg^{+2} düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik verileri belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K8ppt	1	3.13±0.39	2.28±0.33
	3	2.92±0.33	4.89±1.01
	7	3.11±0.26	5.82±1.24
	14	3.44±0.38	11.9±1.66
Cu^{+2} 8ppt	1	2.15±0.38	3.08±0.87
	3	1.93±0.64	3.92±0.97
	7	2.88±0.17	3.08±0.56
	14	2.74±0.07	2.89±0.32*
Cd^{+2} 8ppt	1	4.13±0.93	9.89±4.70
	3	3.75±0.75	3.91±0.87
	7	3.0±0.26	10.5±2.41
	14	3.15±0.13	4.41±0.54*

4.1.3.4. Cl^- İyon Düzeyi

4.1.3.4.(1). Kontrol Grupları

4.1.3.4.(1).(a).Normal Kontrol Grubu

Tuz etkisine bırakılmayan stok kontrol *O. niloticus*'un solungaç ve bağırsak dokularında Cl^- düzeyleri sırasıyla 14,3±0,48 mg/g k.a., 10,3±0,45 mg/g k.a olarak saptandı (P>0,05).

4.1.3.4.(1).(b). 2ppt Tuzluluk Etkisinde Cl^- Düzeyi

Solungaç Cl^- düzeyleri, Kontrol±2ppt grubunda stok kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında 12,8±3,23 mg/g k.a. ile 14,1±3,66 mg/g k.a. değerleri arasında saptandı ve en uzun etki süresi sonunda Cl^- düzeyi saptanmadı (P<0,05).

Bağırsak Cl^- düzeyleri ise stok kontrol değerlerine göre 1,07±1,07 mg/g k.a. ile 10,4±2,21 mg/g k.a.arasında saptandı. En yüksek düzey 1. günde en düşük düzey ise 14. günde saptandı (P>0,05) (Çizelge 4.16).

4.1.3.4.(1).(c). 4ppt Tuzluluk Etkisinde Cl^- Düzeyi

Solungaç Cl^- düzeyleri, stok kontrol grubuna göre Kontrol±4ppt grubunda en yüksek 14. günde (14,1±1,57 mg/g k.a), en düşük ise 3. gün sonunda (9,61±0,65 mg/g k.a) saptandı (P<0,05).

Bağırsak dokusunda Cl^- düzeyleri, Kontrol±4ppt grubunda kontrol ile karşılaştırıldığında, en düşük düzey 7. günde (0,95±0,95 mg/g k.a), en yüksek iyon düzeyi ise 1. günde (24,1±1,30 mg/g k.a) saptandı (P<0,05) (Çizelge 4.16).

4.1.3.4.(1).(d). 8ppt Tuzluluk Etkisinde Cl^- Düzeyi

Solungaç dokusunda Cl^- düzeyleri, 3. günde en yüksek artışı gösterirken (24,6±2,12 mg/g k.a.), en az düzeyi 14. günde (8,85±0,25 mg/g k.a) saptandı (P<0,05).

Bağırsak Cl- düzeyleri kontrol grubuna göre Kontrol±8ppt grubunda en yüksek düzeydi 3. günde (38,1±1,18 mg/g k.a), en düşük düzeyi ise 7. gün sonunda (1,74±1,74 mg/g k.a) saptandı (P<0,05) (Çizelge 4.16).

4.1.3.4.(2). Kadmiyum Etkisinde Cl^- Düzeyi

4.1.3.4.(2).(a). 2ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Cl^- Düzeyi

Solungaç dokusunda Cl^- düzeyi sadece 7. günde (11,6±2,22 mg/g k.a.) saptandı. Bağırsak dokusunda ise 8,10±0,61 mg/g k.a ile 15,8±1,90 mg/g k.a arasında değişti ve en yüksek düzeyi 1. günde saptandı ($P<0,05$) (Çizelge 4.17).

4.1.3.4.(2).(b). 4ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Cl^- Düzeyi

Solungaç dokusunda Kontrol+4ppt grubunda kontrol değerlerine göre, en yüksek 3. günde (12,8±1,43 mg/g k.a.) en düşük düzeyi ise 7.günde (12,8±1,43 mg/g k.a.) saptanırken 1. ve 3. günde iyon düzeyi saptanmadı ($P<0,05$).

Bağırsak dokusunda, en yüksek iyon düzeyi en uzun etki süresi sonunda (14,1±2,70 mg/g k.a), en düşük iyon düzeyi ise 1. günde (0,34±0,34 mg/g k.a) saptandı ($P<0,05$) (Çizelge 4.18).

4.1.3.4.(2).(c). 8ppt Tuzluluk Ortamında Kadmiyum Etkisinde Cl^- Düzeyi

Solungaç dokusu Kontrol+8ppt grubunda kontrol değerleri ile kıyaslandığında Cl^- düzeyi sadece 7. günde (11,6±1,56 mg/g k.a.), belirlendi ($P<0,05$). Bağırsak dokusunda Kontrol±8ppt Cl^- düzeyi stok kontrol grubuna göre 12,9±2,15 mg/g k.a. ile 94,3±4,58 mg/g k.a. değerleri arasında gözlenirken, en yüksek düzey 14. günde, en düşük düzeyi ise 1. günde gözlendi ve 3. gün sonunda Cl^- iyon düzeyi gözlenmediği saptandı ($P<0,05$) (Çizelge 4.19).

4.1.3.4.(3). Bakır Etkisinde Cl^- Düzeyi

4.1.3.4.(3).(a). 2ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Cl^- Düzeyi

Solungaç Cl^- düzeyleri, Kontrol+2ppt grubunda stok kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında 1. gün sonunda artarken (21,0±1,73 mg/g k.a.), en uzun etki süresi sonunda en düşük değeri (4,04±1,04 mg/g k.a.) saptandı ($P<0,05$).

Bağırsak Cl^- düzeyleri ise stok kontrol değerine göre 3. günde en yüksek düzeyi (20,6±0,80 mg/g k.a.), en uzun etki süresi sonunda ise en düşük (2,14±0,50 mg/g k.a.) saptandı ve 7. günde iyon düzeyi belirlenmedi ($P<0,05$) (Çizelge 4.17).

4.1.3.4.(3).(b).4ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Cl^- Düzeyi

Solungaç Cl^- düzeyleri, Kontrol+4ppt grubunda stok kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında 1. gün sonunda artarken (42,8±0,16 mg/g k.a.), 7. gün sonunda en düşük düzeyde (8,64±1,91 mg/g k.a.) saptandı ($P<0,05$).

Bağırsak Cl^- düzeyleri, kontrol grubuna göre Kontrol+4ppt grubunda 7. gün sonunda artarken (15,1±2,92 mg/g k.a.), en uzun etki süresi sonunda azaldığı (2,16±0,69 mg/g k.a.) saptandı ($P<0,05$) (Çizelge 4.18).

4.1.3.4.(3).(c). 8ppt Tuzluluk Ortamında Bakır Etkisinde Cl^- Düzeyi

Solungaç dokusunda Cl^- düzeyleri 7. gün sonunda artarken (17,2±1,80 mg/g k.a.), en uzun süre sonunda azaldığı (6,99±1,04 mg/g k.a.) saptandı ($P<0,05$).

Bağırsak dokusunda Cl^- düzeyleri en uzun etki süresinde artış gözlenirken (8,26±0,002 mg/g k.a.), 7. gün azaldığı (4,53±0,13 mg/g k.a.) saptandı ($P<0,05$) (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.16. Kontrol *O. niloticus* dokularında farklı tuz derişimi ve sürelerde Cl^- düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir. : Kontrol balıklar; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik K verileri belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün	Solungaç	Bağırsak
K2ppt	1	-	10.4±2.21
	3	14,1±3.66	2.62±1.32*
	7	12.8±3.23	0.0±0.0*
	14	0,0±0,0 *	1,07±1,07*
K4ppt	1	12.0±0.84*	24,1±1,30*
	3	9.61±0.65*	23.2±4.60*
	7	-	0.95±0.95*
	14	14.1±1.57	27.4±1.47*
K8ppt	1	11.1±0.08*	1.88±0.37*
	3	24.6±2.12*	38.1±1.18*
	7	23.3±1.45*	1.74±1.74 *
	14	8.85±0.25*	30.1±3.02*

Çizelge 4.17. Kontrol ve metal grubu *O. niloticus* dokularında 2 ppt tuz etkisinde Cl^- düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart sapma olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik verileri belirtmektedir.

Metal	Etki süresi (gün)	Solungaç	Bağırsak
K2ppt	1	-	10.4±2.21
	3	14.1±3.60	2.62±1.32
	7	12.8±3.22	0.0±0.0
	14	1.0±0.0	1,07±1,07
Cu^{+2} 2ppt	1	21,0±1,73	5.01±0.007
	3	12.1±0.69	20.6±0.80*
	7	16.2±2.81	0.0±0.0
	14	4.04±1.04*	2.14±0.50
Cd^{+2} 2ppt	1	0.0±0.0	15.8±1.90
	3	0.0±0.00*	0.0±0.00
	7	11.6±2.22	8.10±0.61*
	14	0.0±0.0	0.0±0.0

Çizelge 4.18. Kontrol ve deney grubu *O. niloticus* dokularında 4 ppt tuz etkisinde Cl^- düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik verileri belirtmektedir.

Metal	**Etki süresi (gün)**	**Solungaç**	**Bağırsak**
K4ppt	**1**	12.0±0.84	24,1±1,30
	3	9.61±0.65	23.2±4.60
	7	-	0.94±0.94
	14	14.1±1.57	27.4±1.47
Cu^{+2} 4ppt	**1**	42.8±0.16*	4,69±1,84*
	3	0.0±0.0*	7.92±0.94*
	7	8.64±1.01	15.1±2.92*
	14	11.0±0.80	2.16±0.69*
Cd^{+2} 4ppt	**1**	0.0±0.0*	0,34±0,34*
	3	13.8±0.00*	0.81±0.81
	7	12,8±1,43	10.1±0,24*
	14	0.0±0.0*	14.1±2.70*

Çizelge 4.19. Kontrol ve deney grubu *O. niloticus* dokularında 8 ppt tuz etkisinde Cl^- düzeyleri (mg/g k.a.). Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata olarak verilmiştir. K: Kontrol balıkları; *: P<0,05 düzeyindeki istatistiksel farklılıkları; -: Eksik verileri belirtmektedir.

Metal	**Etki süresi (gün)**	**Solungaç**	**Bağırsak**
K8ppt	**1**	11.1±0.08	1.88±0.37
	3	24.6±2.12	38.1*1.18
	7	23.3±1.45	1.74±1.74
	14	8.85±0.25	30.1±3.02
Cu^{+2} 8ppt	**1**	0.0±0.0*	7.05±0.78
	3	9.41±0.50*	8.14±0.41*
	7	17.1±1.80	4.53±0.13
	14	6.99±1.04	8.26±1.47*
Cd^{+2} 8ppt	**1**	0.0±0.0*	12.9±2.15*
	3	0.0±0.0*	0.0±0.0*
	7	11.6±1.56*	25.9±2.60*
	14	0.0±0.0*	94.3±4.58*

4.2. TARTIŞMA

Bu çalışmada NaCl'nin 1 µg/mL Cu^{+2} ve Cd^{+2}'nin 2, 4, 8 ppt'lik tuzluluk derişimlerinin etkisinde kalan *Oreochromis niloticus'*un 14 günlük deney süresinin bitiminde solungaç ve bağırsak dokularının Na^+/K^+-ATPaz aktivitelerini, Na^+, K^+, Mg^{+2}, Cl^- düzeylerini ve metal birikim düzeylerini belirlemek amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre enzim aktivite düzeylerinin farklı tuzluluk, metal, etki süresi ve doku tipine göre değişiklik gösterdiği gözlenmiştir. Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi ortam koşulları ve etki süresine bağlı olarak artış ya da azalış gözlenmiştir. Tuzluluk grubu balıklarda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi kontrol grubuna göre genellikle artış gözlenirken, tuzluluk düzeyinin artışı ile metal birikiminin azaldığı kaydedilmiştir. İyon düzeylerine bakıldığında ise tuzluluk etkisindeki kontrol gruplarında artış göstermedikleri buna karşın, metal ve tuzluluk etkilerinde iyon, doku, metal ve etki süresine bağlı olarak artış ya da azalış kaydedilmiştir.

Deney süresi boyunca herhangi bir balık ölümü gözlenmemiştir. Ekolojik dengenin ve insan sağlığının korunması için, protein kaynağı olarak tüketilen ve biyolojik çevrim zincirinin önemli bir halkasını oluşturan balıklarda ağır metallerin toksik etkileri açıktır. Örneğin aynı laboratuarda yapılan deneylerde 0.1, 0.5, 1.0 ppm kadmiyum 15, 30 ve 60 günlük sürelerde *Tilapia nilotica* türünde mortalite gözlememişlerdir (Kalay ve Karataş, 1999). Aynı şekilde Kalay ve Erdem (2003), *Tilapia nilotica'*nın 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm derişimindeki kadmiyumun 1, 15, 30, 45 ve 60 günlük sürelerdeki etkisi sonunda mortalite gözlememişlerdir ve hem ortam derişimine ve etkide kalma süresine bağlı olarak dokulardaki kadmiyum birikiminin artması, hem de birikim düzeyi bakımından dokular arasındaki ilişki (Böbrek>karaciğer>solungaç) gözlemlenmiştir.

Tuzluluk etkisinde tüm dokularda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi artış göstermiştir. Bununla ilgili olarak Nolan ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada tatlı su ve tuzlu etkisindeki *Oreochromis mossambicus*'un plazma glukoz ve kortizol düzeyleri benzer düzylerde artarken, plazma Na^+ ve Cl^- düzeylerinde bir değişiklik olmamıştır. Bağırsak Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi tatlı su etkisinde artarken, böbrek Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi sadece tuzlu su etkisinde artış göstermiştir. Solungaç enzim aktivitesi ise

tuzlu su etkisindeki balıklarda azalış göstermiştir. Araştırıcılar tuzlu su etkisinin tatlı suya göre daha fazla olduğunu bunun da branşiyal oksijen düzeyi ve ATP tüketimi gibi sonuçlarla ilişkili olmasından kaynaklanabileceğini vurgulamışlardır. Araştırıcılar ayrıca artan bağırsak Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin branşiyal iyon kaybını dengelemek adına artan Na^+ alımı ve hiperglisemiye karşı durmakla ilişkili olabileceğini, buna karşın böbrek Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin ise sadece tuzlu su etkisinde artış gösterdiğini ve bu durumun da strese karşı böbreğin verdiği tepkiden ve sudan geçen fazla miktardaki iyonun atımından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Tuzlu su etkisinde azalan solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi hücre ve apoptotik klorit hücre sayısındaki azalmayla ilişkili olabilmektedir.

Shivkamat ve Roy (2005), *Oreochromis niloticus*'un % 1 tuzlu suya bir aylık adaptasyonu sırasında solungaç epitel hücre membranlarında Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi'nin tuzluluk stresine rağmen %70 arttığını ve mikrozomal membrandaki glukoz-6-fosfat dehidrogenaz'ın 2.5 kat arttığını gözlemlemişlerdir. Tuzluluk adaptasyonu sırasında solungaç epitelyum hücrelerindeki Na^+'nın içeri akışının K^+'nın dışarı akışından daha fazla olduğunu ve Na^+/K^+-ATPaz 'ın yardımıyla membran yapısının değiştiğini belirtmişlerdir. Subselüler membranların tümündeki trigliserid konsantrasyonun 3 kat arttığını, mikrozomal membrandaki digliserid konsantrasyonunu %50 arrtığını belirtmişlerdir.

Arjona ve ark., (2007), *Solea senegalensis* farklı çevresel tuzluluklara maruz bırakıyorlar ve vereceği osmoregülatör yanıtı incelemişlerdir. Sonuç olarak çevresel tuzluluk ve solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi arasında doğrusal ilişki olduğunu ve böbrek Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin değişmediğini gözlemlemişlerdir. Balıkların osmoregülatör mekanizmalarının deney süresince değişimine bağlı olarak Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin değiştiğini belirtmişlerdir. Saoud ve ark., (2007), balık *Siganus rivulatus*'u farklı sürelerdeki çeşitli tuzluluk derişimlerinin etkisine bırakmış ve solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi'nin azalan tuzlulukta arttığını gözlemlemişlerdir. Bu deneyin sonucu yaptığımız deneyden farklı bir sonuç göstermiştir, bunun nedeni kullanılan tuz miktarındaki farklılıktan ve balık türünden kaynaklanabilir.

O. niloticus'da solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin düşük tuzluluk düzeyleri ile ters orantılı olan aktivitesinin yüksek tuzluluk düzeylerinde ise artan

iyon regülatör kapasitelerine gereksiniminden dolayı doğru orantılı olarak geliştiği belirtilmiştir. Az tuzlu ortamdaki osmorgülasyon metabolik gereksinimi kan osmotik gradientinin minimal olması nedeniyle azalmaktadır. Araştırıcılar balıklarda tatlı sudan tuzlu suya doğrudan transferi sonrasında görülen ölçümlerin, dehidrasyon sonucu Na^+/K^+-ATPaz fonksiyonundaki hasardan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak *O. niloticus*'un yüksek düzeydeki tuzluluk etkisine aşamalı uyumdan sonra dirençlilik gösterdiğini ve bunun osmoregülatör mekanizmaları uyarmada doğrudan transferden daha etkili olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte tuzluluğun yanında diğer uyum yöntemlerinin deosmoregülatör organlardaki etkisini incelemenin önemli olduğu ve bu yapılırken de su kalitesi gibi diğer fizyolojik etkenlerin de göz önünde bulundurulması gerektiği vurgulanmıştır (Güner ve ark., 2005).

Metal birikim sonuçlarına göre etki süresine bağlı birikim düzeyinde artış gözlenirken, tuzluluk düzeyinin artışı ile metal birikiminin azaldığı kaydedilmiştir.

Laboratuvar çalışmaları ve saha çalışmaları, dokulara ağır metal birikiminde, ağır metallerin sudaki derişimleri, metallere maruz kalma süresi ve tuzluluk, sıcaklık, pH, sertlik gibi çevresel faktörlerin önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Denizde yaşayan canlıların dokularındaki metal birikiminin canlının boyuna, cinsiyetine etkisi belirtilmektedir (Heath, 1987; Canlı ve Atlı, 2003). Kadmiyum hemen tüm sistemler üzerinde toksik etkiye sahiptir. Karaciğer ve böbrek sistemik kadmiyumun elimine edilmesinde rol oynayan birincil organlardır ve kadmiyum toksisitesinin hedefidirler. Çünkü kadmiyum, yapısında sülfidril grupları ve tiyolat anyonları taşıyan dokulara yüksek affinite gösterdiği bildirilmiştir (Koçak, 2004).

Bakır osmoregülatör bir toksikanttır (Brooks ve ark., 2003) ve Güner (2008), *Carassius carassius* ile yaptığı çalışmada 0.5 ppm Cu^{+2}'nin 10 günlük süreyle etkisi sonunda bakırın en çok solungaç dokusunda, en düşük ise kas dokusunda biriktiğini belirtmiştir.

Türkmen ve ark. (2004), İskenderun körfezinde, deniz suyunun sıcaklık, pH, tuzluluk ve oksijen değerleriyle, ağır metal derişimleri arasındaki korelasyonu üzerine yaptıkları çalışmalarda tuzluluk ile ağır metal arasındaki pozitif yöndeki korelasyonun sudaki metal katyon rekabetine bağlı olabileceğini, çünkü yüzey

sularında ağır metallerin çözünürlüğü, suyun pH'sı, tipi, metalleri absorbe edebilen ligandların derişimleri, mineral bileşenlerinin oksidasyon durumu ve sistemin redoks çevresi tarafından öncelikle kontrol edildiğini belirtmişlerdir. Bağlanma yerleri için metal ve katyonlar arasındaki yarışın yüksek tuz derişimlerinde daha da artacağını yani yüksek tuz derişimlerinde metallerin, bu rekabet ortamından dolayı sık sık suya salıverileceğini bildirmişlerdir.

Na^+/K^+-ATPaz'ın enzimatik gösterimi sodyum pompası olarak da bilinir. Bu enzim tüm memeli hücrelerinin membranlarında bulunmaktadır. Sodyum pompası hücre membranının iki tarafındaki iyon gradientlerinin düzenlenmesi ve korunmasından sorumlu ana protein olarak karşımıza çıkar ve bu nedenle hücrelerin düzgün çalışması, membran potansiyelinin ve ozmotik dengenin korunması için mutlaka gereklidir (Köksoy, 2002). Hayvansal hücrelerde hücre içi K^+ derişimi 140Mm, hücre dışında 5mM'dır. Na^+ iyonu ise hücre içinde 5mM, hücre dışında 145mM derişiminde bulunur. Bu dengeyi Na^+/K^+-ATPaz enzim sistemi sağlamaktadır (Stryer, 1988).

Sucul organizmaların su ve iyon homeostazislerini dengeleyerek değişen dış ortam koşullarına uyum sağlama yeteneklerinde (osmotik ve iyonik düzenleme) birincil öneme sahiptir. Bu bağlamda Na^+ ve Cl^-, yoğun miktarda bulunmakla birlikte osmotik basıncın düzenlenmesinde, K^+, Mg^{+2} ve Ca^{+2} ise diğer yaşamsal fonksiyon ve mekanizmalarda hücre içi ve hücre dışı sıvılarda osmotik ve iyonik regülasyonun düzenlenmesi adına önemli görevlere sahptir (Larson ve ark., 1985, Simkiss ve Taylor, 1989).

Atlı ve Canlı (2007), farklı ekolojik ihtiyaçları olan üç farklı tatlı su balığının (*O. niloticus, C. Carpio, O. mykiss*) branşial Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin karakteristik davranışlarını gösterdikleri çalışmalarının sonucunda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi ile solungaçtaki Na^+, Cl^- ve K^+ iyonları arasında ilişki olduğunu ve Maksimum Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi için Na^+ konsantrasyonu (100 mM) üç balık türünde de aynı olduğunu, K^+ konsantrasyonu ise *O. niloticus*'da 20 mM, *C. Carpio*'da 30 mM, *O. mykiss*'de 40 mM olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar bu çalışmada benzer şekilde en yüksek Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi 100

mM Na^+, 20 mM K^+, 3-4 mM Mg^{+2}, 1 mM Ouabain derişimlerinde gözlenen diğer bir çalışmadır.

Gjevre ve Naess, (1996) salmonid bağırsak Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin solungaç'a göre daha yüksek miktarda substrata gereksinim duyduğunu ve en yüksek Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi 13-10 mM ATP, 18-24 mM $MgCl_2$, Na:K oranı 4:1 ve pH 6,5-6,6 gözlemlemişlerdir. En yüksek Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi için gerekli iyon miktarlarının ve pH değerlerinin bu çalışma ile farklılık gösterme sebebi kullanılan balık türünden kaynaklanabilir. Bu çalışmada gösterdiği gibi genellikle 7.0-7.7 aralığında olduğu daha önce yapılan çalışmalarda kaydedilmiştir (Gjevre ve Naess,1996, Atlı ve Canlı 2008b).

Atlı (2009), *O. niloticus* ile yaptığı çalışmada, metaller ile Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi azaldığını ve metal etki süreleri sonunda dokularda genellikle metal birikimi olurken metal etkisi sonrasında Na^+ ve K^+ düzeyinde genellikle azalma, Mg^{+2} ve Ca^{+2} düzeyinde artış gösterdiğini belirtmiştir. Metal etkisinde en çok etkilenen Na^+, en az etkilenen ise Mg^{+2} olduğunu bulmuştur.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada yapılan deneyler sonucunda aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur.

1. 14 günlük deney süresince normal kontrol grubu, tuzluluk kontrol grupları (2ppt, 4ppt, 8ppt) ve 1 mg/L derişimlerindeki bakır kadmiyum + tuzluluk etkisindeki *Oreochromis niloticus*'da mortalite gözlenmemiştir.

2. Sadece tuzluluk (2ppt, 4ppt, 8ppt) etkisinde kalan *Oreochromis niloticus*'ların solungaç ve bağırsak dokusunda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi süreye (1, 3, 7, 14 gün) bağlı olarak artış göstermiştir.

3. Metal (Cu^{+2}, Cd^{+2}) birikim sonuçlarına etki süresine bağlı birikim düzeyinde artış gözlenirken, tuzluluk düzeyinin artışı ile metal birikimi azalmıştır. Metal birikiminin azalmasına bağlı olarak Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinde artış belirlenmiştir.

4. İyon düzeylerine bakıldığında ise tuzluluk etkisindeki kontrol gruplarında artış gösterdikleri buna karşın, metal ve tuzluluk etkilerinde iyon, doku ve metal tipi ile etki süresine bağlı artış veya azalış saptanmıştır. Bununla birlikte eğilimin azalma yönünde olduğu belirlenmiştir.

5.2. Öneriler

1. Sucul organizmalarda metal+ tuz etkileşiminin yanında, metal 1 + metal 2 + tuz etkileşimi gibi farklı uygulamalar yapılarak, bunların canlı metabolizmasına etkileri değerlendirilebilir.

2. Doğal ortamdaki metal etkilerini gözlemlemek için deniz ve tatlı su ortamlarında bulunan balıkların toksikant çalışmaları önemli sonuçlar verebilir.

3. Farklı balık türleri kullanılarak bu türlerin toksisite mekanizmalarının duyarlığı ve dirençliği arasında bir karşılaştırma yapılabilir.

KAYNAKLAR

ADAMS, S.M., 2002. Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress. America Fisheries Society, Amerika, 203-249.

AĞACASULU, Ö., 2007. Sakarya Nehri Çeltikçe Çayı'nda Yaşayan Capoeta tinca (Heckel, 1843)'nın Dokularında Ağır Metal Birikiminin İncelenmesi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Bilimleri Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 43.

ARJONA, F.J., 2007. Osmoregulatory Response of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) to Changes in Environmental Salinity. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 148: 413-421.

ATKİNSON, A., GATEMBY, A. O., and LOWE, A.G., 1973. The Determination of Inorganic Ortophosphate in Biological Systems. Biochimica Et Biophysica Acta, 320: 195-204.

ATLI, G., CANLI, M., 2007. Enzymatic Responses to Metal Exposures in a Freshwater Fish *Oreochromis niloticus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 145: 282-287.

_____, 2008a. Responses of Metallothionein and Reduced Glutathionein a Freshwater Fish *Oreochromis niloticus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 145: 282-287.

_____, 2008b. Characterization of Branchial Na,K-ATPase from Three Freshwater Fish Species (*Oreochromis niloticus*, *Cyprinus carpio*, and *Oncorhynchus mykiss*). Turkish Journal of Zoology, 32: 299-304.

ATLI, G., 2009. Bakır, Çinko, Kadmiyum, Krom ve Gümüş'ün *Oreochromis niloticus*'un Solungaç ve Böbrek Dokusundaki Na^{+}/K^{+}-ATPaz, Ca^{+2}-ATPaz ve Mg^{+2}-ATPaz ile Kas Dokusundaki Ca^{+2}-ATPaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Adana, 206.

AY, Ö., KALAY, M., TAMER, L., and CANLI, M., 1999. Copper and Lead Accumulation in Tissues of a Freshwater Fish *Tilapia zilli* and ıts Effects on

the Branchial Na,K-ATPase Activity. Bulletion Environmental Contamination and Toxicology, 62: 160-168.

BAYKAN, U., ATLI, G., and CANLI, M., 2007. The Effects of Temperature and Metal Expasures on the Profiles of Metallothionein-like in *Oreochromis niloticus.* Environmental Toxicology and Pharmacology, 23: 33-38.

BIANCHINI, A., MARTINS, S.E.G., and BARCAROLLI, I.F., 2004. Mechanism of Acute Copper Toxicity in Euryhaline Crustaceans: Implications fort he Biotic Ligand Model. International Congress Series, 1275: 189-194.

BIANCHINI, A., PLAYLE, R.C., WOOD, C.M., and WALSH, P.J., 2005. Mechanism of Acute Silver Toxicity in Marine Invertabretes. Aquatic Toxicology, 72:67-82.

BLANCHARD, J., GROSELL, M., 2006. Copper Toxicity Across Salinities from Freshwater to Seawater in the Euryhaline Fish Fundulus heteroclitus: Is Copper an Ionoregulatory Toxicant in High Salinities? Aquatic Toxicology, 80: 131-139.

BROOKS, S.J., and MILLS, C.L., 2003. The Effect of Copper on Osmoregulation in the Freshwater Amphipod *Gammarus Pluex*, Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 135: 527-537.

CANLI, M., and ERDEM, C., 1994. Mercury Toxicity and Effects of Exposure Concentration and Period on Mercury Accumulation in Tissues of a Tropical Fish *Tilapia nilotica* (L.). Turkish Journal of Zoology, 18: 233-239.

CANLI, M., 1995. Effects of Mercury, Chromium and Nickel on Some Blood Parameters in the Carp *Cyprinus carpio*. Turkish Journal of Zoology, 19: 305-311.

CANLI, M., STAGG, R.M., 1996. The Effects of İn Vivo Exposure to Cadmium, Copper and Zinc on the Activities of Gill APases in the Norway Lobster, *Neprops norvegicus.* Archive of Environmental Contamination and Toxicology, 31: 494-501.

CANLI, M., ATLI, G., 2003. The Relationship between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe,Pb, Zn) Levels and the Size of Six Mediterranean Fish Species. Environmental Pollution, 121: 129-136.

ERDEM, C., 1990. Cadmium Accumulation in Liver, Spleen, Gill and Muscle Tissues of *Tilapia nilotica* (L.). Biyokimya Dergisi, Cilt XV, 3: 13-22.

GENÇ, E., 1996. Farklı Tuzlulukdaki Suların Tilapia (*Oreochromis niloticus* L. 1758) Balıklarının Gelişimine Etkileri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 46.

GJEVRE, A.G., NAESS, L.I.M., 1996. Intestinal Na^+/K^+-ATPase Activity in Salmonids. Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 115 (2): 159-168.

GROSELL, M., McDONALD, M.D., WALSH, P.J., and WOOD, C.M., 2004. Effects of Prolonged Copper Exposure in the Marine Gulf Toad Fish (*Opsanus beta*) II: Copper Accumulation, Drinking Rate and Na+-K+ ATPase Activity in Osmoregulatory Tissues. Aquatic Toxicology, 68: 263-275.

GÜNER, Y., ÖZDEN, O., ÇAĞIRGAN, H., ALTUNOK, M., KIZAK, V., 2005. Effects of Salinity on the Osmoregulatory Functions of the Gills in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29: 1259-1266.

HANDY, R.D., EDDY, F.B., BAİNES, H., 2002. Sodium-Dependent Copper Uptake Across Epithelia: a Review of Rationale with Experimental Evidence from Gill and İntestine. Biochimica et Biophysica Acta, 1566: 104-115.

HEATH, A.G., 1987. Water Pollution and Fish Physiology. CRC Press, Florida, USA, 245s.

KARAKOÇ, M., 1994. *Tilapia nilotica*'da Karaciğer, Solunaçaç ve Kas Dokularındaki Bakır Birikimi Üzerine Tuzluluğun Etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 50.

KALAY, M., ERDEM, C., 2003. Tilapia nilotica'da Kadmiyum Birikiminin Total Protein Düzeyine Etkisi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 27: 1367-1374.

KALAY, M., KARATAŞ, S., 1999. Kadmiyumun *Tilapia nilotica* (L.)'da Kas, Beyin ve Kemik (Omurga Kemiği) Dokularındaki Birikimi. Tr. J. Of Zoology, 23 (3): 985-991.

KATO, A., DOI, H., NAKADA, T., SAKAI, H., HIROSE, S., 2005. Takifugu obscurus is a Euryhaline Fugu Species Very Close to Takifugu rubripes and Suitable for Studying Osmoregulation. BMC Physioloy, 5:18.

KLAASEN, C.D., 2001. Toxicology. Medical publishing Division, New York, 811-866.

KOÇAK, M., 2004. Kronik Kadmiyum Toksisitesinin Hemostatik Sisteme Etkileri. İç Hastalıkları Anabilim Dalı Fizyopatoloji Bilim Dalı Dokora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 101.

KÖKSOY, A.A., 2002. Na+, K+-ATPase: A Reviev. Journal of Ankara Medical School, 24 (2): 73-82.

LARSON, A., HAUX, C., and SJOBECK, M., 1985. Fish Physiology and Metal Pollution: Results and Experiences from Laboratory and Field Studies. Ecotoxicology and Environmental Safety, 9: 250-281.

LIANG, Y., CHEUNG, R.Y.H., WONG, M.H., 1999. Reclamation of nWastewater for Polyculture of Freshwater Fish: Bioaccumulation of Trace Metals in Fish. Pergamon, 33: 2690-2700.

LIONETTO, M.G., MAFFIA, M., CAPPELLO, M.S., GIORDANO, M.E., STORELLİ, C., SCHETTINO, T., 1998. Effect of Cadmium on Carbonic Anhydrase and Na^+-K^+-ATPase in ELL, *Anguilla anguilla*, Intestine and Gills. Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 120: 89-91.

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARRA, N.J., RANDALL, R.J., 1951. Protein Measremets with the Folin Phenol Reagent. Journal of Biolgical Chemistry, 193: 265-275.

MASON, C.F., 2002. Biology of Freshwater Pollution. Pearson Education Limited. China, 21-125.

MONSERRAT, J.M., MARTINEZ, P.E., GERACITANO, L.A., AMADO, L.L, MARTINS, C.M.G., PINHO, G.L.L., CHAVES, I.S.C., FERREIRA-CRAVO, M., VENTURA-LIMA, J., and BIANCHINI, A., 2007. Pollution

Biomarkers in Estuarine Animals: Critical Review and New Perspectives Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 146: 221-234.

NELSON, O.L., and COX, M.M, 2002. Lehninger Principles of Biochemistry, 3 rd Edition, Worth Publishers, New York, USA, 1119S.

NOLAN, D.T., VELD, R.L.J.M.O., BALM, P.H.M., BONGA, S.E.W., 1999. Ambient Salinity Modulates the Response of the Tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters), to Net Confinement. Aquaculture, 177: 297-309.

SAOUND, I.P., KREYDIYYEH, S., CHALFOUN, A., FAKIH, M., 2007. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 348: 183-190.

SHIVKAMOT, P., ROY, R., 2005. Regulation of Membrane Lipid Bilayer Structure During Salinity Adaptation: A Study with the Gill Epithelial Cell Membranes of Oreochromis niloticus. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, 142: 28-36.

SILVESTRE, F., TRAUSCH, G., and DEVOS, P., 2005. Hyper-Osmoregulatory Capacity of the Chinese Mitten Crab (Eriocheir sinensis) Exposed to Cadmium; Acclimation During Chronic Exposure. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 140: 29-37.

SIMKISS, K., and TAYLOR, M.G., 1989. Metal Fluxes Across the Membranes of Aquatic Organisms. Review. Aquatic Sciences, 1 (1): 173-188.

STRYER, L., 1988. Biochemistry, W.H. Freemen and Company, New York, 949-974.

TÜRKMEN, A., TÜRKMEN, M., TEPE, Y., NAZ, M., 2004. İskenderun Körfezi Deniz Suyu Ağır Metal Konsantrasyonları ile Sıcaklık, pH, Oksijen ve Tuzluluk Değerleri Arasındaki Korelasyonlar. Mustafa Kemal Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 385-392.

WEBB, N.A., WOOD, C.M., 2000. Bioaccumulation and Distribution of Silver in Four Marine Teleosts and Two Marine Elasmobranchs: Influence of Exposure Duration, Concentration, and Salinity. Aquatic Toxicology 49: 111-129.

WILLIAMS, P.L., JAMES, R.C., ROBERTS, S.M., 2000. Principles of Toxicology. 2 rd Edition, A. Wiley İnterscience Publication, New York, USA, 325-344.

WRIGHT, D.A., WELBOURN, P., 2001. Environmental Toxicology. Cambridge Universty Press, USA, 227-304.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Mersin'de doğdu. İlköğretimini Mersin Pirireis ilköğretim okulunda ve lise öğretimini Özel Akdeniz Palmiye Kolejinde tamamladı. Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2007 yılında mezun oldu. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı.